



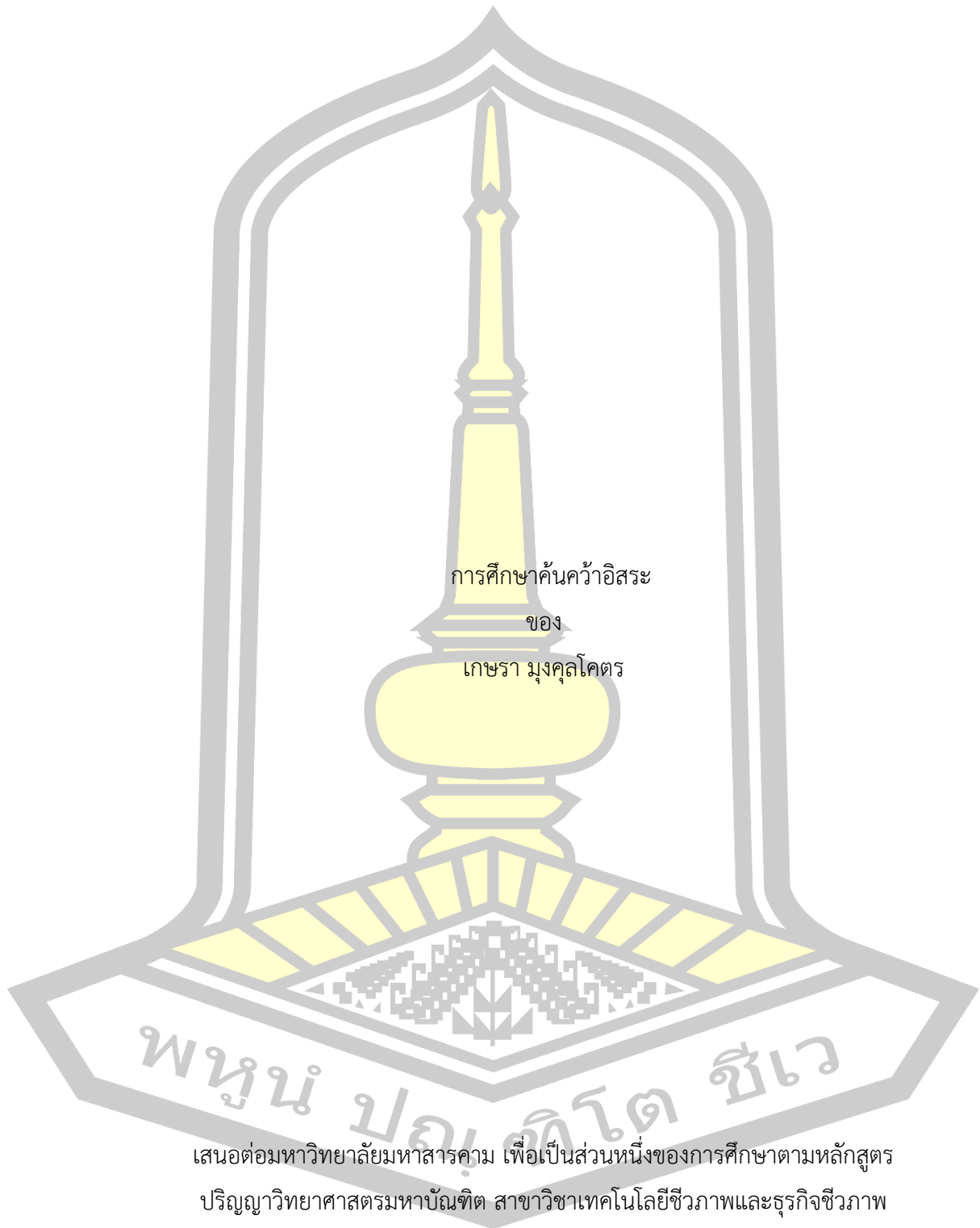
องค์ประกอบแคโรทีนอยด์และกิจกรรมด้านอนุมูลอิสระของผักขาวที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสม

การศึกษาค้นคว้าอิสระ
ของ
เกษรา มุ่งคุลโคตร

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ
มกราคม 2566

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

องค์ประกอบแคโรทีนอยด์และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของฟักข้าวที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสม

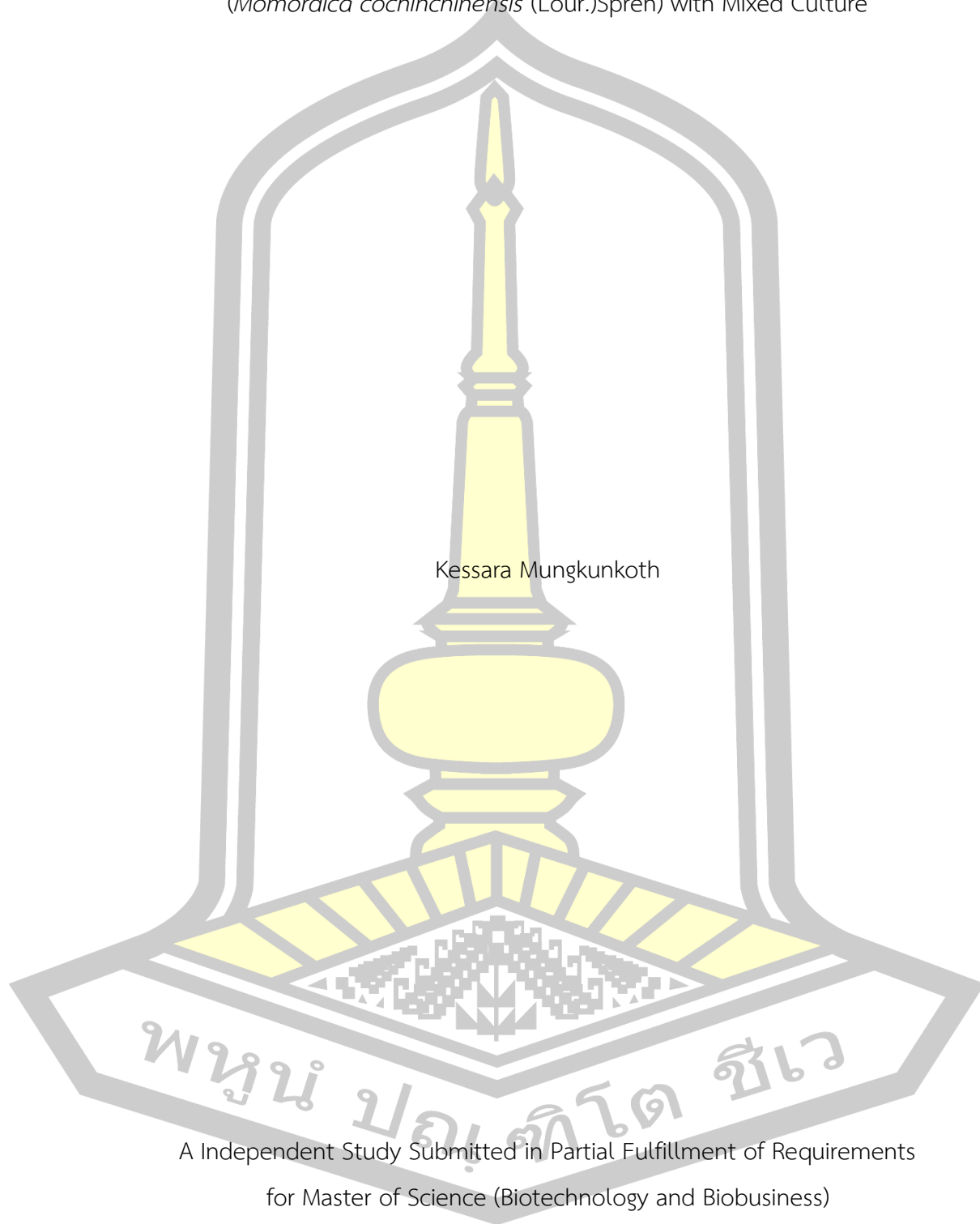


มกราคม 2566

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Carotenoid Compositions and Antioxidant Activity of Fermented Gac Fruit
(*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) with Mixed Culture

Kessara Mungkunkoth



A Independent Study Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (Biotechnology and Biobusiness)

January 2023

Copyright of Maharakham University



คณะกรรมการสอบการศึกษาขั้นคว่ำอิสระ ได้พิจารณาการศึกษาขั้นคว่ำอิสระของนาง เกษรา มุ่งกุลโคตร แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร. อธิศักดิ์ ปิ่นวิชัย)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผศ. ดร. ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รศ. ดร. วิจิตรา หลวงอินทร์)

.....กรรมการ

(รศ. ดร. ปิยะเนตร จันทร์ถิระติกุล)

.....กรรมการ

(รศ. ดร. ปิยะพร แสนสุข)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....
(ผศ. ดร. สุมลวรรณ ชุ่มเชื้อ)

คณบดีคณะเทคโนโลยี

.....
(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	องค์ประกอบแคโรทีนอยด์และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของฟักข้าวที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสม		
ผู้วิจัย	เกษรา มุ่งกุลโคตร		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม รองศาสตราจารย์ ดร. วิจิตรา หลวงอินทร์		
ปริญญา มหาวิทยาลัย	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	สาขาวิชา ปีที่พิมพ์	เทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ 2566

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบแคโรทีนอยด์และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักโดยใช้จุลินทรีย์ ได้แก่ หัวเชื้อคีเฟอร์ DT5001 เชื้อรา *Aspergillus niger* และ การใช้เอนไซม์ ได้แก่ เพคตินเอสและเซลลูเลสในการหมัก ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองพบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก โดย การใช้เอนไซม์เพคตินเอส 2 เปอร์เซ็นต์ในการหมักน้ำเยื่อฟักข้าวให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเมื่อ วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ FRAP สูงสุด เท่ากับ 1.80 ± 0.02 ไมโครกรัมทริล็อกซ์ต่อมิลลิลิตรและ 152.06 ± 0.66 ไมโครกรัม Fe(II) ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ น้ำเยื่อฟักข้าวหมักด้วยคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 273.32 ± 1.05 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และพบปริมาณสารโพลีฟีนอลสูงสุด คือ 8.49 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของตัวอย่างน้ำหมัก ในขณะที่น้ำฟักข้าวหมักด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 916.10 ± 2.00 ไมโครกรัมรูตินต่อมิลลิลิตร และพบปริมาณสารเบต้าแคโรทีนสูงเท่ากับ 149.67 ± 3.03 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของตัวอย่างน้ำหมัก เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางสารระเหยได้ของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง GC/MS พบสารประกอบอินทรีย์ระเหยได้ 8 ชนิด ได้แก่ Carbamic acid, Propanedioic acid, 2-Heptanol, Propanedioic acid, (2-Aziridinylethyl) amine, Carbon dioxide, Acetic acid และ Sorbitol ดังนั้นในอนาคตอาจจะมีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ หรือผลิตเป็นส่วนผสมเพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อเพิ่มมูลค่าอีกทางหนึ่งให้กับฟักข้าว

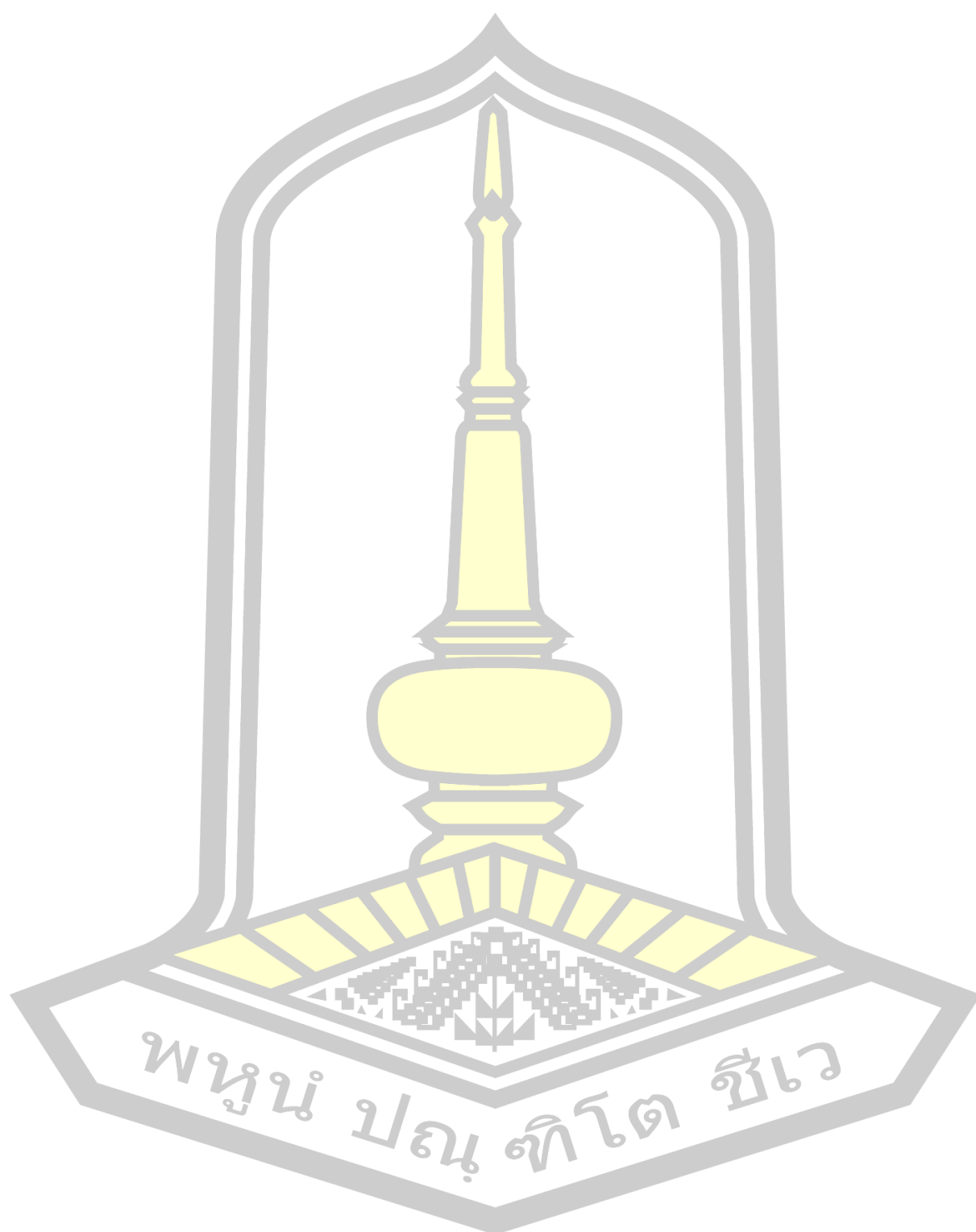
คำสำคัญ : ฟักข้าว, คีเฟอร์, เชื้อรา *Aspergillus niger*, เอนไซม์เพคตินเอส, เอนไซม์เซลลูเลส, โพลีฟีนอล, เบต้าแคโรทีน, เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

TITLE	Carotenoid Compositions and Antioxidant Activity of Fermented Gac Fruit (<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng) with Mixed Culture		
AUTHOR	Kessara Mungkunkoth		
ADVISORS	Assistant Professor Sirirat Deeseenthum , Ph.D. Associate Professor Vijitra Luang-In , Ph.D.		
DEGREE	Master of Science	MAJOR	Biotechnology and Biobusiness
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2023

ABSTRACT

This research aimed to study the carotenoid constituents and antioxidant properties of fermented gac pulp juice (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) using microorganisms: kefir DT5001, *Aspergillus niger*, and enzymes such as pectinase, cellulase. After fermentation conditions at 25-30 °C for 48 hours, the antioxidant activity was found to increase with the duration of fermentation. 2% pectinase for fermentation of juice showed the highest antioxidant activities by DPPH and FRAP at $1.80 \pm 0.02 \mu\text{g Trolox/ml}$ and $152.06 \pm 0.66 \mu\text{g Fe (II). } / \text{ml}$, respectively. Gac pulp fermented with 2% kefir DT5001 showed the highest total phenolic content of $273.32 \pm 1.05 \mu\text{g Gallic acid/ml}$. The highest lycopene content was found at 8.49 milligrams per 100 milliliters of the fermentation sample. While 2% cellulase fermented gac pulp juice had the highest total flavonoid content of $916.10 \pm 2.00 \text{ mcg Rutin/ml}$, the beta-carotene content of $149.67 \pm 3.03 \text{ mg/100 ml}$ of fermentation sample. Analyzing the volatile constituents of fermented gac pulp juice at 48 h fermentation period using a GC/MS instrument, eight volatile organic compounds were found: Carbamic acid, Propanedioic acid, 2-Heptanol, Propanedioic acid, (2-Aziridinylethyl). Amine, Carbon dioxide, Acetic acid, and Sorbitol. For future work, it may be developed into a healthy drink or ingredients in cosmetic products for value-added Gac.

Keyword : Gac Fruit, Kefir, *Aspergillus niger*, Pectinase, Cellulase, Lycopene, β -Carotene, Gac aril



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตร าลวงอินทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชีรศักดิ์ ปั่นวิชัย ประธานกรรมการ สอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ปิยะเนตร จันทร์ธิระติกุล กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ภายนอก และ รองศาสตราจารย์ ดร. ปิยะพร แสนสุข กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ ประกาศ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่อบรมสั่งสอนให้ความรู้ต่อศิษย์

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการวิจัย

เกษรา มุ่งกุลโคตร



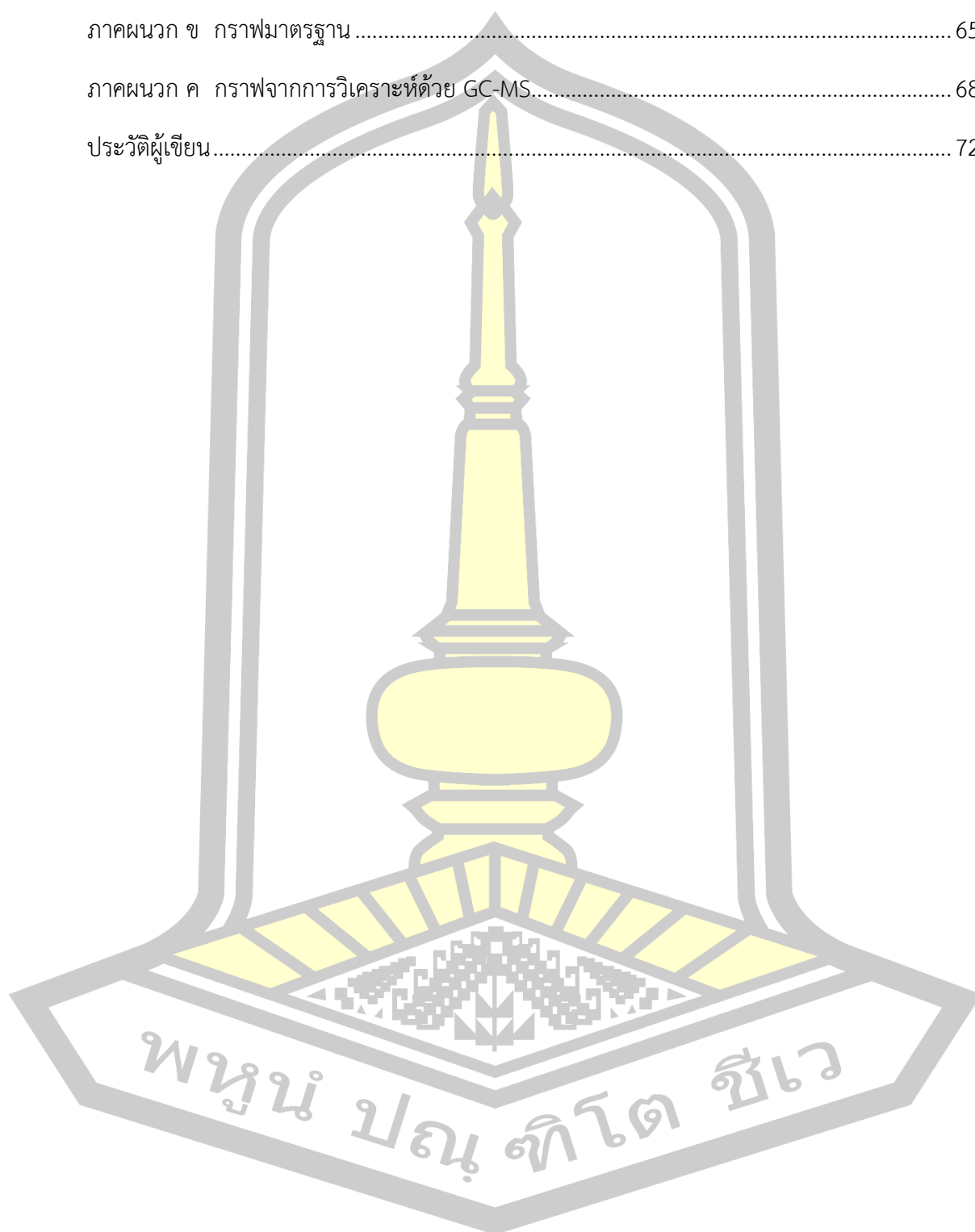
สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ซ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ท
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	2
1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวคิดของงานวิจัย.....	2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	3
บทที่ 2 ปริทรรศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ฟักข้าว (<i>Momordica cochinchinensis</i> (Lour.) Spreng).....	4
2.1.2 การใช้ประโยชน์.....	5
2.2 แคโรทีนอยด์ (Carotenoids).....	8
2.2.1 ประเภทของแคโรทีนอยด์.....	9
2.2.1.1 (Hydrogenated carotenoid derivatives).....	9
2.2.1.2 กลุ่มออกซิเจนเตดแซนโทพาล (Oxygenated carotenoid derivatives).....	9
2.2.2 คุณสมบัติของแคโรทีนอยด์.....	10
2.2.2.1 สมบัติทางกายภาพ.....	10

2.2.2.2 สมบัติทางเคมี	10
2.3 ไลโคปีน (Lycopene).....	10
2.3.1 คุณสมบัติของสารไลโคปีน	11
2.3.1.1 คุณสมบัติการละลาย (Solubility)	11
2.3.1.2 การดูดกลืนแสง	11
2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของสารไลโคปีน	12
2.3.3 ประโยชน์ของไลโคปีน	12
2.3.4 ความคล้ายคลึงกันระหว่างไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน.....	13
2.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมัก.....	13
2.5 เอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการหมัก	13
2.5.1 เพกทิเนส (pectinase).....	13
2.5.2 เซลลูเลส.....	14
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	25
3.1 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย.....	25
3.2 แผนการดำเนินงานวิจัย	27
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง.....	27
3.3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์.....	27
3.3.2 การเตรียมหัวเชื้อซีเฟอร์ DT5001	27
3.3.3 การเตรียมความเข้มข้นเอนไซม์	28
3.3.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำหมักที่ได้	29
3.3.5.1 คุณลักษณะทางกายภาพและคุณลักษณะทางเคมี	29
3.3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบสารแคโรทีนอยด์.....	29
3.3.7 วิธีวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ด้วย HPLC.....	30

3.3.8 วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP	31
3.3.8.1 วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจากวิธีการของ Zhang และคณะ (2016).....	31
3.3.8.2 วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP	31
3.3.9 การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	32
3.3.10 การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด	32
3.3.11 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวหมักด้วยเครื่อง Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GC/MS)	32
3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล	33
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	34
4.1 คุณลักษณะทางกายภาพของน้ำเยื่อผักข้าวหมัก	34
4.1.1 การศึกษาลักษณะของน้ำเยื่อผักข้าวหมัก	34
4.1.2 การศึกษาการวัดค่าสีของน้ำเยื่อผักข้าวหมัก	35
4.2 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวหมัก	36
4.2.1 ปริมาณของแข็งละลายทั้งหมด (องศาบริกซ์) (Total dissolved solid; TDS)	36
4.2.2 ค่ากรด-เบส (pH).....	38
4.3 สารต้านอนุมูลอิสระของน้ำเยื่อผักข้าวหมัก	39
4.4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	40
4.5 ปริมาณสารไลโคปีนในน้ำเยื่อผักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง	45
4.6 ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในน้ำเยื่อผักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง	46
4.7 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง GC/MS.....	47
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์	54
บรรณานุกรม.....	55
ภาคผนวก.....	62

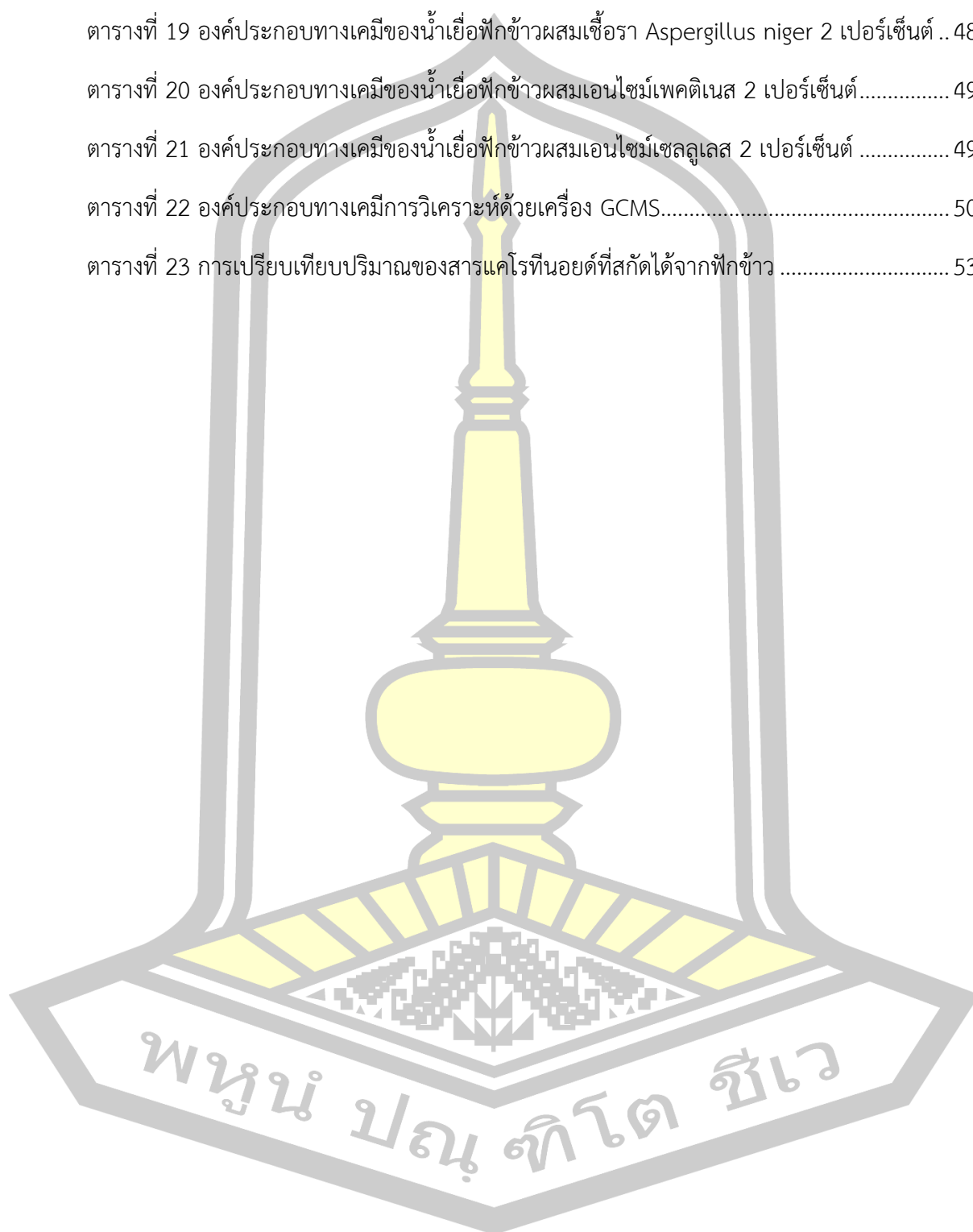
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	63
ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐาน	65
ภาคผนวก ค กราฟจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS.....	68
ประวัติผู้เขียน.....	72



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณสารต่างๆในส่วนของผลอ่อน เนื้อผลและเยื่อเมล็ดของฟักข้าว.....	6
ตารางที่ 2 ค่าความยาวคลื่นการดูดกลืนแสงสูงสุดของไลโคปีน (Trans-isomer) ในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ	11
ตารางที่ 3 ค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนของสีของตัวกรองแสงและสีของสารละลาย	12
ตารางที่ 4 วิธีการสกัดไลโคปีน	16
ตารางที่ 5 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย.....	25
ตารางที่ 6 สภาวะที่ใช้ในการหมักเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว	28
ตารางที่ 7 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ด้วย HPLC.....	31
ตารางที่ 8 ค่าของสีเยื่อฟักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง.....	36
ตารางที่ 9 ปริมาณของแข็งละลายทั้งหมด (องค์ประกอบ) (Total dissolved solid; TDS) ของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง.....	37
ตารางที่ 10 ค่ากรด-เบสของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง	38
ตารางที่ 11 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน	41
ตารางที่ 12 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน	42
ตารางที่ 13 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน.....	43
ตารางที่ 14 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน.....	44
ตารางที่ 15 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อปริมาณสารไลโคปีน	45
ตารางที่ 16 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อปริมาณสารเบต้าแคโรทีน.....	46
ตารางที่ 17 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อฟักข้าว	48

ตารางที่ 18 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	48
ตารางที่ 19 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์ ..	48
ตารางที่ 20 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เพคตินาส 2 เปอร์เซ็นต์	49
ตารางที่ 21 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	49
ตารางที่ 22 องค์ประกอบทางเคมีการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GCMS.....	50
ตารางที่ 23 การเปรียบเทียบปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากฟักข้าว	53



สารบัญรูป

	หน้า
ภาพที่ 1 ผลฟักข้าวสุก	5
ภาพที่ 2 การแปรรูปและประโยชน์ของผลฟักข้าวสุก	8
ภาพที่ 4 โมเลกุลของเพกติน (เส้นสีชมพู) ในเนื้อเยื่อของผัก ผลไม้ บริเวณ Middle lamella และผนังเซลล์ (Cell wall)	14
ภาพที่ 5 ลักษณะของน้ำเยื่อฟักข้าว ชุดควบคุม	34
ภาพที่ 6 ลักษณะของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก เยื่อฟักข้าวที่ผสมคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ (A), เยื่อฟักข้าวที่ผสมเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์ (B), เยื่อฟักข้าวที่ผสมเอนไซม์เพคตินเอส 2 เปอร์เซ็นต์ (C) และเยื่อฟักข้าวที่ผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ (D)	35
ภาพที่ 7 ปริมาณของแข็งละลายทั้งหมดของเยื่อฟักข้าวในระหว่างการหมัก 48 ชั่วโมง (T1; น้ำเยื่อฟักข้าว, T2; น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์, T3; น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์, T4; เยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินเอส 2 เปอร์เซ็นต์ และ T5; น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์)	37
ภาพที่ 8 ค่าพีเอชของเยื่อฟักข้าวในระหว่างการหมัก 48 ชั่วโมง (T1; น้ำเยื่อฟักข้าว,	39
ภาพที่ 9 กราฟของสารมาตรฐานโทรล๊อกซ์ (Trolox)	66
ภาพที่ 10 กราฟของสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	66
ภาพที่ 11 กราฟของสารมาตรฐานกรดแกลลิก	67
ภาพที่ 12 กราฟของสารมาตรฐานรูทีน	67
ภาพที่ 13 กราฟโครมาโตแกรมน้ำเยื่อฟักข้าว (ชุดควบคุม)	69
ภาพที่ 14 กราฟโครมาโตแกรมของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมคีเฟอร์ DT5001 2%	69
ภาพที่ 15 กราฟโครมาโตแกรมของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2%	70
ภาพที่ 16 กราฟโครมาโตแกรมของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เพคตินเอส 2%	70
ภาพที่ 17 กราฟโครมาโตแกรมของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2%	71

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

ในปัจจุบันผู้คนหันมาดูแลสุขภาพกันมากขึ้นในด้านอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ เช่น อาหารเสริมที่มีส่วนประกอบของคอลลาเจน สารสกัดจากโสม สารสกัดจากงาดำ ชาเขียว เป็นต้น โดยเฉพาะอาหารที่มีส่วนประกอบของผักและผลไม้ ทานเนื้อสัตว์น้อยลง ดื่มน้ำสมุนไพรเพื่อสุขภาพและออกกำลังกาย ซึ่งแสดงให้เห็นถึงพฤติกรรมการดูแลสุขภาพของตัวเองมากขึ้น และจากแนวโน้มการบริโภคดังกล่าวจึงทำให้เห็นความสำคัญของสารพฤกษเคมีที่อยู่ในพืชสมุนไพรที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ความหลากหลายของพืชสมุนไพรที่อยู่ตามท้องถิ่นของประเทศไทยในภูมิภาคต่างๆ พืชสมุนไพรแต่ละชนิดให้สารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์แตกต่างกัน ซึ่งพืชสมุนไพรที่น่าสนใจที่สุดในชุมชนภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่นิยมปลูกตามกำแพงรั้วบ้านในชุมชน คือ พักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) เป็นพืชที่ทุกคนรู้จักกันเป็นอย่างดี มีสารสกัดที่มีสรรพคุณมากมาย ด้านอนุมูลอิสระสูง เพราะมีสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ได้แก่ β -carotene, lycopene, zeaxanthin และ β -cryptoxanthin โดยเฉพาะสารสีแดงที่เรียกว่าไลโคปีนสูงกว่ามะเขือเทศ 75 เท่า และจากการศึกษาทางระบาดวิทยาสนับสนุนถึงบทบาทสำคัญของไลโคปีนในการป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ และมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก (ประสิทธิ์ สุวรรณเลิศ และคณะ, 2548) สารไลโคปีนช่วยในเรื่องของการบำรุงผิวพรรณและชะลอความชราและยังมีฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ ด้านความเสื่อมของร่างกาย ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ มีงานวิจัยมากมายที่สนับสนุนว่าไลโคปีนช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งที่อวัยวะต่าง ๆ ได้ โดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งลำไส้และมะเร็งกระเพาะอาหาร (Vuong et al., 2006; Ishida et al., 2009) การผลิตไลโคปีนในประเทศไทยผลิตจากการสกัดพืชประจำถิ่นตามภูมิภาคต่าง ๆ ในประเทศไทย เช่น มะเขือเทศ พักข้าว เป็นต้น และการสกัดสารไลโคปีนมีราคาที่ไม่สูง มีวิธีการสกัดที่ไม่ซับซ้อน แต่การสกัดด้วยตัวทำละลายทำให้มีการตกค้างของตัวทำละลายและปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้และอาจไม่ปลอดภัย จึงต้องหันมาใช้วิธีทางชีวภาพ โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปลอดภัยช่วยในการย่อยสลายผนังเซลล์พืชเพื่อปลดปล่อยสารพฤกษเคมีออกมาได้ง่ายขึ้น มีงานวิจัยหลายเรื่องที่ใช้วิธีทางชีวภาพซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้จุลินทรีย์ในการหมักส่งผลทำให้เพิ่มปริมาณ terpenoid เช่น งานวิจัยของ Yuyan Lu et al., 2020 ศึกษาการหมักน้ำมันมะเขือเทศเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปลดปล่อยไลโคปีนในหลอดทดลอง พบว่าการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 มีผลต่อปริมาณไลโคปีนของมะเขือเทศเมื่อหมักในหลอดทดลอง โดยเมื่อสิ้นสุด

กระบวนการหมักความเข้มข้นของไลโคปีนมีค่าเท่ากับ 45.1 มิลลิกรัม/100 กรัม โดย ผนังเซลล์ของเซลล์มะเขือเทศถูกย่อยด้วยเอนไซม์จากยีสต์ที่สร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก ทำให้ปริมาณเพคตินลดลงส่งผลทำให้ไลโคปีนถูกปลดปล่อยออกมา ให้ปริมาณของไลโคปีนในน้ำมะเขือเทศเพิ่มขึ้น โดยน้ำมะเขือเทศที่ไม่ผ่านการหมักพบปริมาณไลโคปีนเท่ากับ 8.5% แต่เมื่อน้ำมะเขือเทศที่ผ่านการหมักให้ปริมาณไลโคปีนเท่ากับ 11.4% ที่ยังไม่หมัก-อิมัลชัน(เนื้อเยื่อมะเขือเทศ)มีค่าเท่ากับ 13.6% และ ผ่านการหมัก-อิมัลชัน(เนื้อเยื่อมะเขือเทศ)มีค่าเท่ากับ 22.7% ซึ่งผลกระทบเหล่านี้เกิดจากการที่เนื้อเยื่อของมะเขือเทศถูกกระทำมากขึ้นจึงส่งผลให้มีการปลดปล่อยสารไลโคปีนออกมามากขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ในฟักข้าวที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์และการใช้เอนไซม์บริสุทธิ์

1.2.2 เพื่อศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของน้ำฟักข้าวที่ได้จากกระบวนการหมัก

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ศึกษาผลของการหมักฟักข้าวด้วยด้วยเชื้อคีเฟอร์ เชื้อรา และเอนไซม์บริสุทธิ์ ต่อปริมาณองค์ประกอบแคโรทีนอยด์ ได้แก่ β -carotene และ Lycopene

1.3.2 ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักฟักข้าวด้วยวิธี DPPH (Diphenyl-1-picrylhydrazyl) และ FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

1.3.3 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์จากฟักข้าวที่ได้จากกระบวนการหมัก ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวคิดของงานวิจัย

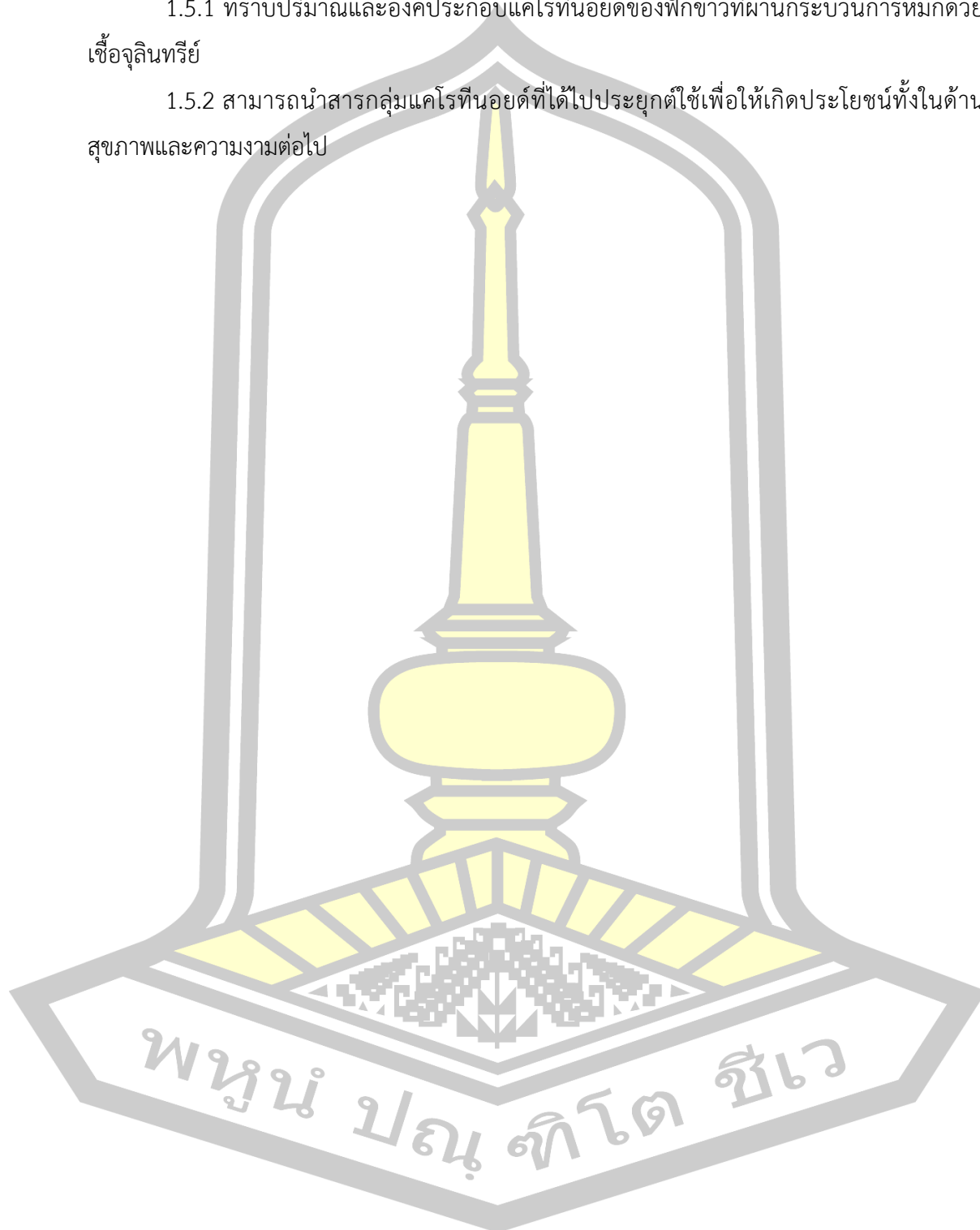
ทฤษฎี : กระบวนการหมักเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถส่งผลต่อสารพิษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่นการต้านอนุมูลอิสระในพืช ซึ่งเป็นกระบวนการชีวภาพที่ต้องการได้รับการศึกษาและพัฒนาในด้านสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไลโคปีนจากฟักข้าวให้ได้ปริมาณสูง โดยพิจารณาตัวแปรที่มีผลต่อการหมัก ได้แก่ อุณหภูมิ เวลา และปริมาณหัวเชื้อจุลินทรีย์ ที่ใช้ในการหมัก เป็นต้น

สมมติฐาน : 1. การหมักฟักข้าวด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสม ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น เพคตินเอส เซลลูเลสและเอนไซม์ย่อยสารอินทรีย์อื่นๆ ส่งผลให้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์มากขึ้น และเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1.5.1 ทราบปริมาณและองค์ประกอบแคโรทีนอยด์ของผักขาวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์

1.5.2 สามารถนำสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ได้ไปประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ทั้งในด้านสุขภาพและความงามต่อไป



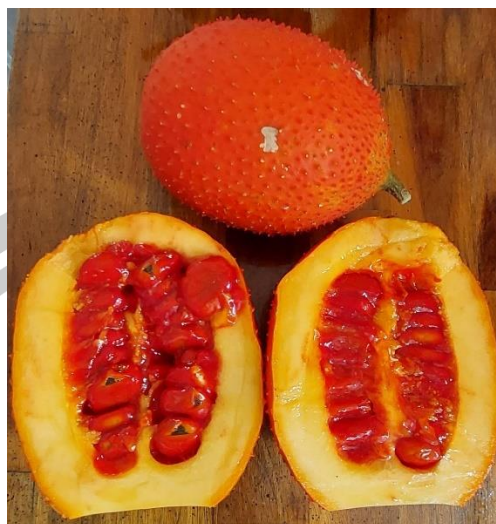
บทที่ 2

ปรีพจน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng)

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Momordica cochinchinensis* และมีชื่อพื้นเมืองที่แตกต่างกันในแต่ละภาค ดังนี้คือ หมักบวบเช่า คายเช่า คัดเช่า (นครราชสีมา) ขี้กาเครือ (ปัตตานี) ผักขาว (ภาคเหนือ) พุคู้-เตี๊ยะ (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน) ฟักข้าว (ภาคกลาง) เป็นต้น ฟักข้าวจัดอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศจีน พม่า ไทย ลาว บังกลาเทศ มาเลเซียและฟิลิปปินส์ เป็นต้น พบพืชชนิดนี้มากที่ประเทศเวียดนาม โดยชาวเวียดนามตามชนบทนิยมปลูกเพื่อใช้ประกอบอาหาร ฟักข้าวเป็นพืชประเภทล้มลุก มีลำต้นเป็นเถาเลื้อยสีเขียวอมเหลือง มีมือเกาะ แบบเดียวกับตำลึง ลักษณะผิวของเถามีเม็ดเล็ก ๆ กระจายอยู่ทั่วไป ใบเป็นใบเดี่ยวรูปหัวใจ หรือรูปไข่ คล้ายใบโพธิ์ความกว้างเท่ากันประมาณ 6-15 เซนติเมตร ขอบใบหยักเว้าลึกเป็นแฉก 3-5 แฉก ออกดอกบริเวณข้อต่อระหว่างใบ หรือซอกใบ โดยออกช่อละดอก ลักษณะคล้ายดอกตำลึง ดอกเพศผู้สีเหลือง มีกลีบดอกรูปไข่ 5 กลีบ ดอกเพศเมียมีขนาดเล็กกว่า ผลของฟักข้าวมีรูปร่างกลมรี พบหนามเล็กๆ อยู่รอบผล ซึ่งผลอ่อนมีสีเขียวอมเหลือง ซึ่งเจริญได้เองโดยไม่ต้องถูกผสม เมื่อผลสุกมีสีแดง ผลสุกใช้เวลาประมาณ 20 วัน สามารถเก็บผลได้มากถึง 30-60 ผลสามารถขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดหรือแยกรากปลูกได้ในพื้นที่ชุ่มน้ำ เนื่องจากเป็นไม้เถาที่ค่อนข้างต้องการน้ำมาก เริ่มออกดอกหลังจากการปลูกประมาณ 2-3 เดือน (นันทวัน บุญยะประสงค์, 2542)

ฟักข้าวจัดอยู่ในวงศ์แตง (Cucurbitaceae) ซึ่งแตงกวามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cucumis sativus* L. จัดอยู่ในวงศ์แตง (Cucurbitaceae) แตงกวามีชื่อท้องถิ่นอื่น ๆ ว่า แตงขี้ไก่ แตงขี้ควาย แตงช้าง แตงปี แตงร้าน (ภาคเป็น) เป็นต้น มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย ในบ้านเราก็นิยมปลูกแตงกวาเป็นอาชีพ เนื่องจากเป็นผักที่ปลูกง่าย ให้ผลผลิตเร็ว การเก็บรักษาง่ายกว่าผักชนิดอื่น ๆ โดยแตงกวานั้นจัดเป็นพืชล้มลุก มีรากแก้วและรากแขนงจำนวนมาก สามารถแผ่กว้างและหยั่งลึกได้มากถึง 1 เมตร ลำต้นเป็นเถาเลื้อยยาว 2-3 เมตร (ด้วยเหตุนี้จึงนิยมปลูกขึ้นค้างเพื่อประหยัดเนื้อที่ในการปลูกและง่ายต่อการเก็บเกี่ยว) มีข้อยาว 10 ถึง 20 เซนติเมตร และหนดบริเวณข้อช่วยเกาะยึดลำต้น (กาญจนา จันทร์สิงห์, 2563)



ภาพที่ 1 ผลฟักข้าวสุก

ที่มา : เกษรา มงคลโคตร ถ่ายเอง, (12 ธันวาคม 2565)

2.1.2 การใช้ประโยชน์

เมล็ด แก้วหูด ฝีมะม่วง บำรุงปอด ริดสีดวง (ญาณิศา ละอองอุทัย, 2557) นอกจากนี้ สารสกัดจากเมล็ดยังมีผลเพิ่มประสิทธิภาพของการตอบสนองต่อโรค จึงได้มีการพัฒนานำสารสกัดจากฟักข้าวมาเป็นอาหารเสริม เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสีแดงมีไลโคปีนซึ่งเป็นสารในกลุ่มแคโรทีนมากกว่าผักและผลไม้ที่มีแคโรทีนสูงประมาณ 10 เท่า สารไลโคปีนนี้ยังจัดเป็นสารต้านมะเร็งที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันให้ร่างกาย และลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งปอด และมะเร็งกระเพาะอาหาร (Aoki et al., 2002; Ishida et al., 2004)

ผล เนื้อของผลที่มีสีแดงของฟักข้าวมีแคโรทีนสูงกว่าผลไม้ชนิดอื่น (Vuong et al., 2006) มักใช้ประกอบอาหาร เนื่องจากรสชาติเนื้อฟักข้าว เหมือนมะละกอ วิธีการนำมารับประทาน โดยการนำมาลวกหรือต้มให้สุกจิ้มกินกับน้ำพริก หรือใส่แกง หรืออาจจะนำไปเป็นส่วนผสมในการผลิต

ใบ สารสกัดจากใบฟักข้าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคกลาก 4 ชนิด คือ *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum* และ *Epidermophyton floccosum* (บงกชวรรณ สุตะพาหะ และ บรรยง คั่นธวะ, 2554)

ราก มีสรรพคุณใช้ต้มน้ำดื่มหรือตากแห้ง บดเป็นผงแล้วปั้นรับประทาน จะช่วยขับเสมหะ ดับพิษไข้หรือใช้รากแช่น้ำแก้ผมม่วงและรักษาเหา (วิเชษฐ์ สีสามานิตย์, 2557)

ฟักข้าวจัดเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณหลากหลายและมีคุณค่าทางโภชนาการ โดย Burke และคณะ (2005) พบว่าเนื้อเยื่อด้านในสีแดงของฟักข้าวมีแคโรทีนอยสูงประมาณ 497 ± 154 มิลลิกรัมต่อกรัม เนื้อเยื่อ และที่เวียดนามได้มีการนำเนื้อเยื่อสีแดงนี้มาผสมกับข้าว เรียกว่า “xoi gac” เพื่อให้มีสีนํารับประทาน สำหรับให้เด็กอนุบาลรับประทานติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณของเรตินอล (retinol) อัลฟา และเบต้าแคโรทีน (Alpha- and beta carotenes) และไลโคปีน (Lycopene) ในกระแสดเลือดเพิ่มสูงขึ้น (Vuong et al., 2002)

จากการศึกษาของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย พบว่า สารสกัดฟักข้าวอย่างน้อย 2-3 ตัวอย่าง มีฤทธิ์โดดเด่นในการต้านอนุมูลอิสระทั้งในเชิงเอนไซม์ (Enzymetic antioxidant) และไม่ใช่เอนไซม์ (Non-enzymetic antioxidant) (สารสนเทศสุขภาพไทย, 2555)

นอกจากนี้ยังมีการรายงานพบว่าปริมาณไลโคปีนในฟักข้าวมีปริมาณสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพืชหลายชนิด องค์ประกอบทางเคมีของฟักข้าว มีการรายงานว่าในผลของฟักข้าวประกอบด้วยองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญหลายชนิด เช่น โยอาหาร น้ำตาล โปรตีน เบต้าแคโรทีน ไลโคปีน วิตามินและแร่ธาตุบางชนิด เช่น แคลเซียม เหล็ก ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณสารต่างๆในส่วนของผลอ่อน เนื้อผลและเยื่อเมล็ดของฟักข้าว

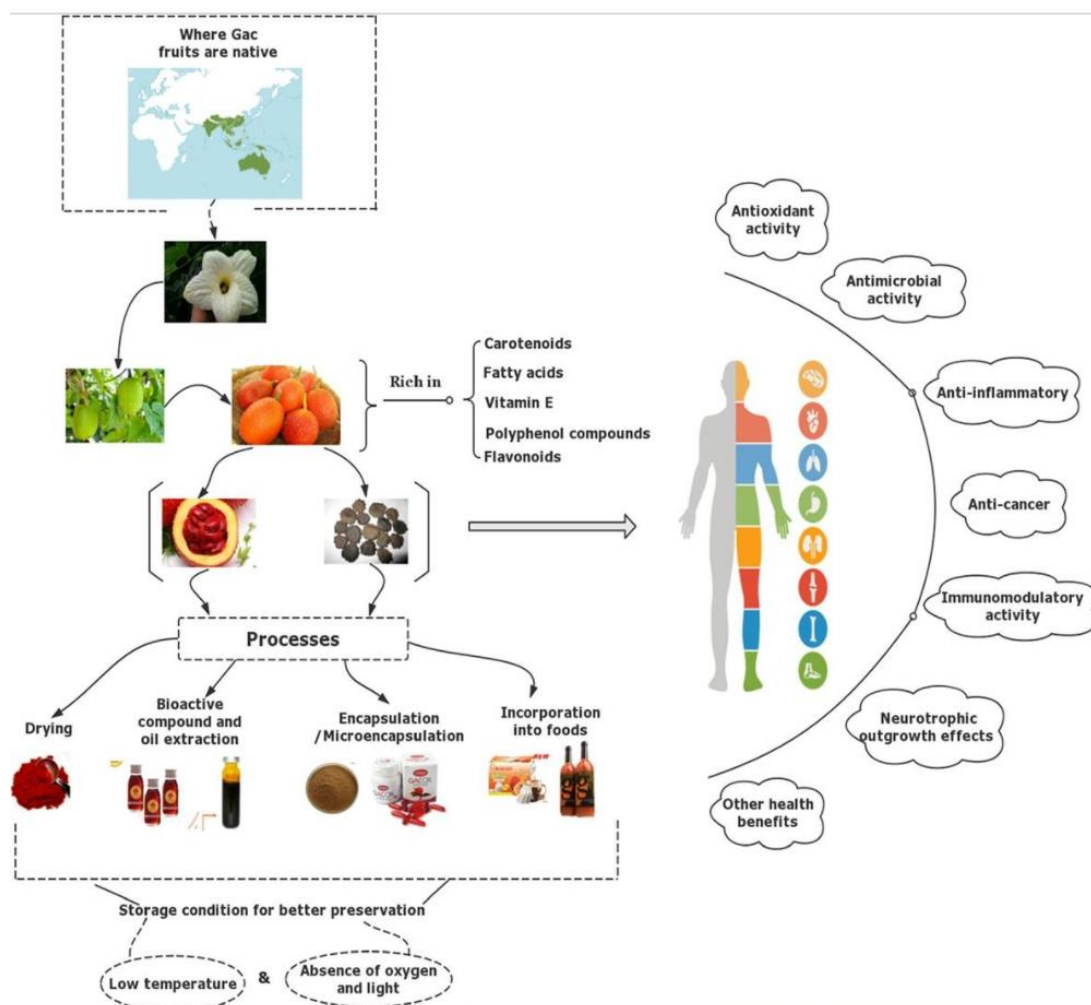
ส่วน ต่างๆ ของฟัก ข้าว	สารต่างๆ (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักผล)		100 กรัม น้ำหนักที่กินได้							
	ไลโค ปีน	เบต้าแค โรทีน	มวล แห้ง (กรัม)	โย อาหาร (กรัม)	น้ำตาล (กรัม)	โปรตีน (กรัม)	วิตามินซี (มิลลิกรัม)	เบต้าแคโร ทีน (มิลลิกรัม)	แคลเซียม (มิลลิกรัม)	เหล็ก (มิลลิกรัม)
ผลอ่อน	-	-	7	1.03	1.8	0.94	0.04	91	23	0.34
เนื้อผล	0.0009	0.0221	-	-	-	-	-	-	-	-
เยื่อ เมล็ด	0.380	0.101	-	-	-	-	-	-	-	-

ที่มา : ดัดแปลงจากพัชริน สงศรี (2554)

ปัจจุบันประเทศต่างๆ นอกจากประเทศเวียดนาม เช่น สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น อินเดีย และรัสเซีย เป็นต้น ได้ให้ความสนใจและทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฟักข้าวกันอย่างแพร่หลาย โดยมีผลงานวิจัยยืนยันในทางเดียวกันว่าฟักข้าวเป็นพืชที่อุดมด้วยสารสำคัญที่เรียกรวมๆว่าสารไฟโตเคมีคอล (Phytochemicals) โดยเฉพาะสารไลโคปีนและเบต้า-แคโรทีน ที่มีสรรพคุณโดดเด่นในการช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด และโรคเบาหวานที่เป็นกันมากในปัจจุบันโดยเฉพาะประเทศที่พัฒนาแล้วทั้งหลาย (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และ

เทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2555) ซึ่งฟักข้าว ถือว่าลดความเสียหายจากอนุมูลอิสระจึงมีฤทธิ์ป้องกันมะเร็ง งานวิจัยในประเทศญี่ปุ่นก็ยังรายงานหาโปรตีนจากสารสกัดน้ำของผลฟักข้าวยับยั้งการเจริญของก้อนมะเร็งลำไส้ใหญ่ในหนูทดลอง โดยการแผ่ขยายของหลอดเลือดรอบก้อนมะเร็งและชะลอการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งดังกล่าว ในห้องทดลองน้ำสกัดผลฟักข้าวยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับและมะเร็งลำไส้ใหญ่โดยการทำให้เซลล์แตก มีงานวิจัยในของมหาวิทยาลัยมหิดลเกี่ยวกับสรรพคุณของเมล็ดฟักข้าว ปัจจุบันคณะวิจัยของผู้เขียนได้วิจัยพบว่าเมล็ดของฟักข้าวประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิดและมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ในส่วนของผู้วิจัยเองพบว่าโปรตีนจากเมล็ดของฟักข้าวซึ่งได้แก่ Cochinin A และ Cochinin B มีคุณสมบัติยับยั้งการสร้างโปรตีนภายในเซลล์โดยเฉพาะเซลล์มะเร็ง โปรตีนในเมล็ดฟักข้าวมีคุณสมบัติที่เรียกว่ายับยั้งการทำงานของไรโบโซม (Ribosome-inactivating proteins) ทำให้ไม่เกิดการสังเคราะห์ของโปรตีนภายในเซลล์ ซึ่งมีความเฉพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งและเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส ผู้วิจัยได้ทำการจดสิทธิบัตรของโปรตีนในเมล็ดฟักข้าวไว้แล้ว และได้ตีพิมพ์ผลงานในวารสารในระดับนานาชาติ (วิเชษฐ์ สีสลามานิตย์, 2557)





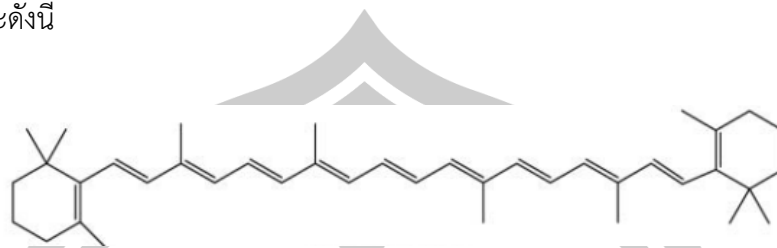
ภาพที่ 2 การแปรรูปและประโยชน์ของผลฟักข้าวสุก

ที่มา : Thanh Do et al (2019)

2.2 แคโรทีนอยด์ (Carotenoids)

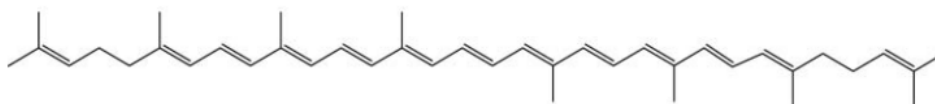
แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุ (Pigment) สีเหลือง ส้ม แดง และส้ม-แดง พบทั่วไปในพืช และสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ โดยจะทำงานร่วมกับคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีสีเขียว ทำหน้าที่ดูดซับพลังงานจากแสงอาทิตย์ เพื่อการสังเคราะห์แสงและช่วยการเจริญเติบโตของพืช และป้องกันอันตรายจากแสง (Photoprotective agents) ในอุตสาหกรรมอาหาร ใช้เป็นสีผสมอาหาร (Food color) จากธรรมชาติ เป็นกลุ่มสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกาย ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2564) สำหรับแคโรทีนอยด์ที่พบในฟักข้าวมี 4 ชนิด ได้แก่ เบต้า-แคโรทีน (β -carotene) ไลโคปีน (Lycopene) ซีแซนทีน

(Zeaxanthin) และบี-คริปโทกแซนทิน (β -cryptoxanthin)(Aoki et al.,2002) ซึ่งโครงสร้างทางเคมีมีลักษณะดังนี้



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของเบต้า-แคโรทีน (β -carotene)

ที่มา : H Emmanouil et al (2016)



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของไลโคปีน (lycopene)

ที่มา : H Emmanouil et al (2016)

2.2.1 ประเภทของแคโรทีนอยด์

โครงสร้างโมเลกุลของแคโรทีนอยด์อาจเป็นเส้นตรง ดังที่พบในไลโคปีนหรือเป็นวงแหวน (Ring) ที่ปลายโซ่ของโมเลกุล ดังที่พบในเบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) ซึ่งเมื่อแบ่งประเภทของแคโรทีนอยด์ตามลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลแบ่งเป็น 2 กลุ่มดังต่อไปนี้

2.2.1.1 (Hydrogenated carotenoid derivatives)

เป็นสารที่โครงสร้างของโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนอะตอมกับไฮโดรเจนอะตอมเท่านั้น มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{40}H_{56}$ ทำให้มีสมบัติเป็นสารไม่มีขั้วและละลายได้ในไขมัน ตัวอย่างสารกลุ่มไฮโดรคาร์บอนแคโรทีนอยด์เช่น ลูทีน บีตาแคโรทีน และไลโคปีน เป็นต้น

2.2.1.2 กลุ่มออกซิเจนเตตแซนโทพาล (Oxygenated carotenoid derivatives)

เป็นกลุ่มของสารแคโรทีนอยด์ที่มีหมู่ออกซิเจน ซึ่งประกอบด้วยออกซิเจนอะตอมอยู่ในโครงสร้างของโมเลกุล ทำให้มีสมบัติความมีขั้วมากกว่า และสามารถละลายในไขมันได้น้อยกว่าสารแคโรทีนอยด์ประเภทแรก ตัวอย่างสารที่อยู่ในกลุ่มออกซิเจนเตตแซนโทพาลเช่น ซีแซนทิน อนุพันธ์ของไฮดรอกซิล สไปลิลโลแซนทิน (Spiilloxanthin) และอนุพันธ์ของเมทอกซิล เป็นต้น (ธนวรรณ ศรีสกุลดิศ, 2556)

2.2.2 คุณสมบัติของแคโรทีนอยด์

2.2.2.1 สมบัติทางกายภาพ

แคโรทีนอยด์สามารถละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ไขมันและน้ำมัน แต่ไม่ละลายในน้ำ การสกัดแคโรทีนอยด์ออกมาจากพืชสามารถทำได้โดยใช้ตัวทำละลายหลายชนิด เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน เอทานอล หรืออะซิโตน แคโรทีนอยด์มีสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตและแสงที่มองเห็น ในช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร

2.2.2.2 สมบัติทางเคมี

แคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีความไวต่อออกซิเจนและแสงมาก แคโรทีนอยด์ในอาหารจะมีความคงตัวอยู่ได้ที่อุณหภูมิสูง หากไม่มีปัจจัยทางด้านแสงและออกซิเจนมารบกวน แคโรทีนอยด์ในธรรมชาติมีไอโซเมอร์แบบทรานส์ทั้งหมด โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนอะตอมที่จับกันด้วยพันธะคู่ชนิดคอนจูเกต ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นไอโซเมอร์แบบซิส (Cis-isomer) เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยความร้อน ตัวทำละลายอินทรีย์และกรด ซึ่งไอโซเมอร์แบบซิสที่เกิดขึ้นมีผลให้ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดของแคโรทีนอยด์เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยและเป็นสาเหตุที่ทำให้การวัดปริมาณแคโรทีนอยด์รวมมีค่าลดลง

2.3 ไลโคปีน (Lycopene)

ไลโคปีนมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{40}H_{56}$ สูตรโครงสร้างของไลโคปีนเป็นสายของไฮโดรคาร์บอนที่ปลายทั้งสองข้างเป็นแบบเปิดประกอบด้วยพันธะคู่ จำนวน 13 พันธะ โดยมีพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยวเชื่อมต่อกัน 11 ตำแหน่ง (Conjugated double bonds) ทำให้ไลโคปีนเป็นแคโรทีนอยด์ที่มีความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระได้มากที่สุด โดยมากกว่าเบต้าแคโรทีน 2 เท่าและลูทีน 10 เท่า โครงสร้างของไลโคปีนแสดงดังภาพที่ 2.4 ส่วนใหญ่ในธรรมชาติพบสารไลโคปีนอยู่ในรูป trans แต่อาจเปลี่ยนไปอยู่ในรูป cis ได้ในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร โดยไลโคปีนในรูป cis สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ง่ายและมีความสำคัญต่อหน้าที่เชิงชีวภาพมากกว่าอยู่ในรูป trans ไลโคปีน (Lycopene) เป็นสาร Phytochemical ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ซึ่งเป็นรงควัตถุ (Pigment) ที่พบมากตามธรรมชาติในผัก ผลไม้ ที่มีสีแดงหรือสีชมพู เช่น มะเขือเทศ แดงโม เกรฟฟรุต สีชมพู (Pinkgrapefruit) ฝรั่งไล่แดง เป็นต้น มีบทบาทสำคัญต่อการสังเคราะห์แสงของพืช รวมทั้งสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ เช่น สาหร่าย รา แบคทีเรีย เป็นสารตั้งต้นสำคัญทางชีวภาพ เพื่อการสังเคราะห์สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นเช่น บีตา-แคโรทีน (Beta-carotene) แซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์, 2566)

2.3.1 คุณสมบัติของสารไลโคปีน

2.3.1.1 คุณสมบัติการละลาย (Solubility)

สารไลโคปีนเป็นสารที่ไม่ชอบน้ำ (Lipophilic) จึงไม่สามารถละลายน้ำหรือละลายได้น้อย แต่สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน มีความสามารถในการละลายประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง อีกทั้งสามารถละลายได้เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิของน้ำมัน นอกจากนี้ไลโคปีนยังสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซิโตน แอลกอฮอล์ (เมทานอลและเอทานอล) เอทิลอีเทอร์ คลอโรฟอร์มและเอทิลอะซิเตต เป็นต้น

2.3.1.2 การดูดกลืนแสง

สารไลโคปีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนพลังงานแสงในช่วงความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลได้ (UV-Vis) ดังนั้นเมื่อโมเลกุลของสารไลโคปีนดูดกลืนพลังงานแสงแล้วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กตรอนวงนอกสุดของโมเลกุล ทำให้สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ของสารที่มีความยาวคลื่นต่างๆได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโกปี (Spectroscopy) โดยความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด(λ_{max})จะเป็นค่าที่จำเพาะเจาะจงของสารนั้น ๆ จึงสามารถนำค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารไปพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารได้ ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารไลโคปีนในสารทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 (ธนวรรณ ศรีสกุลติศ, 2556)

ตารางที่ 2 ค่าความยาวคลื่นการดูดกลืนแสงสูงสุดของไลโคปีน (Trans-isomer) ในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

ตัวทำละลาย	ความยาวคลื่นแสง (λ_{max})
อะซิโตน	448, 474, 505
คลอโรฟอร์ม	458, 484, 505
ปิโตรเลียมอีเทอร์	444, 470, 502
เฮกเซน	445, 472, 503

ที่มา : ธนวรรณ ศรีสกุลติศ, 2556

สีของสารละลายที่จะวัดพิจารณาจากสีของสารละลาย ซึ่งจะทำให้ทราบคร่าวๆ ว่าควรจะใช้แสงความยาวคลื่นใดในการวัดตามเกณฑ์ดังนี้ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนของสีของตัวกรองแสงและสีของสารละลาย

ความยาวคลื่นที่ดูดกลืน (นาโนเมตร)	สีของตัวกรองแสง	สีของสารละลาย
380-435	ม่วง	เขียวเหลือง
435-480	น้ำเงิน	เหลือง
480-490	น้ำเงินเขียว	ส้ม
490-500	เขียวน้ำเงิน	แดง
500-560	เขียว	ม่วง
560-580	เขียวเหลือง	ม่วง
580-595	เหลือง	น้ำเงิน
595-650	ส้ม	น้ำเงินเขียว
650-780	แดง	เขียวน้ำเงิน

ที่มา : ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์, 2544

2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของสารไลโคปีน

ตามธรรมชาติสารไลโคปีนในพืชจะอยู่ในรูป trans-isomer แต่อย่างไรก็ตาม โครงสร้างของไลโคปีน อาจเปลี่ยนรูปเป็น cis ในระหว่างกระบวนการแปรรูปหรือเมื่อสัมผัสกับแสง ความร้อน ออกซิเจน และกรด หรืออาจเปลี่ยนแปลงตามค่าความเป็นกรด-ด่าง นอกจากนี้โครงสร้างของสารไลโคปีนเป็นโครงสร้างของโมเลกุลที่ไม่อ้อมตัวอยู่สูง ทำให้เกิดออกซิเดชันได้ง่าย ดังนั้นในกระบวนการต่างๆ เช่น การวิเคราะห์ปริมาณ การทำให้บริสุทธิ์ การทำให้เข้มข้น การสกัด รวมทั้งสถานะในการเก็บรักษา อาจเป็นสาเหตุทำให้สารไลโคปีนเกิดการเสื่อมสลายได้

2.3.3 ประโยชน์ของไลโคปีน

เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เกี่ยวข้องกับสุขภาพ เช่น ป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์ ชะลอความแก่ และป้องกันการเกิดออกซิเดชันในอาหาร นอกจากนี้ยังป้องกันโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคต่อกระจาก โรคหัวใจ หลอดเลือด และโรคมะเร็ง เป็นต้น ความแตกต่างที่สำคัญ ระหว่างไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนนั้น ไลโคปีนเป็นแคโรทีนอยด์ที่ไม่มีกิจกรรมโปรวิตามินเอ ในขณะที่เบต้าแคโรทีนเป็นแคโรทีนอยด์ที่เป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับวิตามินเอ

แคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มของเม็ดสีที่ให้สีลักษณะเฉพาะแก่ผักและผลไม้ ดังนั้นจึงมีสีเหลืองส้มและแดงให้เห็น เป็นเม็ดสีจากพืชส่วนใหญ่ประกอบด้วยสองชั้น Carotenes และ Xanthophylls โครงสร้างแคโรทีนอยด์เป็นไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ชอบน้ำ ดังนั้นจึงไม่ละลายในน้ำ แต่สามารถละลายได้ในไขมัน นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังแสดงคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ที่แตกต่างกัน

นอกจากนี้ยังช่วยพืชในการสังเคราะห์แสง นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระ ด้านมะเร็งและด้านการอักเสบ ยิ่งไปกว่านั้นแคโรทีนอยด์ยังเป็นที่ยอมรับในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดอีกด้วย ผักและผลไม้หลายชนิด เช่น แครอท มันเทศ มะละกอ แตงโม แคนตาลูป มะม่วง ผักโขม กระน้ำ มะเขือเทศ พริกหวานและส้มเป็นแหล่งที่ดีของแคโรทีนอยด์ แคโรทีนอยด์ที่ศึกษามากที่สุด ได้แก่ เบต้าแคโรทีน ไลโคปีน ลูทีนและซีแซนทีน

2.3.4 ความคล้ายคลึงกันระหว่างไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน

- 1) ไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนเป็นสารพฤษเคมีที่เป็นแคโรทีนอยด์
- 2) ไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนคือ Tetraterpene
- 3) เป็นไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ชอบน้ำ
- 4) ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ในไขมัน

2.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมัก

คีเฟอร์ เป็นนมหมักประเภทเดียวกับโยเกิร์ต แต่จุลินทรีย์ที่ใช้หมักแตกต่างกัน โดยโยเกิร์ตจะใส่โยเกิร์ต ซึ่งเชื้อที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตคือ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ลงไปหมัก แต่คีเฟอร์จะใส่คีเฟอร์แกรนส์ซึ่งเป็นเม็ดเล็กๆ ที่เกาะติดกันลงไปในนม คีเฟอร์มีอีกชื่อเรียกว่า “บัวหิมะธิเบต” จุลินทรีย์ที่อยู่ในคีเฟอร์ประกอบด้วยยีสต์และแบคทีเรียแลคติก (Lactic Acid Bacteria) ซึ่งอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Symbiosis) และช่วยในการสร้างสารอาหารมากมาย เช่น โพรไบโอติกส์ที่ช่วยสร้างสมดุลในระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะกระเพาะอาหารและลำไส้ใหญ่ และยังดีต่อคนที่มีภาวะโลหิตจาง เพราะมีกรดโฟลิกสูง (สุขภาพ, 2565)

คีเฟอร์ราน (Kefiran) เป็นโครงสร้างที่เกิดจากการรวมตัวของชั้นพอลิแซ็กคาไรด์ที่เชื้อแบคทีเรียสร้างและปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (Exopolysaccharide) ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส และกาแลคโตส (อัตราส่วน 1 : 1) ร่วมกับโปรตีนเคซีนและไขมันนม ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ก้ำเชื้อผสม (Mixed starter cultures) จับตัว เป็นกลุ่มก้อนลักษณะเป็นเม็ดสีขาว มีความเหนียวและยืดหยุ่น (Gelatinous biomass) รูปร่างไม่แน่นอน คล้ายดอกกะหล่ำ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2 ถึง 30 มิลลิเมตร เรียกว่า เม็ดคีเฟอร์ (Kefir grains) (ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และ อัญชิสา กุลทวีสุข, 2561)

2.5 เอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการหมัก

2.5.1 เพกทิเนส (pectinase)

เป็นกลุ่มของเอนไซม์ (Enzyme) ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ เพกทินเอสเทอเรส (Pectinesterase, PE) พอลิกลาลักตูโรเนส (Polygalacturonase, PG) และเพกเททไลเอส

(Pectate lyases, PL) เอนไซม์เพกทิเนส สามารถย่อยเพกทิน (Pectin) ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และละลายในน้ำได้น้อย ให้มีโมเลกุลสายสั้นลง ส่งผลให้ละลายในน้ำได้ดีขึ้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์, 2564)

เพกทิน (Pectin) เป็น พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ประเภท Heteropolysaccharide มีหน่วยย่อย คือกรดกาแล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid) ประมาณ 65% โดยน้ำหนัก และเมทิลการแล็กทูโรเนต และน้ำตาลหลายชนิด เช่น Rhamnose, Galactose, Arabinose พบตามธรรมชาติในผนังเซลล์ของพืช (Plant cell wall) และรอยต่อระหว่างผนังเซลล์ โดยรวมตัวอยู่กับเซลลูโลส (Cellulose) ทำหน้าที่ยึดเกาะผนังเซลล์ให้ติดกันคล้ายเป็นซีเมนต์ (ภาพที่ 4)

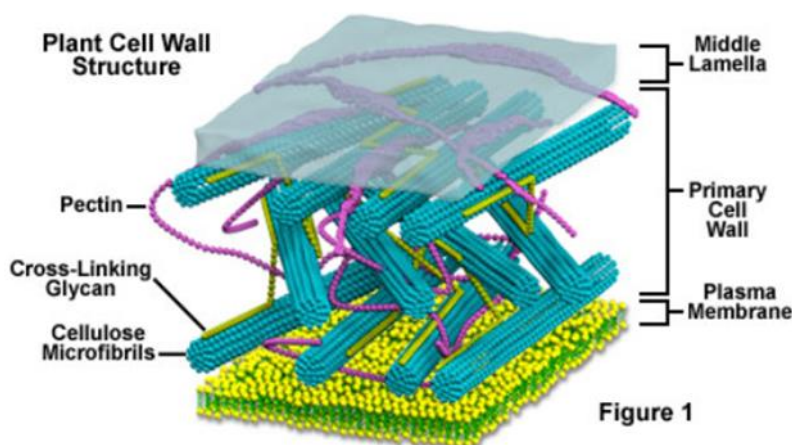


Figure 1

ภาพที่ 3 โมเลกุลของเพกทิน (เส้นสีชมพู) ในเนื้อเยื่อของผัก ผลไม้ บริเวณ Middle lamella และ ผนังเซลล์ (Cell wall)

ที่มา : พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ (2564)

2.5.2 เซลลูเลส

เซลลูเลส คือเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์โมเลกุลของเซลลูโลสที่พันธะบีตา-1, 4-ไกลโคไซด์ ได้เป็นเซลโลไบโอส ซึ่งเป็นไดแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 2 หน่วย อาจเรียกว่า Cellulolytic enzyme (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2564)

เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ในการย่อยสลายเซลลูโลสจาก Biocatalysis เซลลูโลส สามารถจะแตกออกเป็น Oligosaccharides หรือ Monosaccharides โปรตีนหรืออาร์เอ็นเอ เซลลูเลสแพร่หลายในสิ่งมีชีวิตธรรมชาติ เช่น แบคทีเรีย เชื้อราและสัตว์อื่น ๆ สามารถผลิตเซลลูเลส โดยทั่วไปจะใช้สำหรับการผลิตของเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *Trichoderma sp.* เชื้อรา

Aspergillus sp. และ *Penicillium sp.* ส่วนแบคทีเรียผลิตเซลล์ไคโตซานเพื่อการเสื่อมสภาพส่งผลให้ความสามารถในการลดการผลิตเอนไซม์

เซลล์ไคโตซานในอุตสาหกรรมอาหารและสิ่งแวดล้อมกันอย่างแพร่หลาย ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์นอกเหนือจากเซลล์ไคโตซานสามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบและคุณภาพไวน์ที่ดีขึ้นปฏิกิริยาเอนไซม์เซลล์ไคโตซานและปฏิกิริยาที่ไม่ได้เป็น โดยทั่วไปมีความแตกต่างที่สำคัญคือเอนไซม์เซลล์ไคโตซานหลายองค์ประกอบและโครงสร้างพื้นผิวที่มีความซับซ้อนมาก เพราะพื้นผิวที่ไม่ละลายน้ำแทนการดูดซับของเอนไซม์เซลล์ไคโตซานและสารตั้งต้นในระหว่างการก่อตัวของสารเชิงซ้อน ES เซลล์ไคโตซานแรกที่ดูดซับสารตั้งต้นที่เฉพาะเจาะจงของเซลล์ไคโตซานและองค์ประกอบหลาย ๆ อย่างของผลที่เสริมด้วยฤทธิ์ของเซลล์ไคโตซานนั้นคือน้ำตาลกลูโคส (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2564)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง



ตารางที่ 4 วิธีการสกัดโลโคป็น

วิธีการสกัดโลโคป็น	วัตถุดิบที่ใช้	สถานะที่ใช้ในการทดลอง	วิธีการทดลอง	ผลการทดลอง	ที่มาของงานวิจัย
1. ใช้เอนไซม์และสารทำลายอินทรีย์ต่างชนิด	กากมะเขือเทศและผงมะเขือเทศ	ใช้เอนไซม์ทางการค้า 2 ชนิด ได้แก่ Enz A และ Enz B และศึกษาระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์ 5 ระดับ คือ 30 40 50 60 และ 90 นาที	การใช้เอนไซม์ Enz A และ Enz B ร่วมกับตัวทำลายลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ เอทานอล ไดเอทิลอีเทอร์และเอทิลอะซีเตต ในการสกัดเพื่อให้ได้โลโคป็น	การใช้เอนไซม์ Enz A ที่ระยะเวลาการย่อย 50 นาที ร่วมกับเอทิลอะซีเตตได้ปริมาณผลผลิตโลโคป็นสูงที่สุด โดยผง TPL ให้ผลได้เป็นสูงสุด คือ 80.21 มก.ต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ซึ่งได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นร้อยละ 149.72	(กัญญรัตน์ กัญญา คำ และ จันทน์ อริยะ พงศสรรค์, 2553)

ตารางที่ 4 วิธีการสกัดไลโคปีน (ต่อ)

วิธีการสกัดไลโคปีน	วัตถุดิบที่ใช้	สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	วิธีการทดลอง	ผลการทดลอง	ที่มาของงานวิจัย
2. ใช้เอนไซม์เซลลูเลส	เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว	ใช้เอนไซม์เซลลูเลสทางคาร์แค (Accellerase 1500) ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันในช่วงร้อยละ 0.25-3 ต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ 3 ชนิด ได้แก่ ไลโคปีน เบต้าแคโรทีน และลูทีน	ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสด 2 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น ปริมาตร 28 มิลลิลิตร ใส่ภาชนะกั่นแสงและนำไปโม่ให้ละเอียด 1 นาที จากนั้นนำมาผสมกับตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสดที่เตรียมไว้ในระหว่างทำการสกัดจะเป่าก๊าซไนโตรเจนเพื่อไล่ก๊าซออกซิเจนออกจากภาชนะสกัดเป็นเวลา 20 วินาที พร้อมตั้งเขย่าโดยใช้ Orbital Shaker เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาเดิม	การใช้เอนไซม์เซลลูเลสทางคาร์แค (Accellerase 1500) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแคโรทีนอยด์จากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว	(ศรินญา สังขสิทธิ์ และคณะ, 2561)

			ตัวละลายผสมระหว่าง เฮกเซน:อะซิโตน: เอ ทานอล (50: 25: 25) แล้วนำไปเขย่าซ้ำอีก 30 นาที ถ่ายตัวอย่าง ลงในกรวยแยก เขย่า เป็นเวลา 3 นาที รอให้ แยกชั้น เก็บส่วนในชั้น บน ทำการสกัดซ้ำ นำ ส่วนที่สกัดได้ทั้งหมด เก็บรักษาในภาชนะ ป้องกันแสง และนำไป เก็บรักษาที่อุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส เพื่อ รอการวิเคราะห์ชนิด และปริมาณแคโรที นอยด์ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography		
--	--	--	---	--	--

			(HPLC)		
--	--	--	--------	--	--

ตารางที่ 4 วิธีการสกัดไลโคปีน (ต่อ)

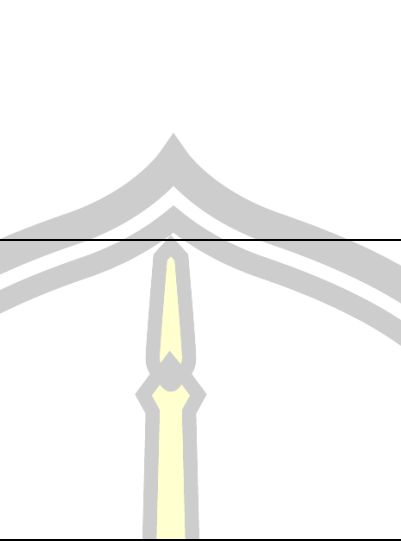
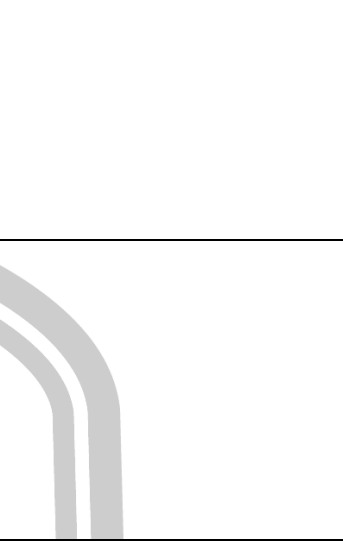
วิธีการสกัดไลโคปีน	วัตถุดิบที่ใช้	สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	วิธีการทดลอง	ผลการทดลอง	ที่มาของงานวิจัย
3. ใช้เครื่อง HPLC สกัดสารไลโคปีนจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว	เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว	สารสกัดเคลื่อนย้ายด้วยสาร 1 เดอทิลอีเทอร์ในปริมาณที่เท่ากัน โดยเฟสบนถูกชะล้าง 3 ครั้งด้วยสารละลาย NaCl ที่อิ่มตัว แล้วทำให้แห้งด้วย Na_2SO_4 และไฮโดรคาร์ททำให้แห้งภายใต้แรงดันที่ลดลงที่ 25 องศาเซลเซียส ตัวอย่างของเนื้อผลไม้ที่แห้งนำไปละลายในไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 4 มล แล้วละลายเยื่อหุ้มเมล็ดในไดเอทิลอีเทอร์ปริมาตร 4 มล. และทำการเพิ่มอะซิโตนไทรสิในแต่ละตัวอย่างเพื่อให้ได้	เนื้อผลไม้ 56 กรัม หรือ 10 กรัมของเยื่อหุ้มเมล็ดจะถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วสกัดด้วยปริมาตรสี่เท่าของอะซิโตนจนกระทั่งระเหยออกมาเป็นสี	พบความเข้มข้นของไลโคปีนในเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีค่าสูงกว่า 7 เท่า (380 มก./Wt)	Aoki et al (2002)

		ปริมาตร 20 มล.			
--	--	----------------	--	--	--

ตารางที่ 4 วิธีการสกัดไลโปตีน (ต่อ)

วิธีการสกัดไลโปตีน	วัตถุดิบที่ใช้	สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	วิธีการทดลอง	ผลการทดลอง	ที่มาของงานวิจัย
4. ใช้เครื่องโดยใช้โครมาโตกราฟีแบบเหลวควบคู่กับแมสสเปกโตรเมตรีสามเท่า (LCMS/MS)	เนื้อเยื่อแดงกว่าและวิสตันโน	หมุนเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งผลจากการหมุนเหวี่ยง 20 นาที ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจำนวน 20,000 กรัม จากนั้นนำส่วนใสด้านบน ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-MS/MS	นำผงใบแดงกว่าแช่แข็งไปปั่นน้ำหนักแล้วใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟิวจ์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเมทานอลและน้ำที่มีกรดฟอร์มิก 2% (อัตราส่วน 80:20) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำการสกัด แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที	เป็นกรณีศึกษาที่สำคัญที่ทำให้ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อใบแดงกว่า, มีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระ 10 ชนิดจาก 13 ชนิด เพื่อการจัดหรือยับยั้งการสังเคราะห์ ROS (Reactive Oxygen Species) อย่างมีนัยสำคัญ ป้องกันสิ่งมีชีวิตของพืชจาก	Huang et al (2019)

					ความเสียหาย	
5. ใช้ วิธี HPLC-DAD(เท ค นิ ค HPLC-DAD	เยื่อหุ้มเมล็ดพืชข้าว รากแครอทและผลมะเขือเทศ	แยกสารแคโรทีนอยด์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ด้วยวิธีของ YMC (YMC Europe, Dinslaken, Germany) โดยใช้คอลัมน์ (C30, 250 × 4.6 mm ขนาด 3 ไมโครเมตร) และใช้การคัดลัมน์ที่ 10 × 4.0 มิลลิเมตร ส่วนเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย เมทานอล/MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) /น้ำ (80:18:2) ปริมาตร/ ปริมาตร/ปริมาตร ซึ่งประกอบด้วย 0.04% น้ำหนัก/ปริมาตร ของแอมโมเนียม อะซิเตท ซึ่งใช้	การใช้กระบวนการย่อยอาหาร จำลอง ในหลอดทดลอง	เบต้าแคโรทีน (29.5 ± 1.7% และ 22.6 ± 0.9% ตามลำดับ) และไลโคปีน (51.3 ± 2.6% และ 33.2 ± 3.1% ตามลำดับ) จาก ผลแล็ก พบว่าสูงกว่า รากแครอทอย่างมีนัยสำคัญ (เบต้าแคโรทีน 5.2 ± 0.5% และ 0.5 ± 0.2% ตามลำดับ) และผลมะเขือเทศ (ไลโคปีน 15.9 ± 2.8% และ 1.8 ± 0.5% ตามลำดับ)	Müller-Maatsch J. et al (2017)	

เป็นสารละลายA และใช้ เมทานอล/MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) /น้ำ (8:90:2) ปริมาตร/ปริมาตร/ ปริมาตร ซึ่งประกอบด้วย 0.04% น้ำหนัก/ปริมาตร ของแอมโมเนียม อะซิเตท เป็นสารละลายB โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์ ทั้งหมด 53 นาที ที่อัตราการ ไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที ที่ ความยาวคลื่น 446 นาโน เมตร แล้วนำไปวิเคราะห์ UV/Vis spectra ในช่วงความ ยาวคลื่น 200–600 นาโน เมตร ซึ่งการระบ สารประกอบโดยทำการ เปรียบเทียบกับ retention times และ		
--	--	---

		มาตรฐานของ UV/Vis spectra เพื่อหาปริมาณของ แคโรทีนอยด์ lycopene, α -carotene, and β -carotene โดยดูเปรียบเทียบกับเส้นตรงของ (all-E)-lycopene และ (all-E)- β -carotene (α -carotene และ β -carotene) ซึ่งจะใช้หาปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่ความยาวคลื่น 446 นาโนเมตร			
6. การทำ สารแคโรทีน นอยด์ ให้บริสุทธิ์ และการแยก โดยการทำให้ สะพอนิฟิเค	น้ำมันฟักข้าวปริมาณ 0.01 ถึง 0.05 มิลลิลิตร/กรัม	สภาวะที่เหมาะสม (ความเร็ว กวน 1094 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการทำ ปฏิกิริยา 228 นาที) ผลผลิตจะอยู่ที่ 93% โดยประมาณ	Total carotenoids content (TCC) ทำการตรวจสอบด้วยวิธี สเปกโตรโฟโตเมทรีตามวิธีของ Tran et al. (2008) โดยใช้รุ่น Uvevi-visible spectrophotometer (Thermo Spectronic, model	การใช้ Tween 80 (น้ำมัน 0.01 ถึง 0.05 มิลลิลิตร/กรัม) สามารถ ช่วยเพิ่มปริมาณของสาร แคโรทีนอยด์ โดยการ รวมกันระหว่าง 0.4 มิลลิลิตร/กรัม น้ำมัน	Mai et al (2016)

ชั้นและใช้ไฟ รฟลิ้นไกล คอล			Genesys 20, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) ที่ความยาวคลื่น 473 นาโนเมตรซึ่งเป็นวิธีของ Mai et al. (2013) และการวิเคราะห์ปริมาณของสารไลโคปีนในวิธี DSM Nutritional products ของ Müller et al. (2008) โดย การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์จะใช้วิธี high-performance liquid chromatography (HPLC)	ของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์และ 0.8 มิลลิลิตร/กรัม น้ำมันของโพพรฟลิ้นไกลคอล ทำให้ได้สารแคโรทีนอยด์สูงสุด	
---	--	--	--	--	--

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาองค์ประกอบแคโรทีนอยด์และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ของฟักข้าวที่หมักด้วยจุลินทรีย์ผสม ในขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยแบ่งออกเป็น 4 ส่วนดังนี้

- 3.1 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย
- 3.2 แผนการดำเนินงานวิจัย
- 3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง
- 3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย

ตารางที่ 5 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย

ลำดับที่	รายการสารเคมี	รุ่น / บริษัทผู้ผลิต / ประเทศ
1	สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	Fluka Chemical Co., USA
2	ผงมอลต์ (Malt extract)	Fluka Chemical Co., USA
3	เพปโตน (Peptone)	Fluka Chemical Co., USA
4	ผงวุ้น (Agar Powder)	Fluka Chemical Co., USA
5	บีฟเอกซ์แทรกซ์ (Beef extract)	Fluka Chemical Co., USA
6	น้ำตาลเดกซ์แทรส (Dextrose)	Fluka Chemical Co., USA
7	แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3)	BDH Prolabo, UK
8	เอทานอล ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	BDH Prolabo, UK
9	กลูโคส ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	Fluka Chemical Co., USA
10	กรดอะซิติก (CH_3COOH)	Ajax Finechem Pty Ltd, Australia and New Zealand
11	กรดทาร์ทาริก ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$)	Ajax Finechem Pty Ltd, Australia and New Zealand
12	กรดแลกติก ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$)	Ajax Finechem Pty Ltd, Australia and New Zealand

ตารางที่ 5 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย (ต่อ)

ลำดับที่	รายการสารเคมี	รุ่น / บริษัทผู้ผลิต / ประเทศ
13	กรดซัคซินิก(C ₄ H ₆ O ₄)	Ajax Finechem Pty Ltd, Australia and New Zealand
14	แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl ₂)	Ajax Finechem Pty Ltd, Australia and New Zealand
15	กรดซิตริก (C ₆ H ₁₀ O ₈)	Ajax Finechem Pty Ltd, Australia and New Zealand
16	จานเพาะเชื้อ (Petri dish)	Pyrex / USA
17	แท่งแก้วจ (Glass rod spreader)	Pyrex / USA
18	ที่เจาะ จุกคอร์ก (Cork borer)	Pyrex / USA
19	หลอดทดลอง (Tube)	Pyrex / USA
20	ปิกเกอร์ (Beaker)	Pyrex / USA
21	เพลต 96 หลุม (96 well plate)	Cole-parmer / USA
22	ทิป (Tip)	Finn / Thermo scientific / Finland
23	เครื่องดูดจ่ายสารละลายขนาดเล็ก (Micropipette)	Finnpipette F1 / Thermo
24	ตู้เก็บตัวอย่าง -20 องศาเซลเซียส	(Freezer -20 °C) Panasonic / Thailand
25	เครื่องชั่งแบบละเอียด (Analytical Balance)	Presica 25A / Switzerland
26	เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	Mettler Toledo FiveEASYS TM Plus / FEP20
27	เครื่องบ่มแบบเขย่า (Shaking Incubators)	LSI-1005R / LabTech / Korea
28	ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Binder / Germany
29	ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)	MAR1200 / LabTech / Korea

ตารางที่ 5 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย (ต่อ)

ลำดับที่	รายการสารเคมี	รุ่น / บริษัทผู้ผลิต / ประเทศ
30	หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)	LAC-50605 / LabTech / Korea
31	เครื่องเหวี่ยงเหวี่ยง (Centrifuge)	Universal 320R / Germany
32	เครื่องผสมตัวอย่าง (Vortex mixer)	Harmony / Japan

3.2 แผนการดำเนินงานวิจัย

- 1) งานวิจัยนี้ทำการศึกษาการหมักเชื้อเห็ดเห็ดของผลผักข้าวที่สุกได้ที่คือมีผลเป็นสีแดงหรือสีส้มซึ่งผลผักข้าวสุกได้มาจากจังหวัดนครราชสีมาในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงธันวาคม 2564 โดยใช้หัวเชื้อคีเฟอร์
- 2) โดยใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเพคตินเอส
- 3) เปรียบเทียบการใช้จุลินทรีย์กับการใช้เอนไซม์บริสุทธิ์

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อรา *Aspergillus niger* ที่สามารถสร้างเอนไซม์เพคตินเอสและเซลลูเลสได้จากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติเลี้ยงเชื้อในอาหาร PDA (Potato dextrose agar) เตรียมอาหาร Potato dextrose agar เชื้อเชื้อรา *Aspergillus niger* จากหลอดทดลองใส่ในอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ นำไปต้ม hot air oven ที่ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมอาหาร Yeast Malt Agar (มันฝรั่ง 200 กรัม dextrose 20 กรัม วุ้น 15 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ ค่า pH อยู่ที่ 5.0-5.5 นำเชื้อจาก PDA เชื้อลงใน broth นำไปต้มใน Shaker incubator ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่แรงเหวี่ยง 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3.2 การเตรียมหัวเชื้อคีเฟอร์ DT5001

1) นำเม็ดคีเฟอร์ จากหน่วยวิจัยนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม น้ำหนักแห้ง 0.5 กรัม แล้วเติมนมสดปริมาณ 200 มิลลิลิตรอย่าให้นมเต็มโหลพลาสติก เนื่องจากเวลาหมัก (Fermentation) จะเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ปิดปากโหล ด้วยผ้าขาวบางทาบ 4 ชั้น และตั้งไว้อุณหภูมิห้องประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส จะได้หัวเชื้อคีเฟอร์

2) นำคีเฟอร์ที่บ่ม 24 ชั่วโมง เทคีเฟอร์ลงในผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อ กรองเอาแต่เม็ดคีเฟอร์ใช้หัวเชื้อคีเฟอร์ 2% (v/v) เพื่อนำไปใช้ในการหมักผักข้าวต่อไป

3.3.3 การเตรียมความเข้มข้นเอนไซม์

1) เอนไซม์เพกทีเนส ซื้อจากบริษัทผลิต Reach Biotechnology CO.,LTD จากประเทศไทย เตรียมในระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 v/v

2) เอนไซม์เซลลูเลส ซื้อจากบริษัทผลิต Reach Biotechnology CO.,LTD จากประเทศไทย เตรียมในระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 2 v/v

เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นที่สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์ได้ปริมาณสูง(ศรินญา สังขสัณญาและคณะ, 2561)

3.3.4 สภาวะที่ใช้ในการหมักเชื้อเห็ดฟักข้าว

ผลฟักข้าวที่สุกที่ได้มาจากจังหวัดนครราชสีมา 10 กิโลกรัม นำมาแยกส่วนเห็ดเห็ดเมสส์ดอกกลางแจ้งทำความสะอาด ผึ่งแห้ง ชั่งน้ำหนักสด บันทึกผล จากนั้นเติมน้ำเปล่า 1000 มิลลิลิตรต่อเห็ดเห็ดเมสส์ 1 กิโลกรัม ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อทำการพาสเจอร์ไรส์ ทั้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมหิวเชื้อจุลินทรีย์ 2 % (v/v) บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดดังนี้ แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สภาวะที่ใช้ในการหมักเชื้อเห็ดฟักข้าว

ชุดการทดลอง	สภาวะในการหมัก
น้ำเชื้อฟักข้าว (98ml) + คีเฟอร์ DT5001 (2ml) (2%v/v)	อุณหภูมิห้อง 25-28 องศาเซลเซียส ไม่เขย่า เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
น้ำเชื้อฟักข้าว (98ml) + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> (2ml) (2%v/v)	อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
น้ำเชื้อฟักข้าว(98ml) + เอนไซม์เพกทีเนส (2ml) (2%v/v)	อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
น้ำเชื้อฟักข้าว (98ml) + เอนไซม์เซลลูเลส (2ml) (2%v/v)	อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
น้ำเชื้อฟักข้าว (ชุดควบคุม) ชุดเวลาที่ 0 ชั่วโมง	อุณหภูมิห้อง 25-28 องศาเซลเซียส ไม่เขย่า เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เมื่อสิ้นสุดเวลาการหมัก เติมโปแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium metabisulphite, KMS) ความเข้มข้นปริมาตร 200 ส่วนในล้านส่วน (ppm) หรือ 0.2 กรัมต่อลิตร เพื่อยุติการหมัก แล้วทิ้งไว้ 2 วันเพื่อให้ KMS ระเหยออกไป แล้วนำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

3.3.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำหมักที่ได้

3.3.5.1 คุณลักษณะทางกายภาพและคุณลักษณะทางเคมี

1) วัดค่าสี L^* , a^* และ b^* ด้วยเครื่อง ColorFlex (รุ่น CM-600d/Konica Minolta /Japan) โดยนำตัวอย่างสารละลายเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวใส่ลงในคิวเวตให้พอประมาณ แล้วนำไปวัดลักษณะสี หน้าจอประมวลผลจะแสดงค่า โดยค่า L^* แสดงถึงค่าความสว่าง 0 ถึง 100 ค่ากำหนดให้ ($+a^*$) แสดงถึงค่าสีแดง ค่า ($-a^*$) แสดงถึงค่าสีเขียว ค่า($+b^*$) แสดงถึงค่าสีเหลือง ($-b^*$) แสดงถึงค่าสีน้ำเงิน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter (รุ่น Mettler Toledo FiveEASYTEMPlus / FEP20) โดยนำตัวอย่างน้ำหมักของเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่ได้ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร วัดค่าพีเอช ด้วยเครื่อง pH meter จุ่มหัววัดลงในตัวอย่าง แล้วกด Read อ่านค่าและบันทึกผลการทดลอง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3) วัดของแข็งที่ละลายทั้งหมด (Total dissolved solids; TDS) ด้วย Hand refractometer (รุ่น Master-93H ATAGO Japan) ใช้ Hand refractometer โดยหยดตัวอย่างสารละลายเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่เตรียมแล้วที่ต้องการวิเคราะห์ ปริมาณ 2 หยด ลงบนแผ่นปริซึม จากนั้นปิดด้วยแผ่นกันแสงให้ตัวอย่างสารละลายเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่เตรียมแล้วที่ต้องการวิเคราะห์อยู่ทั่วแผ่นปริซึม อ่านสเกลผ่านทาง Eyepiece แล้วบันทึกค่าที่อ่านได้ โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณองค์ประกอบสารแคโรทีนอยด์

3.3.6.1 การสกัดสารไลโคปีน

ชั่งตัวอย่างเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 0.1 กรัม มาบดในโกรง โดยเติมสารตัวทำละลาย n-Hexane 95% : Ethanol : Acetone (1.5 มิลลิลิตร : 0.75 มิลลิลิตร : 0.75 มิลลิลิตร) แล้วนำตัวอย่างที่บดแล้วใส่ในหลอดเซนตริฟิวส์ (Centrifuge tube) จากนั้นเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดสารสกัดตัวอย่างบริเวณชั้นบนมา 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย n-Hexane 95%

5 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำมาคำนวณเพื่อหาปริมาณสารไลโคปีน

3.3.6.2 การสกัดสารเบต้าแคโรทีน

ทำซาฟอนิฟิเคชัน (Saponification) (ของเบต้าแคโรทีนที่เป็นเนื้อเดียวกัน 3.0-5.0 กรัม ลงในขวดกันกลมน้ำตาล แล้วทำการเติมสารละลายกรดแอสคอร์บิก 10% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเอธานอลโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 2M ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติมเฮกเซน 70 มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างไปเขย่าเพื่อให้เข้ากันนาน 2 นาที ตัวอย่างจะเกิดการแยกเป็น 2 ชั้น แล้วนำสารที่อยู่ชั้นบนใส่ในกรวยแยกแล้วสีน้ำตาลที่มีสารละลาย KOH 5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) 50 มิลลิลิตร

3.3.6.3 การวิเคราะห์หาสารไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน

สกัดตัวอย่างสองครั้งด้วยเฮกเซน 35 มิลลิลิตร ทำการล้างสารสกัดเฮกเซนที่รวมกันด้วย 100 มิลลิลิตร โซเดียมคลอไรด์ 10% (w/v) และน้ำ 100 มิลลิลิตร ติดต่อกันจนไม่มีต่าง ทำการระเหยในเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศในอ่างน้ำ (วอเตอร์บาร์ท) ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C ละลายส่วนที่เหลือในคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร และเมทานอล 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการสอบเทียบกราฟโดยการทำให้เบต้าแคโรทีนมาตรฐาน (C9750, Sigma, USA). การวิเคราะห์เบต้าแคโรทีนโดยใช้ปั๊ม Shimadzu LC-20AD ที่เชื่อมต่อกับเครื่องตรวจจับ Jasco UV-975 ส่วนการแยกเบต้าแคโรทีนในแต่ละตัวอย่างโดยใช้คอลัมน์ C18 (Vydac 201TP, C18 4.6 x 250 มิลลิเมตร คอลัมน์ 5 ไมครอน Grace division, USA) กับ guard column (Vydac 201TP, cartridge C18 4.6 x 12.5 มิลลิเมตร, 5 ไมครอน, Grace division, USA) ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที และตรวจสอบที่ 450 นาโนเมตร ส่วนเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยเมทานอล: tetrahydrofuran: acetonitrile ในอัตราส่วน 6:14:80 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเบต้าแคโรทีนในตัวอย่าง 2 ซ้ำและแสดงเป็นไมโครกรัม/100 กรัมของน้ำหนักสด (g/100g)

3.3.7 วิธีวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ด้วย HPLC

- 1) นำสารสกัดแคโรทีนอยด์จากตัวอย่างที่ถูกทำให้แห้งแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาละลายกลับด้วยเมทานอลปริมาตร 1 มิลลิลิตร
- 2) กรองสารละลายแคโรทีนอยด์ผ่านกระดาษกรอง (Nylon filter membrane) ขนาด 0.45 ไมครอนเมตร ใช้หลอดฉีดยาขนาด 2 มิลลิลิตร กรองใส่ลงไปในขวดเก็บตัวอย่างสีชาขนาด 2 มิลลิลิตร
- 3) ดูดสารละลายแคโรทีนอยด์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาใส่ขวดเพื่อฉีดตัวอย่างสำหรับเครื่อง HPLC
- 4) นำขวดสีชาไปวางเรียงกันใน sample rack เขียนลำดับที่ของตัวอย่างให้ชัดเจน
- 5) ตั้งพารามิเตอร์ของเครื่อง HPLC ต่างๆ เช่น time program ตามสภาวะที่แสดง

ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์แคโรทีนอยด์ด้วย HPLC

Retention time	Acetonitrile (line A)	Dichloromethane (line B)	Methanol (line C)
0	100	0	0
5	60	20	20
10	60	20	20
15	0	60	40
20	0	60	40
25	100	0	0
30	100	0	0

3.3.8 วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP

3.3.8.1 วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจากวิธีการของ Zhang และคณะ (2016)

ปีเปตสาร 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical ที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายเมทานอล 100 มิลลิลิตร สารละลายเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มสารผสมที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ตัวอย่างควบคุม คือ DPPH 180 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร โดยใช้ Microplate reader spectrophotometer ค่าที่ได้จะถูกแสดงในหน่วยของมิลลิกรัม Trolox equivalent antioxidant capacity ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg TEAC/mL) โดยทำการทดลองละ 3 ซ้ำ

3.3.8.2 วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ดัดแปลงจากวิธีการของ Xu และคณะ (2009) เตรียมสารละลาย FRAP (Ferric reducing antioxidant power) reagent โดยผสม acetate buffer (pH 3.6) 300 มิลลิโมลาร์ กับสารละลาย 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และ Ferric chloride solution 20 มิลลิโมลาร์ ให้เข้ากัน เก็บโดยปราศจากแสง และเตรียมสารละลายเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 20 ไมโครลิตร ผสมกับ FRAP reagent 180 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Ferrous sulfate คำนวณหาปริมาณ Relative antioxidant activity (mg FeSO₄/mL) โดยทำการทดลองละ 3 ซ้ำ

3.3.9 การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ดำเนินการตามรายงานก่อนหน้านี้ของ Tian et al. (2016) โดยมีการดัดแปลงเล็กน้อยโดยปีเปตตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 60 ไมโครลิตร ลงในเพลต 96 หลุม เติมสารละลายโซเดียมไนเตรต (NaNO_3) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายและอลูมิเนียมคลอไรด์ ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 5 นาที จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรโดยใช้เครื่องอ่านไมโครเพลท คำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานรูติน (rutin) และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมรูตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg RE/mL) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.3.10 การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

ดำเนินการตามรายงานก่อนหน้านี้ของ Radošević et al. (2017); Thomas et al. (2018b) โดยมีการดัดแปลงเล็กน้อย ปีเปตตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ลงในเพลต 96 หลุม ผสมกับสารละลายฟอลิน-ไซโอแคลทู (Folin Ciocalteu) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาทีในที่มืด หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรโดยใช้เครื่องอ่านไมโครเพลท คำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic acid) และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAE/mL) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.3.11 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักขาวหมักด้วยเครื่อง Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GC/MS)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักขาวหมักด้วยเครื่องเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas Chromatograph Mass Spectrometer ;GCMS, QP2 0 1 0 / Shimadzu/Japan) ตามวิธีของ Monajemi, R et al. (2005) โดยใช้คอลัมน์ Agilent HP-5MS (5 เปอร์เซ็นต์ Phenylmethylsiloxane, 30 เมตร $\times$ 0.25 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร) ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นตัวนำพาอุณหภูมิตั้งที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเพิ่มเป็น 150 องศาเซลเซียส และ 250 องศาเซลเซียสที่อัตรา 4 องศาเซลเซียสต่อนาที รวม

เวลาปฏิบัติ 60 นาทีต่อตัวอย่าง ปริมาตรของการฉีด 1 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง อัตราการไหล 2 มิลลิลิตรต่อนาที ความเร็วเฉลี่ย 36 เซนติเมตรต่อวินาที ความดันที่ 7.56 กิโลพาสคา (Kpa) ทำการวิเคราะห์หาชนิดของไอโซไรโอไซยานเท โดยการเปรียบเทียบกับอ้างอิงฐานข้อมูลจากเครื่อง (Fragment Ion Fingerprint) ในแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปคสเปคโตรมิเตอร์

3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) ซึ่งในแต่ละขั้นตอนการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วทำการวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 15.0 for Windows



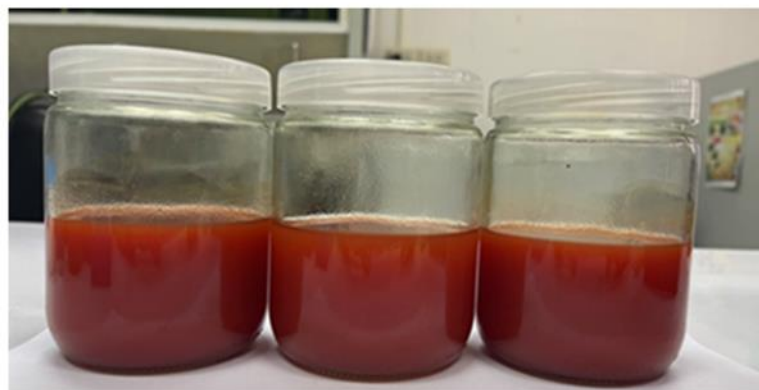
บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

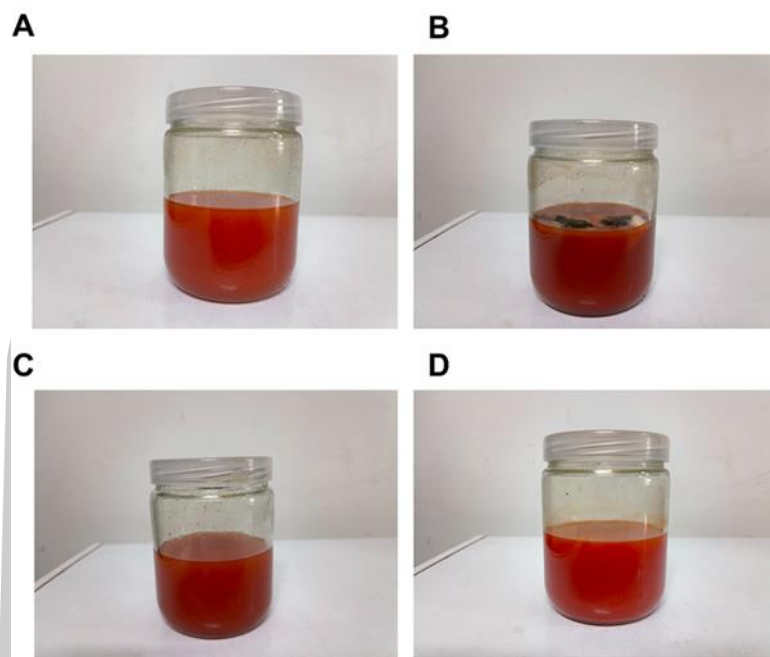
4.1 คุณลักษณะทางกายภาพของน้ำเหื่อฟักข้าวหมัก

4.1.1 การศึกษาลักษณะของน้ำเหื่อฟักข้าวหมัก

การศึกษาน้ำเหื่อฟักข้าวหมักโดยใช้เชื้อ DT5001, เชื้อรา *Aspergillus niger* และย่อยด้วยเอนไซม์เพคติเนส และเอนไซม์เซลลูเลส พบว่า ลักษณะของน้ำหมักเหื่อฟักข้าวแต่ละชุด การทดลองมีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 7) ซึ่งจะเห็นว่าลักษณะของน้ำหมักเหื่อฟักข้าวที่ผสมเชื้อ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะเป็นก้อนนมมีกลิ่นเปรี้ยว และเหื่อฟักข้าวไม่ถูกย่อย เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อรา *Aspergillus niger* 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีลักษณะเป็นเส้นใยของรา และเกิดการย่อยเหื่อฟักข้าวเล็กน้อย ส่วนชุดการทดลองที่มีการเติมเอนไซม์เพคติเนส และเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ ลงไปในน้ำหมักเหื่อฟักข้าวจะมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน เกิดการย่อยที่สมบูรณ์เกิดขึ้นของเหื่อฟักข้าว แต่อาจจะมีเพียงบางส่วนของเหื่อฟักข้าวที่ไม่สามารถย่อยได้ (ภาพที่ 5) ดังนั้นจะเห็นว่าการเติมเอนไซม์ลงไปในน้ำหมักเหื่อฟักข้าวสามารถย่อยเหื่อฟักข้าวได้ดีกว่าเชื้อราและการเติมเชื้อลงไป



ภาพที่ 4 ลักษณะของน้ำเหื่อฟักข้าว ชุดควบคุม



ภาพที่ 5 ลักษณะของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก เยื่อฟักข้าวที่ผสมคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ (A), เยื่อฟักข้าวที่ผสมเชื้อรา *Aspergillus niger* 2 เปอร์เซ็นต์ (B), เยื่อฟักข้าวที่ผสมเอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์ (C) และเยื่อฟักข้าวที่ผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ (D)

4.1.2 การศึกษาการวัดค่าสีของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก

ผลการทดลอง พบว่า ค่าสีที่ปรากฏในแต่ละตัวอย่างอยู่ในโทนสีสว่าง ซึ่งค่าสีที่พบคือสีส้ม โดยค่าสี (L^* a^* และ b^*) ใช้ในการประเมินลักษณะปรากฏของตัวอย่างที่ทำการทดลอง L^* ที่เข้าใกล้ 100 หมายถึง ตัวอย่างมีความสว่างมากจนเป็นสีขาวหรือสีจาง แต่ถ้าค่า L^* เข้าใกล้ 0 หมายถึง ตัวอย่างมีความสว่างน้อยลงจนเป็นสีคล้ำ ค่า a^* ที่เป็นบวก แสดงว่าตัวอย่างเป็นสีแดง แต่ค่า a^* ที่เป็นลบ แสดงว่าตัวอย่างเป็นสีเขียว และในค่า b^* ที่เป็นบวกแสดงว่าตัวอย่างเป็นสีเหลือง แต่ถ้าค่า b^* เป็นลบแสดงว่าตัวอย่างเป็นสีน้ำเงิน ดังนั้นตัวอย่างเยื่อฟักข้าวมีค่า L^* อยู่ระหว่าง 6.91-51.53 ค่า a^* อยู่ระหว่าง 27.72-34.11 และค่า b^* อยู่ระหว่าง 11.86-51.83 (แสดงดังตารางที่ 7)

งานวิจัยก่อนหน้านี้ของ หยาตฝน ทะนงการกิจ และ พูนพัฒน์ พูนน้อย (2014) พบว่า ค่าสีที่พบคือสีส้ม เยื่อฟักข้าวมีค่า L^* อยู่ระหว่าง 44.03 ± 2.55 ค่า a^* อยู่ระหว่าง 19.88 ± 3 และค่า b^* อยู่ระหว่าง 25.18 ± 3.12

ตารางที่ 8 ค่าของสีเยื่อฟักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	สีที่ปรากฏ	ค่าสี		
		L*	a*	b*
น้ำเยื่อฟักข้าว	สีส้ม	44.32±3.01 ^a	33.08±2.24 ^a	51.83±2.83 ^a
น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	สีส้มอมขาว	26.17±3.79 ^b	34.11±3.09 ^a	40.81±2.14 ^b
น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์	สีส้มอมเขียว	51.47±4.50 ^a	28.37±1.16 ^b	43.19±0.97 ^b
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินเอส 2 เปอร์เซ็นต์	สีส้ม	48.39±1.59 ^a	27.72±7.21 ^b	45.59±6.89 ^{ab}
น้ำฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	สีส้ม	51.53±7.33 ^a	32.77±7.33 ^a	40.83±7.69 ^b

อักษร a, b, c... ที่แตกต่างกันหมายถึงในข้อมูลแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2 คุณลักษณะทางเคมีของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก

4.2.1 ปริมาณของแข็งละลายทั้งหมด (องศาบริกซ์) (Total dissolved solid; TDS)

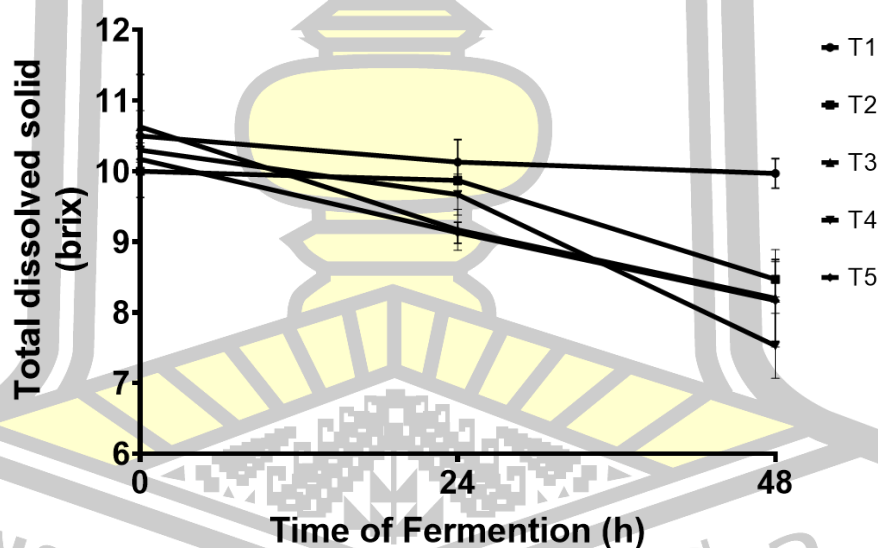
ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดในระหว่างกระบวนการหมัก 48 ชั่วโมง ของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักทั้ง 4 ชุดการทดลอง แสดงดังตารางที่ 8 และภาพที่ 7 พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายที่ชั่วโมงที่ 0 ค่าการละลายของแข็งที่ละลายทั้งหมดอยู่ที่ 10-10.63 องศาบริกซ์ และเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นจะเห็นว่าค่าการละลายของแข็งที่ละลายทั้งหมดจะค่อยๆ ลดลงอย่างต่อเนื่อง และในชั่วโมงที่ 48 จะเห็นว่าการละลายของแข็งที่ละลายทั้งหมดต่ำที่สุด เท่ากับ 7.53 องศาบริกซ์

พจน ปลูกพืช ชีว

ตารางที่ 9 ปริมาณของแข็งละลายทั้งหมด (องศาบริกซ์) (Total dissolved solid; TDS) ของน้ำเยื่อ
ฟักข้าวหมัก ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)		
	0	24	48
น้ำเยื่อฟักข้าว	10.50±0.87 ^a	10.13±0.32 ^a	9.97±0.21 ^b
น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	10.00±0.00 ^a	9.87±0.06 ^b	8.47±0.25 ^c
น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์	10.63±0.23 ^a	9.17±0.029 ^b	8.20±0.69 ^d
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์	10.30±0.17 ^a	9.67±0.29 ^b	7.53±0.46 ^e
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	10.17±0.015 ^a	9.13±0.15 ^b	8.17±0.58 ^d

อักษร a, b, c... ที่แตกต่างกันหมายถึงในข้อมูลคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 6 ปริมาณของแข็งละลายทั้งหมดของเยื่อฟักข้าวในระหว่างการหมัก 48 ชั่วโมง (T1; น้ำเยื่อฟักข้าว, T2; น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์, T3; น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา *Aspergillus niger* 2 เปอร์เซ็นต์, T4; เยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์ และ T5; น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์)

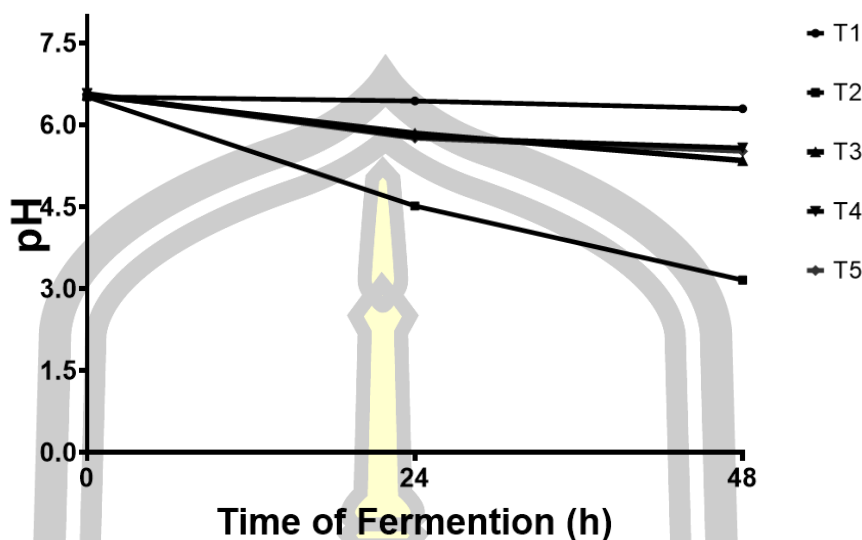
4.2.2 ค่ากรด-เบส (pH)

จากผลการทดลอง พบว่า ค่าพีเอชเริ่มต้นของกระบวนการหมักอยู่ระหว่าง 6.52-6.58 หลังจากกระบวนการหมักเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จะเห็นว่าค่าพีเอชลดลงเรื่อยๆ ตามระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก และพบว่า ทรีดเมนต์ที่ใช้น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าพีเอชน้อยที่สุดเท่ากับ 3.16 แสดงดังตารางที่ 9 และภาพที่ 8 ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์คีเฟอร์ ส่งผลให้ค่าพีเอชของชุดการทดลองนี้ลดลง ดังนั้นการหมักจะทำให้เกิดกรดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักส่งผลให้ค่าพีเอชลดลงเรื่อยๆ การลดลงของค่าพีเอชเกิดจากกระบวนการหมักของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกแบบ Homofermentative LAB ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการหมักแบบ Homofermentative จะทำให้เกิดกรดแลคติกและค่าพีเอชก็จะลดลงอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Kyung et al. (2004) ศึกษาความเหมาะสมของน้ำมะเขือเทศเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมะเขือเทศเสริมโปรไบโอติก โดยใช้แบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. plantarum* C3, *L. acidophilus* LA3, *L. delbrueckii* D7 และ *L. casei* A4 พบว่า การเจริญของเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้น น้ำหมักมีค่าพีเอชเป็นกรดทั้งหมด โดยที่ค่าพีเอชลดลงที่ 4.1 และปริมาณความเป็นกรดเท่ากับ 0.65 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 10 ค่ากรด-เบสของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)		
	0	24	48
น้ำเยื่อฟักข้าว	6.52±0.02 ^a	6.44±0.06 ^a	6.30±0.21 ^a
น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2เปอร์เซ็นต์	6.52±0.02 ^a	4.52±0.02 ^d	3.16±0.04 ^e
น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2เปอร์เซ็นต์	6.55±0.04 ^a	5.85±0.04 ^b	5.35±0.08 ^c
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินาส 2เปอร์เซ็นต์	6.58±0.01 ^a	5.78±0.04 ^b	5.58±0.01 ^b
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2เปอร์เซ็นต์	6.56±0.02 ^a	5.76±0.03 ^b	5.52±0.06 ^b

อักษร a, b, c... ที่แตกต่างกันหมายถึงในข้อมูลคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 7 ค่าพีเอชของเยื่อฟักข้าวในระหว่างการหมัก 48 ชั่วโมง (T1; น้ำเยื่อฟักข้าว, T2; น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์, T3; น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา *Aspergillus niger* 2 เปอร์เซ็นต์, T4; น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์ และ T5; น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์)

4.3 สารต้านอนุมูลอิสระของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก

กระบวนการหมักเยื่อฟักข้าวที่หมักโดยมีการใช้จุลินทรีย์ เชื้อรา และเอนไซม์ที่เข้ามาช่วยย่อยเยื่อฟักข้าวที่แตกต่างกันได้แก่ คีเฟอร์ DT5001, เชื้อรา *Aspergillus niger*, เอนไซม์เพคตินเนส และเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งนำมาทดสอบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP ผลการทดลอง พบว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP จะเห็นว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของการยับยั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8 และ 9) และเมื่อเปรียบเทียบการใช้จุลินทรีย์ เชื้อรา และเอนไซม์ที่เข้ามาช่วยย่อยเยื่อฟักข้าวที่แตกต่างกันได้แก่ คีเฟอร์ DT5001, เชื้อรา *Aspergillus niger*, เอนไซม์เพคตินเนส และเอนไซม์เซลลูเลส ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่า น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับเอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง ส่งผลให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงที่สุด เท่ากับ 1.80 ± 0.02 ไมโครกรัมไทโรลิกซ์ต่อมิลลิกรัม และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่า น้ำเยื่อฟักข้าวหมักด้วยเยื่อฟักข้าวเอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเยื่อฟักข้าวหมักด้วยเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง ส่งผลต่อการยับยั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 152.06 ± 0.66 , 150.45 ± 0.85 ไมโครกรัม Fe(II) ต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ

การศึกษาก่อนหน้านี้ของ ศรีธัญญา สังขสิทธิ์ และ พิสุทธิ หนักแน่น (2559) พบว่า การเตรียมน้ำฟักข้าวผสมที่มีความเข้มข้น 50, 60 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความเข้มข้นไม่มีผลต่อคะแนนการยอมรับน้ำฟักข้าวผสม ($p>0.05$) และน้ำฟักข้าวที่มีความเข้มข้นสองระดับโดยจะแปรผันตามความเข้มข้นของน้ำฟักข้าว ได้แก่ 3 และ 8 องศาบริกซ์ พบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากน้ำฟักข้าวที่มีความเข้มข้น 3 องศาบริกซ์ ให้ค่าสูงที่สุดคือ 0.23 มิลลิกรัม AAC ต่อมิลลิลิตร

4.4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolics content, TPC) จากน้ำเยื่อฟักข้าวหมักทั้ง 5 ทรีตเมนต์ ผลการทดลอง พบว่า ระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoids content, TFC) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญแสดงดังตารางที่ 10 และ 11 ในขณะที่น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 273.32 ± 1.05 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และพบว่า น้ำฟักข้าวผสมกับเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับเอนไซม์เพคตินาส 2 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สูงที่สุดเท่ากับ 916.10 ± 2.00 , 913.43 ± 3.21 ไมโครกรัมรูทีนต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ซึ่งจากการศึกษาของ Marnpae et al. (2022) พบว่าเมื่อมีการหมักน้ำฟักข้าวส่งผลทำให้พบปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น โดยมีค่าสูงสุดเท่ากับ 32.43 ± 0.81 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตร



ตารางที่ 11 ผลของน้ำเชื้อฟักข้าวหมักต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน

ตัวอย่าง	DPPH ($\mu\text{g TE/mL}$)		
	0 h	24 h	48 h
น้ำเชื้อฟักข้าว	0.85 ± 0.02^d	0.85 ± 0.02^c	0.85 ± 0.02^d
น้ำเชื้อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	1.21 ± 0.04^c	1.28 ± 0.02^b	1.35 ± 0.02^c
น้ำเชื้อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์	1.47 ± 0.05^b	1.63 ± 0.02^a	1.76 ± 0.01^b
น้ำเชื้อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินเอส 2 เปอร์เซ็นต์	1.52 ± 0.02^{ab}	1.60 ± 0.01^a	1.80 ± 0.02^a
น้ำเชื้อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	1.58 ± 0.07^a	1.61 ± 0.03^a	1.72 ± 0.02^b

อักษร a, b, c... ที่แตกต่างกันหมายถึงในข้อมูลแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 12 ผลของน้ำเชื้อฟักข้าวที่มีต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน

ตัวอย่าง	FRAP ($\mu\text{g Fe (II)}/\text{mL}$)		
	0 h	24 h	48 h
น้ำเชื้อฟักข้าว	59.51 $\pm$ 1.27 ^c	59.51 $\pm$ 1.27 ^c	59.51 $\pm$ 1.27 ^d
น้ำเชื้อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	84.25 $\pm$ 0.78 ^b	91.67 $\pm$ 0.83 ^b	104.76 $\pm$ 1.08 ^c
น้ำเชื้อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์	83.24 $\pm$ 0.51 ^b	91.63 $\pm$ 0.95 ^b	108.92 $\pm$ 0.78 ^b
น้ำเชื้อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินเอส 2 เปอร์เซ็นต์	96.80 $\pm$ 1.52 ^a	106.22 $\pm$ 0.69 ^a	152.06 $\pm$ 0.66 ^a
น้ำเชื้อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	97.27 $\pm$ 0.48 ^a	107.82 $\pm$ 0.93 ^a	150.45 $\pm$ 0.85 ^a

อักษร a, b, c... ที่แตกต่างกันหมายถึงในข้อมูลแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 13 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน

ตัวอย่าง	TPC ($\mu\text{g GAE/ mL}$)		
	0 h	24 h	48 h
น้ำเยื่อฟักข้าว	128.08 $\pm$ 1.76 ^b	128.08 $\pm$ 1.76 ^c	128.08 $\pm$ 1.76 ^e
น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	123.38 $\pm$ 1.39 ^c	266.95 $\pm$ 1.70 ^a	273.32 $\pm$ 1.05 ^a
น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์	132.90 $\pm$ 1.83 ^a	264.39 $\pm$ 1.43 ^a	267.30 $\pm$ 1.53 ^b
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินาส 2 เปอร์เซ็นต์	132.30 $\pm$ 1.70 ^a	250.64 $\pm$ 2.22 ^b	258.20 $\pm$ 1.99 ^c
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	131.23 $\pm$ 2.36 ^{ab}	249.68 $\pm$ 1.93 ^b	255.88 $\pm$ 1.42 ^c

อักษร a, b, c... ที่แตกต่างกันหมายถึงในข้อมูลแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 14 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ที่ระยะเวลาการหมักแตกต่างกัน

ตัวอย่าง	TFC ($\mu\text{g RE/ mL}$)		
	0 h	24 h	48 h
น้ำเยื่อฟักข้าว	607.77 $\pm$ 1.15 ^a	607.77 $\pm$ 1.15 ^e	607.77 $\pm$ 1.15 ^d
น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	592.77 $\pm$ 1.53 ^b	701.77 $\pm$ 1.53 ^c	733.10 $\pm$ 2.65 ^c
น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์	584.77 $\pm$ 2.08 ^c	683.43 $\pm$ 3.51 ^d	742.10 $\pm$ 2.65 ^b
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินเอส 2 เปอร์เซ็นต์	569.43 $\pm$ 3.21 ^d	813.43 $\pm$ 3.06 ^a	913.43 $\pm$ 3.21 ^a
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	595.43 $\pm$ 2.52 ^b	795.10 $\pm$ 3.61 ^b	916.10 $\pm$ 2.00 ^a

อักษร a, b, c... ที่แตกต่างกันหมายถึงในข้อมูลแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

.5 ปริมาณสารไลโคปีนในน้ำเยื่อฟักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

การศึกษาปริมาณสารไลโคปีนในน้ำเยื่อฟักข้าวหมักทั้ง 5 ทรีตเมนต์ ผลการทดลอง พบว่า ปริมาณสารไลโคปีนในน้ำเยื่อฟักข้าวผสมคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารไลโคปีนสูงที่สุด คือ 8.49 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของตัวอย่างน้ำหมัก (ตารางที่ 13) รองลงมาคือ น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับเชื้อรา *Aspergillus niger* 2 เปอร์เซ็นต์, เยื่อฟักข้าวผสมกับเอนไซม์เพคตินาส 2 เปอร์เซ็นต์, น้ำเยื่อฟักข้าว และน้ำฟักข้าวผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเท่ากับ 8.34, 8.25, 7.34 และ 6.91 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของตัวอย่างน้ำหมัก ตามลำดับ

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ ศรีณญา สังขสัญญา (2561) ในการสกัดแคโรทีนอยด์จากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว พบว่า การใช้เอนไซม์ร้อยละ 2 ให้ปริมาณไลโคปีนสูงสุด (3.85 มิลลิกรัม/100 กรัม) ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มร้อยละในการสกัดแคโรทีนอยด์จากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวได้

ตารางที่ 15 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อปริมาณสารไลโคปีน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารไลโคปีน (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร)
น้ำเยื่อฟักข้าว	7.34
น้ำเยื่อฟักข้าวผสมคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	8.49
น้ำเยื่อฟักข้าวผสมเชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์	8.34
น้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เพคตินาส 2 เปอร์เซ็นต์	8.25
น้ำฟักข้าวผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	6.91

จากผลการวิเคราะห์หาสารไลโคปีนข้างต้นพบมีสารไลโคปีนสูงสุดในสภาวะที่ผสมน้ำเยื่อฟักข้าวกับคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณสารไลโคปีน 8.49 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร อาจจะเพราะเนื่องจากคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจึงสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการหมักได้ดียิ่งขึ้นและส่งผลทำให้มีปริมาณสารไลโคปีนสูง

ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Aoki et al. (2002) ในการวิเคราะห์หาสารไลโคปีนจากเยื่อฟักข้าว 10 กรัมด้วยเครื่อง HPLC พบว่า มีความเข้มข้นของไลโคปีนสูงกว่าที่วิเคราะห์หาสารไลโคปีนจากเนื้อผลไม้ 56 กรัมถึง 7 เท่า

4.6 ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในน้ำเยื่อฟักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง

การศึกษาปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในน้ำเยื่อฟักข้าวหมักทั้ง 5 ทรีตเมนต์ ผลการทดลองพบว่า ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในน้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารเบต้าแคโรทีนสูงที่สุด คือ 149.67 ± 3.03 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของตัวอย่างน้ำหมัก (ตารางที่ 12) รองลงมาคือ น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับเชื้อรา *Aspergillus niger* 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับเอนไซม์เพคตินาส 2 เปอร์เซ็นต์, น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเยื่อฟักข้าว มีค่าเท่ากับ 57.09 ± 0.64 , 55.32 ± 1.01 , 27.24 ± 0.78 และ 2.97 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของตัวอย่างน้ำหมัก ตามลำดับ

การศึกษาก่อนหน้านี้ของ ศรีธัญญา สังขสิทธิ์ (2561) พบว่า การใช้เอนไซม์เซลลูเลสในกระบวนการสกัดสามารถช่วยเพิ่มปริมาณไลโคปีน โดยตัวอย่างที่มีการใช้เอนไซม์ในกระบวนการสกัดมีปริมาณไลโคปีนสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการใช้เอนไซม์ในกระบวนการสกัด (ชุดควบคุม 20.31 มิลลิกรัม/กรัม) อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์เซลลูเลสไม่มีผลต่อการสกัดเบต้าแคโรทีนและลูทีน

ตารางที่ 16 ผลของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักต่อปริมาณสารเบต้าแคโรทีน

ตัวอย่าง	ปริมาณสารเบต้าแคโรทีน (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร)
น้ำเยื่อฟักข้าว	2.97 ± 0.03^d
น้ำเยื่อฟักข้าว + คีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์	27.24 ± 0.78^c
น้ำเยื่อฟักข้าว + เชื้อรา <i>Aspergillus niger</i> 2 เปอร์เซ็นต์	57.09 ± 0.64^b
น้ำเยื่อฟักข้าว + เอนไซม์เพคตินาส 2 เปอร์เซ็นต์	55.32 ± 1.01^b
น้ำฟักข้าว + เอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์	149.67 ± 3.03^a

อักษร a, b, c... ที่แตกต่างกันหมายถึงในข้อมูลคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ซึ่งจากการศึกษาปริมาณสารเบต้าแคโรทีนของหยาดฝน ทนงการกิจ และคณะ, 2559 ที่มี การใช้เอนไซม์เพคตินเนสในการหาปริมาณสารเบต้าแคโรทีน พบมีปริมาณ 21.03 ± 2.03 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์สามารถช่วยย่อยผนังเซลล์จึงทำให้มีปริมาณสารเบต้าแคโรทีนเพิ่มสูงขึ้น

4.7 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง ด้วยเครื่อง GC/MS

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวหมักทั้ง 5 ทริตเมนต์ ผลการทดลอง พบว่า องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวพบสารประกอบอินทรีย์ที่ถูกตรวจพบด้วยเครื่อง GC/MS มี 3 ชนิด ได้แก่ (2-Aziridinylethyl) amine, Acetic acid ethenyl ester และ Acetic acid ซึ่ง สารอินทรีย์ที่พบสูงที่สุดคือ (2-Aziridinylethyl) amine เท่ากับ 73.70 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 14)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวผสมคิเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารประกอบอินทรีย์ที่ถูกตรวจพบด้วยเครื่อง GC/MS มี 3 ชนิด ได้แก่ Carbamic acid, Acetic acid ethenyl ester และ Acetic acid ซึ่งสารอินทรีย์ที่พบสูงที่สุดคือ Acetic acid เท่ากับ 72.76 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 15)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวผสมเชื้อรา *Aspergillus niger* 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารประกอบอินทรีย์ที่ถูกตรวจพบด้วยเครื่อง GC/MS มี 2 ชนิด ได้แก่ Carbamic acid และ Carbon dioxide ซึ่งสารอินทรีย์ที่พบสูงที่สุดคือ Carbon dioxide เท่ากับ 87.40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวผสมเอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารประกอบอินทรีย์ที่ถูกตรวจพบด้วยเครื่อง GC/MS มี 4 ชนิด ได้แก่ Carbamic acid, Propanedioic acid, Acetic acid และ Sorbitol ซึ่งสารอินทรีย์ที่พบสูงที่สุดคือ Propanedioic acid เท่ากับ 36.82 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17)

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สารประกอบอินทรีย์ที่ถูกตรวจพบด้วยเครื่อง GC/MS มี 4 ชนิด ได้แก่ Carbamic acid, Acetic acid, 2-Heptanol, 6-methyl- และ Sorbitol ซึ่งสารอินทรีย์ที่พบสูงที่สุดคือ Carbamic acid เท่ากับ 29.79 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 18)

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อผักข้าวหมักทั้ง 5 ทริตเมนต์ จะเห็นว่าน้ำเยื่อ ผักข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการหมักจะพบสารที่แตกต่างกับน้ำเยื่อผักข้าวที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยคิเฟอร์ เอนไซม์ต่างๆ ที่มีการเติมลงไปเพื่อย่อยเยื่อผักข้าว จะเห็นว่าสารอินทรีย์ที่พบสูงที่สุดในน้ำเยื่อผักข้าว

คือ (2-Aziridinylethyl) amine เท่ากับ 73.70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการเปลี่ยนเป็นสารอินทรีย์กลุ่ม Carbamic acid โดยที่สารอินทรีย์ในกลุ่ม amine เมื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์บางตัวจะเปลี่ยนเป็นสารอินทรีย์ในกลุ่ม Carbamic acid ซึ่งจะเห็นว่า เมื่อมีการเติมเอนไซม์ลงไป กระบวนการหมัก เอนไซม์เหล่านั้นจะทำปฏิกิริยากับสารประกอบอินทรีย์เอไมด์ และเกิดการสังเคราะห์สารอินทรีย์กลุ่ม Carbamic acid เกิดขึ้น

ตารางที่ 17 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเชื้อฟักข้าว

Peak No.	RT (min)	Area % of total	Constituents*
1	1.476	73.70	(2-Aziridinylethyl) amine
2	1.924	0.99	Acetic acid ethenyl ester
3	2.117	25.31	Acetic acid
Total		100.00	

ตารางที่ 18 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเชื้อฟักข้าวผสมคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์

Peak No.	RT (min)	Area % of total	Constituents*
1	1.468	25.92	Carbamic acid, monoammonium salt
2	1.584	1.32	Acetic acid ethenyl ester
3	2.075	72.76	Acetic acid
Total		100.00	

ตารางที่ 19 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเชื้อฟักข้าวผสมเชื้อรา Aspergillus niger 2 เปอร์เซ็นต์

Peak No.	RT (min)	Area % of total	Constituents*
1	1.329	12.60	Carbamic acid, monoammonium salt
2	1.458	87.40	Carbon dioxide
Total		100.00	

ตารางที่ 20 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์

Peak No.	RT (min)	Area % of total	Constituents*
1	1.329	7.37	Carbamic acid, monoammonium salt
2	1.447	36.82	Propanedioic acid, dihydroxy-
3	2.069	33.44	Acetic acid
4	45.836	22.38	Sorbitol
Total		100.01	

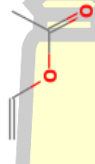
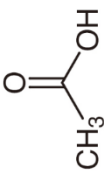
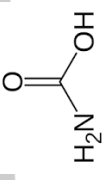
ตารางที่ 21 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์

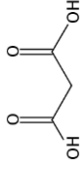
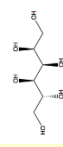
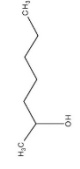
Peak No.	RT (min)	Area % of total	Constituents*
1	1.456	29.79	Carbamic acid, monoammonium salt
2	2.075	28.61	Acetic acid
3	8.235	23.83	2-Heptanol, 6-methyl-
4	46.025	17.77	Sorbitol
Total		100.00	

ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีตามตารางที่ 17-21 ข้างต้น พบว่ามีรายละเอียดของสารประกอบประเภทต่างๆ มีจุดเดือด น้ำหนักโมเลกุล สูตรโมเลกุล โครงสร้าง Retention time และการนำไปใช้ประโยชน์ตามตารางที่ 22 ดังนี้



ตารางที่ 22 องค์ประกอบทางเคมีการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GCMS

Number	Compound name	boiling point	Molecular Weight	Molecular Formula	Structure	Retention time/min	Area %	Benefit	Reference
1	(2-Azirdinylethyl) amine	146 ^o C	86	C ₄ H ₁₀ N ₂		1.476	73.70	-	NIST Chemistry WebBook SRD 96
2	Acetic acid ethenyl ester	77 ^o C	86.0892	C ₄ H ₆ O ₂		1.924	0.99	ใช้อุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น เมสซิกรรม สี ทินเนอร์ แล็กเกอร์ หมึกพิมพ์ กาว พลาสติก และเครื่องหนัง	NIST Chemistry WebBook SRD 96
3	Acetic acid	118 ^o C	60.05	C ₂ H ₄ O ₂		2.117	25.31	ใช้เพื่อปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหาร หรือ เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive)	NIST Chemistry WebBook SRD 96
4	Carbamic acid	สลายตัวต่ำกว่าจุดเดือด	61.040	NH ₂ COOH		1.329	7.37	กำจัดศัตรูพืช	NIST Chemistry WebBook SRD 96

5	Carbon dioxide	-78.46°C	44.009	CO ₂		1.458	87.40	-	NIST Chemistry WebBook SRD 96
6	Propanedioic acid, dihydroxy ,Malonic acid	220°C	104.0615	C ₃ H ₄ O ₄		1.447	36.82	ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive)	NIST Chemistry WebBook SRD 96
7	Sorbitol	-	182.17	C ₆ H ₁₄ O ₆		45.836	22.38	ใช้แทนสารให้ความหวานใน อาหาร	NIST Chemistry WebBook SRD 96
8	2-Heptanol, 6- methyl-,1-Heptanol	175°C	116.201	C ₇ H ₁₆ O		8.235	23.83	-	NIST Chemistry WebBook SRD 96

และจากการเปรียบเทียบปริมาณของสารแต่ละชนิดที่สกัดได้จากพืชด้วยวิธีการสกัดต่างๆสามารถสรุปได้ตามตารางที่ 23 ดังนี้

ตารางที่ 23 การเปรียบเทียบปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากฟักข้าว

ลำดับ	ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์	ปริมาณสารไลโคปีน (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร)	ปริมาณสารเบต้าแคโรทีน (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร)	วิธีการสกัด	อ้างอิง
1	เนื้อเยื่อฟักข้าวสุก	8.49	149.67±3.03	ใช้ซีเฟอร์ เชื้อรา และเอนไซม์	(เกษรา มงกุลโคตร, 2565) งานวิจัยนี้
2	เนื้อเยื่อฟักข้าวสุก	50.11 ± 1.59	39.16 ± 1.29	ปั่นและโซลกลโดยใช้ไนโตรเจนเหลว (สารเคมี)	(Bhumsaidon and Chamchong, 2016)
3	เนื้อเยื่อฟักข้าวสุก	11.64	2.78	บดโดยใช้ n-hexaen 95% : ethanol : acetone (1.5 มิลลิลิตร : 0.75 มิลลิลิตร : 0.75 มิลลิลิตร) (สารเคมี)	(ปวันรัตน์ วิหังส์ และคณะ, 2557)
4	น้ำฟักข้าว	16.65 ± 1.59	19.24 ± 1.55	ใช้แบคทีเรีย	(Marnpae et al., 2022)
5	เนื้อเยื่อฟักข้าวสุก	26.26±1.70	21.03±2.03	เอนไซม์เพคตินเนส	(หยาดฝน ทนงการกิจ และคณะ, 2559)

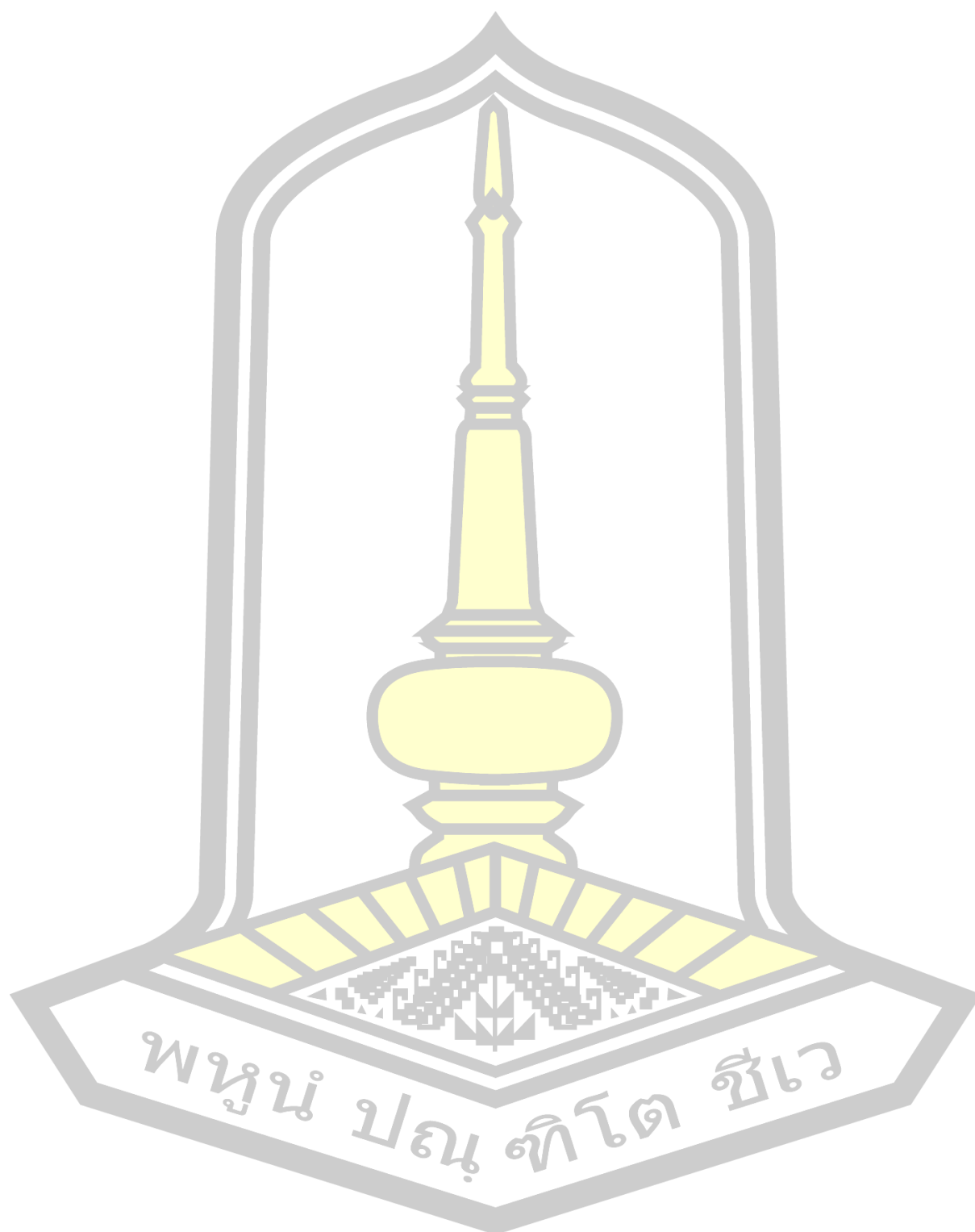
บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาน้ำเยื่อฟักข้าวหมักโดยใช้จุลินทรีย์ ได้แก่ คีเฟอร์ DT5001, เชื้อรา *Aspergillus niger* และการใช้เอนไซม์บริสุทธิ์ช่วยในการหมัก ได้แก่ เอนไซม์เพคตินเนส และเอนไซม์เซลลูเลส พบว่า ค่าสีที่ปรากฏในแต่ละตัวอย่างอยู่ในโทนสีสว่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดในระหว่างกระบวนการหมัก เมื่อระยะเวลาในการการละลายของแข็งที่ละลายทั้งหมดค่อยๆ ลดลงอย่างต่อเนื่อง ค่าพีเอชของน้ำหมักมีค่าพีเอชลดลง น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับคีเฟอร์ DT5001 ให้ค่าพีเอชน้อยที่สุด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH และFRAP พบว่า น้ำเยื่อฟักข้าวที่ผสมเอนไซม์เพคตินเนส 2 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่ากิจกรรมสูงที่สุด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดพบมากที่สุดใ้้น้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับคีเฟอร์ DT5001 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบปริมาณในน้ำเยื่อฟักข้าวผสมกับเอนไซม์เซลลูเลสและเพคตินเนส ปริมาณสูงสุด พบปริมาณสารไลโคปีนสูงสุดในน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก ด้วยคีเฟอร์ DT5001 2 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณสารเบต้าแคโรทีนสูงสุดในเยื่อฟักข้าวผสมกับเอนไซม์เซลลูเลส 2 เปอร์เซ็นต์ และมีองค์ประกอบทางเคมีที่ระเหยได้ของน้ำเยื่อฟักข้าวหมักที่ระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง ได้แก่ Carbamic acid, Propanedioic acid, 2-Heptanol, Propanedioic acid, (2-Aziridinylethyl) amine, Carbon dioxide, Acetic acid และ Sorbitol

ดังนั้นในอนาคตอาจจะมีการนำสารพฤกษเคมีต่างๆดังกล่าวข้างต้นเช่น สารฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารไลโคปีน สารเบต้าแคโรทีน หรือองค์ประกอบทางเคมีที่ระเหยได้ของน้ำเยื่อฟักข้าวหมัก ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อไปศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมเพิ่มเติมให้สามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องดื่มเพื่อช่วยเพิ่มคุณประโยชน์ต่อสุขภาพและเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นหรือเป็นส่วนผสมที่เป็นสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติในการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ซึ่งจะช่วยพัฒนาเครื่องดื่มและเครื่องสำอางจากพืชท้องถิ่น และเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์ในท้องถิ่นและอาจจะนำไปเพิ่มคุณค่าในทางด้านอื่นๆต่อไปในอนาคต

บรรณานุกรม



เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มเชื่อมโยงเครือข่ายอุตสาหกรรมแปรรูปพืชผัก ผลไม้ และสมุนไพร จังหวัดกาญจนบุรี (2556) *ผักข้าวเครื่องดื่มน้ำมันมะพร้าว*. [Online]. ได้จาก www.บทความผักข้าว.ไทย.กลุ่มเชื่อมโยงเครือข่ายอุตสาหกรรมแปรรูปพืชผัก ผลไม้ และสมุนไพรจังหวัดกาญจนบุรี [สืบค้นเมื่อ 3 มิถุนายน 2564].
- กาญจนา จันทะสิงห์ (2563) *แตงกวา*. [Online]. ได้จาก <https://medthai.com/>. [สืบค้นเมื่อ 10 มกราคม 2566].
- กัญญรัตน์ กัญญาคำ และ จันทนี อริยะพงษ์สรรค์ (2553) การสกัดไลโคปีนจากกากมะเขือเทศโดยใช้ เอนไซม์และสารทำลายอินทรีย์ต่างชนิด. *วิทยาศาสตร์เกษตร*, 41(3/1), 289-292.
- จิราภรณ์ พิมพ์ภูมิ และ คมสร ลมไธสง (2019) การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเยื่อหุ้ม เมล็ดผลสุกผักข้าว (*M. cochinchinensis*) ที่สภาวะการเก็บรักษาแตกต่างกัน. *วารสารวิชาการที่ประชุมสภาข้าราชการ พนักงาน และลูกจ้างมหาวิทยาลัยแห่งประเทศไทย*, 8(3), 10 – 16.
- ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์ (2544) *เครื่องมือวิทยาศาสตร์พิมพ์ครั้งที่ 3*. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น, โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.
- ชัชวาล สิงหะพล (2560) *โครงการ:ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดจากผลผักข้าวและใบชะมวงต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ ROS production, MAPK/ERK pathway และไมโทคอนเดรีย ในเซลล์ neuronal-like neuroblastoma และเซลล์ primary fibroblast ภายใต้สภาวะที่ถูกกดดันด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์*. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต. คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า พระนครเหนือ.
- ญาณิศา ละอองอุทัย (2557) *ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดและผักข้าวสำหรับใช้บนผ้าพิมพ์*. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ธนวรรณ ศรีสกุลติศ (2556) *การศึกษาความเป็นไปได้ในการสกัดสารไลโคปีนจากผักข้าวด้วยตัวทำละลายที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม*. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต. คณะวิศวกรรมศาสตร์ อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ.

- นันทวัน บุญยะประภัศร (2542). *สมุนไพร ไม้พื้นบ้าน*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ, สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- บงกชวรรณ สุตะพาหะ และ บรรยง คั่นธวะ (2554) การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อราจากสารสกัดใบผักขาว. *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่*, 44 (1), 31-37.
- ประสิทธิ์ สุวรรณเลิศ, พิชรี บุญศิริ, เตือนจิต คำพิทักษ์ (2548) ไลโคปีนกับการป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจและมะเร็ง. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด*, 17(3), 33-38.
- ปวันรัตน์ วิหังส์ พิชริน ส่งศรี พล้ง สุริหาร คมศรี ลมไธสง และ กมล เลิศรัตน์ (2557) ปริมาณสารไลโคปีนและเบต้าแคโรทีนในตัวอย่างผักขาวจากสายต้นต่างๆ. *แก่นเกษตร*, 42(1), 166-171.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ (2564) *ผนังเซลล์*. [Online]. ได้จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose-เซลลูโลส>. [สืบค้นเมื่อ 9 ตุลาคม 2564].
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์ [2564] *เพกทีเนส*. [Online]. ได้จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1083/pectinase-เพกทีเนส>. [สืบค้นเมื่อ 15 ตุลาคม 2564].
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ [2564] *แคโรทีนอยด์*. [Online]. ได้จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid-แคโรทีนอยด์>. [สืบค้นเมื่อ 4 พฤศจิกายน 2564].
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนานนท์ [2566] *ไลโคปีน*. [Online]. ได้จาก <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2755/lycopene>. [สืบค้นเมื่อ 16 มกราคม 2566].
- พิชริน ส่งศรี (2554) ผักขาว พืชพื้นบ้านคุณค่าสูงที่ไม่ควรมองข้าม: แนวทางการปรับปรุงพันธุ์. *เกษตรก้าวหน้า*, 24(3), 33-42.
- มหาวิทยาลัยมหิดล [2557] *งานวิจัยของมหาวิทยาลัยมหิดลเกี่ยวกับสรรพคุณของเมล็ดผักขาว*. [Online]. ได้จาก <http://www.sc.mahidol.ac.th/tha/research/patent.htm>. [สืบค้นเมื่อ 5 กันยายน 2564].
- มหาวิทยาลัยขอนแก่น [2554] *ปรับปรุงพันธุ์ผักขาว มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง*. [Online]. ได้จาก <https://ascannotdo.wordpress.com/tag/ผักขาวต้านชรา/>. [สืบค้นเมื่อ 5 สิงหาคม 2564].
- ร้อยไม้พินยา [2556] *ผักขาว สูดยอต่อต้านอนุมูลอิสระ*. [Online]. ได้จาก <https://www.bangkokbiznews.com/news/detail/528077>. [สืบค้นเมื่อ 10 กันยายน 2564].

วิเชษฐ์ สีสามานิตย์ [2557] พักข้าว.[Online]. ได้จาก

<https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/223/Momorodica-cochinchinensis/>. [สืบค้นเมื่อ 15 มกราคม 2566].

ศรินญา สังขสัญญา (2561) การใช้เอนไซม์เซลลูเลสในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแคโรทีนอยด์: กรณีศึกษาในเยื่อหุ้มเมล็ดพักข้าว. *วิทยาศาสตร์เกษตร*, 597-600.

ศรินญา สังขสัญญา และ พิสุทธิ หนักแน่น (2559) การเตรียมน้ำพักข้าวสกัดเข้มข้นพร้อมดื่ม: ผลของระดับการทาเข้มข้นต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ. *วิทยาศาสตร์เกษตร*, 47(2), 461-464.

ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และอัญชิสา กุลทวีสุข (2561) นมเปรี้ยวคีเฟอร์: เทคโนโลยีชีวภาพจากมุมมองวิทยาการด้านโอมิกส์. *เทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*, 13(1).

ศิริพร ศรีภูธร [2016] พักข้าว แหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ เบต้าแคโรทีน ไโคปินและไขมันอิสระ. [Online]. ได้จาก <https://www.sirihomemade.com/พักข้าว/>. [สืบค้นเมื่อ 13 ตุลาคม 2564].

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย [2555] *ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสารสกัดพักข้าวต้านอนุมูลอิสระช่วยชะลอแก่*. [Online]. ได้จาก <https://www.tistr.or.th/tistr/newsboard/shownews.php?Category=newsboard&No=325>. [สืบค้นเมื่อ 19 สิงหาคม 2564].

สภาเกษตรกรแห่งชาติ [2561] พักข้าว.[Online]. ได้จาก <https://www.nfc.or.th/content/7470>. [สืบค้นเมื่อ 13 ตุลาคม 2564].

สุขภาพ [2565] “คีเฟอร์” นมหมักของคนรักสุขภาพ ปรับสมดุลลำไส้-รักษาโรคหัวใจ. [Online]. ได้จาก <https://today.line.me/th/v2/article/60XJxRn>. [สืบค้นเมื่อ 16 มกราคม 2566].

สุชาติภพ ภมรประวดี [2560] *แตงกวา สรรพคุณและประโยชน์ของแตงกวา 43 ข้อ*. [Online]. ได้จาก <https://medthai.com/แตงกวา/>. [สืบค้นเมื่อ 17 มกราคม 2565].

สารสนเทศสุขภาพไทย [2555] *วิจัยสารสกัดจากพักข้าวต้านอนุมูลอิสระ*. [Online]. ได้จาก https://www.hiso.or.th/hiso5/healthy/news.php?names=04&news_id=1405. [สืบค้นเมื่อ 15 มกราคม 2566].

หยาดฝน ทนงการกิจ, กาญจนา นาคประสม และนักรบ นาคประสม (2559) ผลของกระบวนการต่อสมบัติทางกายภาพและปริมาณแคโรทีนอยด์ ในสัผสมอาหารธรรมชาติจากเยื่อหุ้มเมล็ดพักข้าว. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*, 11(1).

หยาดฝน ทนงการกิจ และ พูนพัฒน์ พูนน้อย (2557) การผลิตสีผสมอาหารธรรมชาติจากเหื่อหุ้ม
เมล็ดฟักข้าว *Production of Natural Food Colorant from Gac Aril*.

วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต. สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรม
เกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

Aoki, H., Kieu N.T., Kuze N., Tomisaka K. and Chuyen N. (2002)

Carotenoid pigments in gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Journal of Food Bioscience Biotechnology Biochem*, 66(11), 2479-2482.

Bhumsaidon A. and Chamchong M. (2016) Variation of lycopene and

beta-carotene contents after harvesting of gac fruit and its prediction.

Journal of Agriculture and Natural Resources, 50, 257-263.

Burke, D.S., Smidt R.C., and Vuong L.T. (2005) *Momordica cochinchinensis*,

Rosa Roxburghii, wolfberry, and sea buckthorn-Highly nutritional fruits

supported by tradition and science. *Journal of Current Topics in Nutraceutical Research*, 3(4), 259-266.

H Emmanouil, Papaioannou, Liakopoulou-Kyriakides Maria and

Karabelas JA (2016) Natural Origin Lycopene and Its “Green” Downstream
Processing. *Journal of Food Science and Nutrition*, 56 (4), 686-709.

Huang Y., Adeleye A. S., Zhao L., Minakova A.S., Anumol T., Keller A.A.

(2019) Antioxidant response of cucumber (*Cucumis sativus*) exposed to nano
copper pesticide: Quantitative determination via LC-MS/MS. *Journal of Functional Foods*, 270, 47-52.

Hussain M.H., Hong Q., Zaman W.Q., Mohsin A., Wei Y., Zhang N.,

Fang H., Wang Z., Hang H., Zhuang Y. and Guo M. (2021) Rationally optimized
generation of integrated *Escherichia coli* with stable and high yield lycopene
biosynthesis from heterologous mevalonate (MVA) and lycopene expression
pathways. *Journal of Synthetic and Systems Biotechnology*, 6(2), 85-94.

Ishida, K. B. and Chapman M.H. (2009) Carotenoid extraction from plants using

a novel, environmentally friendly solvent. *Journal of Agriculture Food Chem*, 57, 1051-1059.

Ishida, K.B., Turner C., Chapman M.H., and Mckeen A.T.

(2004) Fatty acid and composition of Gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) fruit. *Journal of Agriculture Food Chem*, 52,274-279.

Mai H.C., Truong V. and Debaste F. (2016) Carotenoids purification from gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng.) fruit oil. *Journal of food engineering*, 172, 2-8.

Marnpae M., Chusak C., Balmori V., Kamonsuwan K., Dahlan W., Nhujak T., Hamid N. and Adisakwattana S. Probiotic Gac fruit beverage fermented with *Lactobacillus paracasei*: Physiochemical properties, phytochemicals, antioxidant activities, functional properties, and volatile flavor compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 169, 1-9.

Monajemi R., Shahrbanou O., Seyed Ali H.R., A.R. G. and Abas J.D. (2005) Cytotoxic effects of essential oils of some iranian citrus peels. *Journal of pharmaceutical research*, 3, 183-187.

Müller-Maatsch J., Sprenger J., Hempe J., Kreiser F., Carle R. and Schweiggert R. M. (2017). Carotenoids from gac fruit aril (*Momordica cochinchinensis* [Lour.] Spreng.) are more bioaccessible than those from carrot root and tomato fruit. *Journal of Food Research International*, 99(2), 928-935.

NIST Chemistry WebBook, SRD 69 [2022] Carbon dioxide.

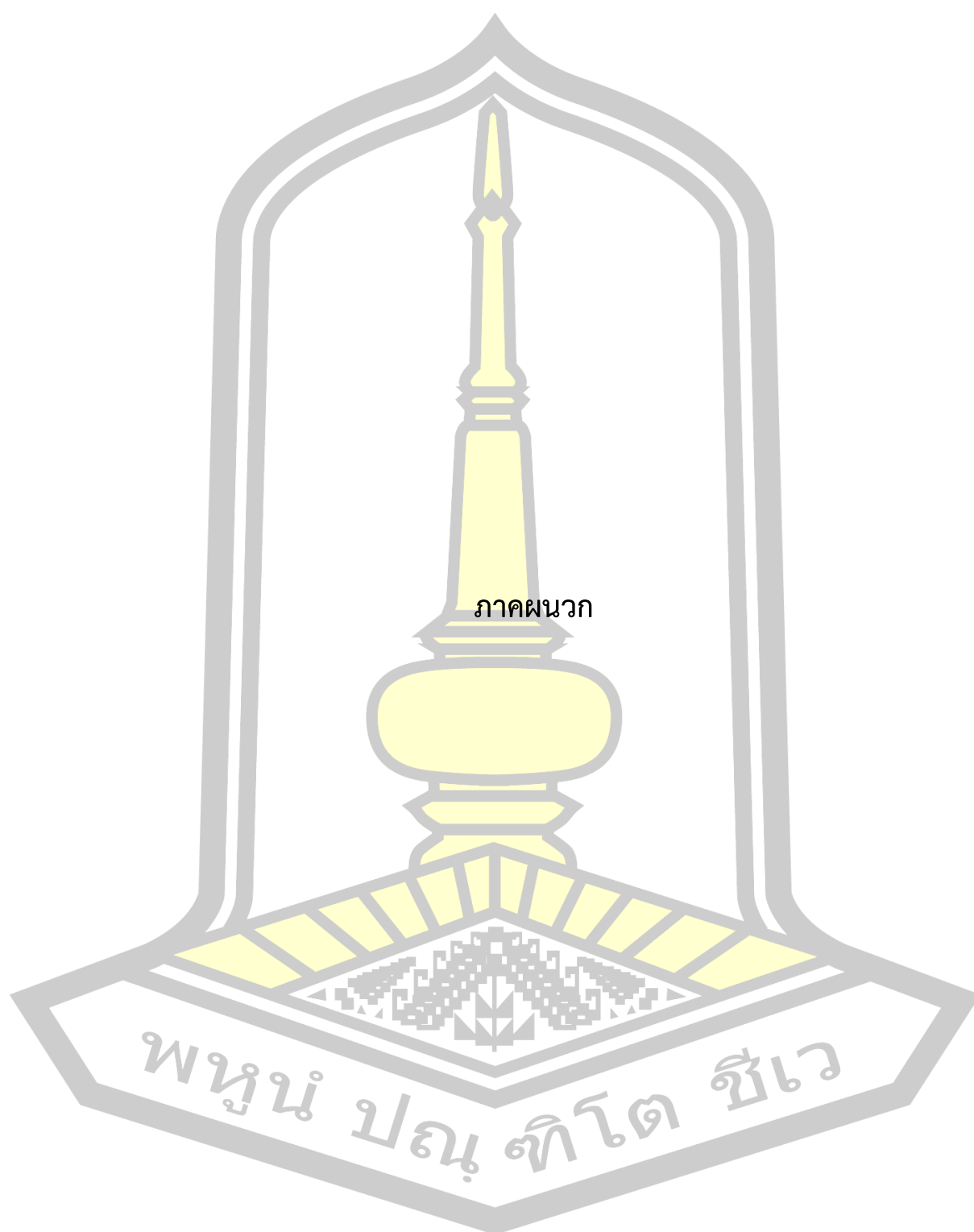
[Online]. Available from: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>
[Cited 14 September 2022].

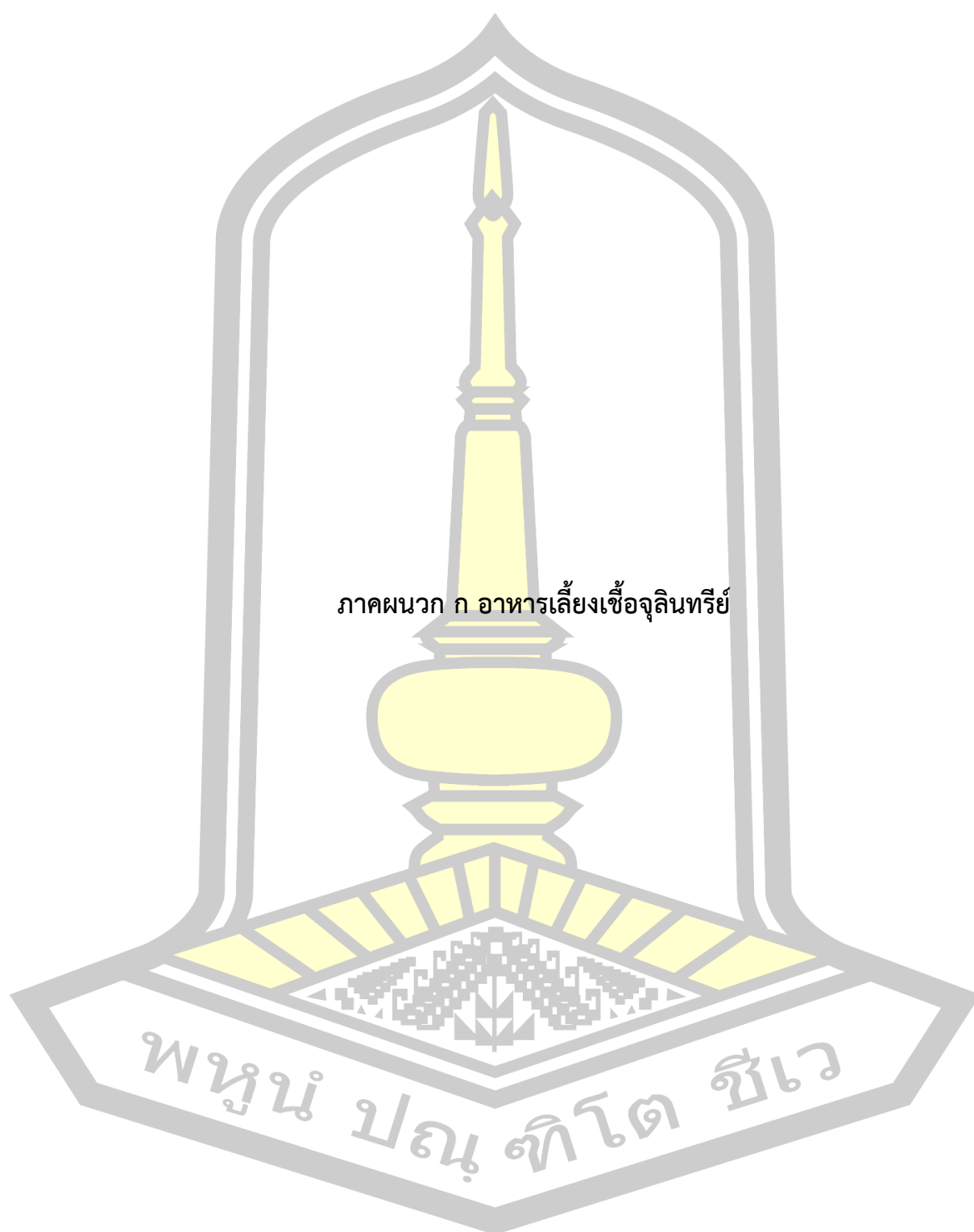
Radošević K., Srček, V. G., Bubalo M. C., Brnčić S.R, Takács K. and Redovniković I. R. (2017). Assessment of glucosinolates, antioxidative and antiproliferative activity of broccoli and collard extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 61, 59–66.

Thanh Do T.V., Fan L., Suhartini W. and Girmatsion M. (2019)

Gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) fruit: A functional food and medicinal resource. *Journal of Functional Foods*, 62 (1), 1-14.

- Tian M., Xu X., Liu Y., Xie L. and Pan S. (2016) Effect of Se treatment On glucosinolate metabolism and health-promoting compounds in the broccolisprouts of three cultivars. *Journal of Food Chemistry*, 190, 374–380.
- Vuong L.T., Dueker S.R. and Murphy S.P. (2002) Plasma beta-carotene and retinol concentrations of children increase after a 30-d supplementation with the fruit *Momordica cochinchinensis* (gac). *The American Journal of Clinical Nutrition*, 75(5), 872-879.
- Vuong, L.T., Franke A., Custer L.J. and Murphy S.P. (2006) *Momordica cochinchinensis* Spreng. (gac) fruit carotenoids reevaluated. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 664-668.
- Xu J., Liu W., Yao W., Pang X., Yin D. and Gao X. (2009) Carboxymethylation a polysaccharide extracted from *Ganoderma lucidum* enhances its antioxidant activities in vitro. *Journal of Carbohydrate Polymers*, 78(2), 227-234.
- Lu Y., Mu K., McClements D.J., Liang X., Liu X. and Liu F. (2020) Fermentation of tomato juice improves in vitro bioaccessibility of lycopene. *Journal of Functional Foods*, 71, 1-8.
- Yoon K.Y., Woodams E.E. and Hang Y.D. (2004) Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *Journal of Microbiology*, 42(4), 315-318.
- Yu J., Liu X., Zhang L., Shao P., Wu W., Chen Z., Li J. and Renard C. M. (2022) An overview of carotenoid extractions using green solvents assisted by Z-isomerization. *Journal of Trends in Food Science & Technology*, 123, 145-160.
- Zhang L., Tu Z. C., Yuan, T., Wang H., Xie X. and Fu, Z. F. (2016) Antioxidants and α -Glucosidase inhibitors from *Ipomoea batatas* leaves identified by bioassayguided approach and structure-activity relationships. *Journal of Food Chemistry*, 208, 61-67.

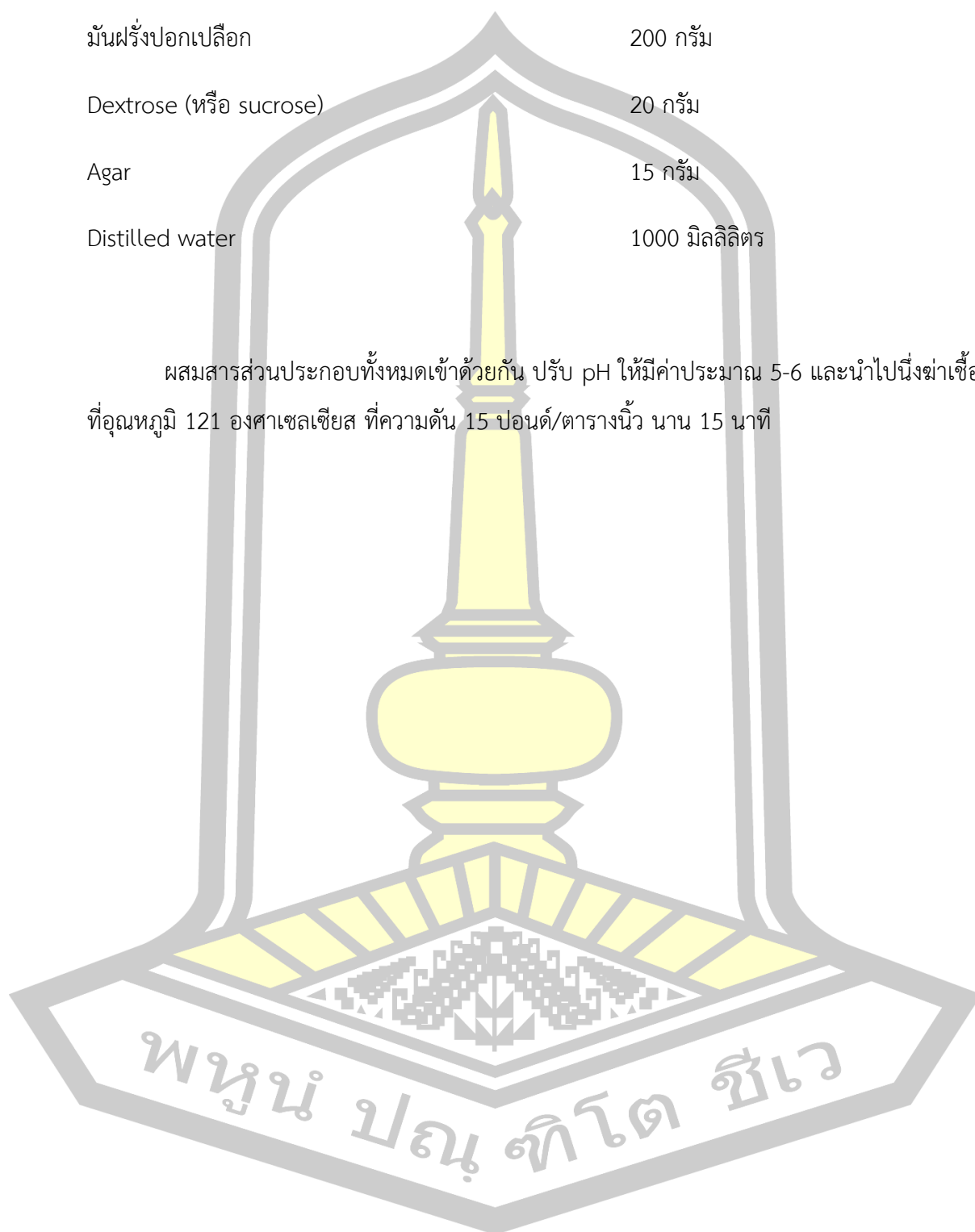


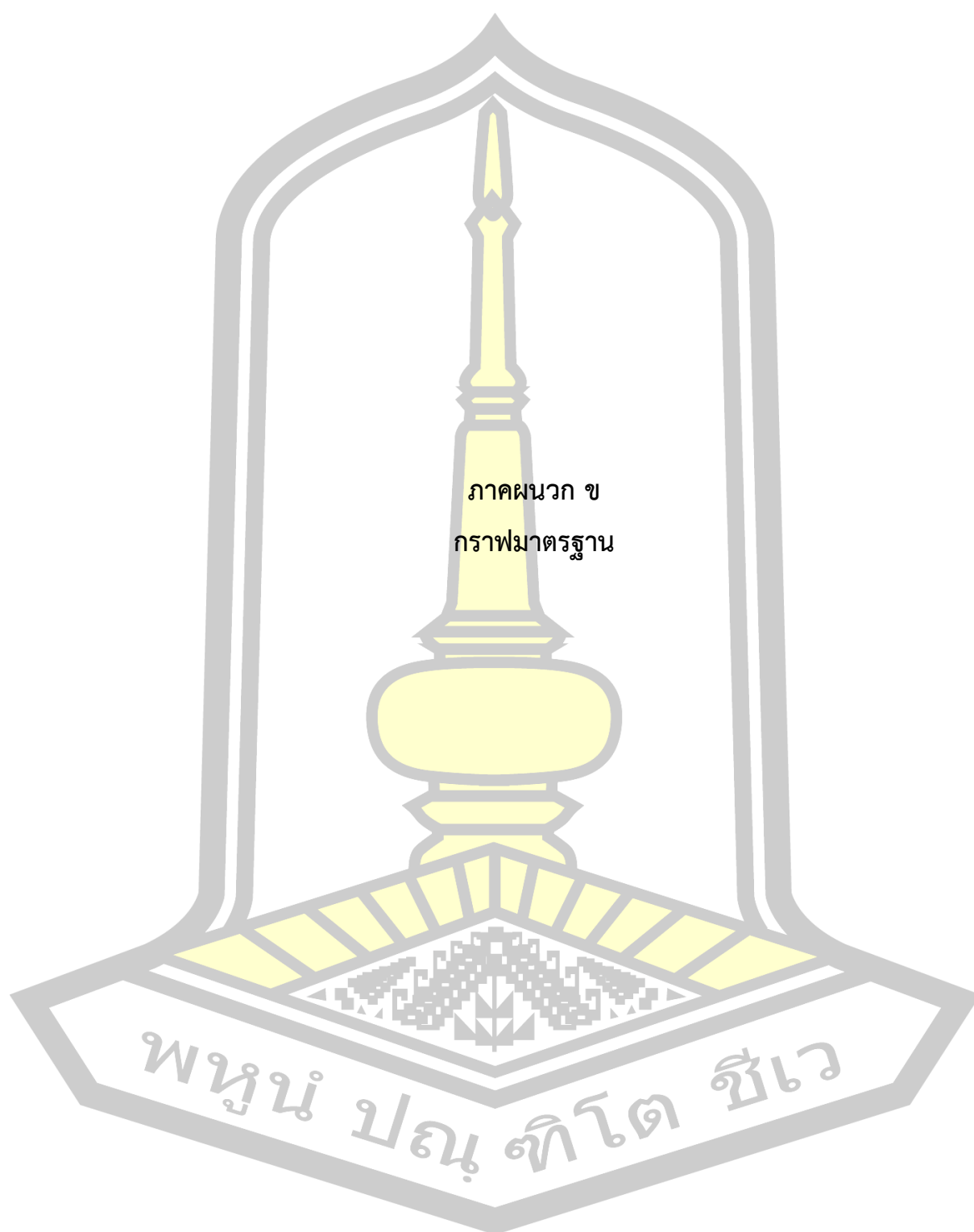


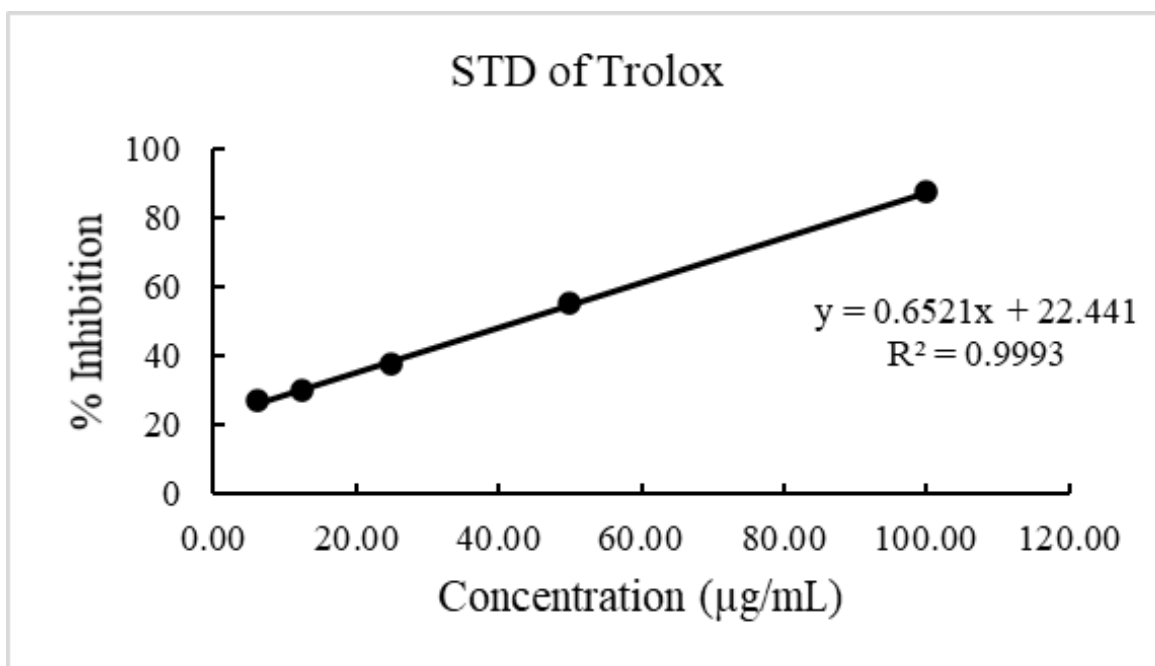
1. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่งปอกเปลือก	200 กรัม
Dextrose (หรือ sucrose)	20 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร

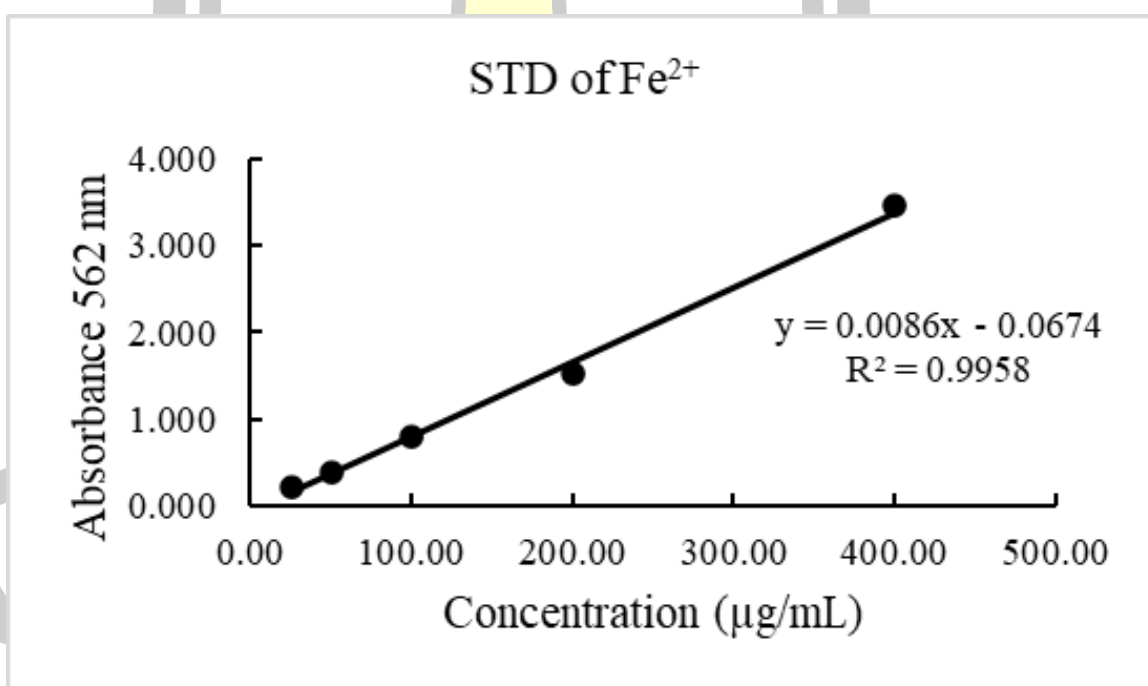
ผสมสารส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน ปรับ pH ให้มีค่าประมาณ 5-6 และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที



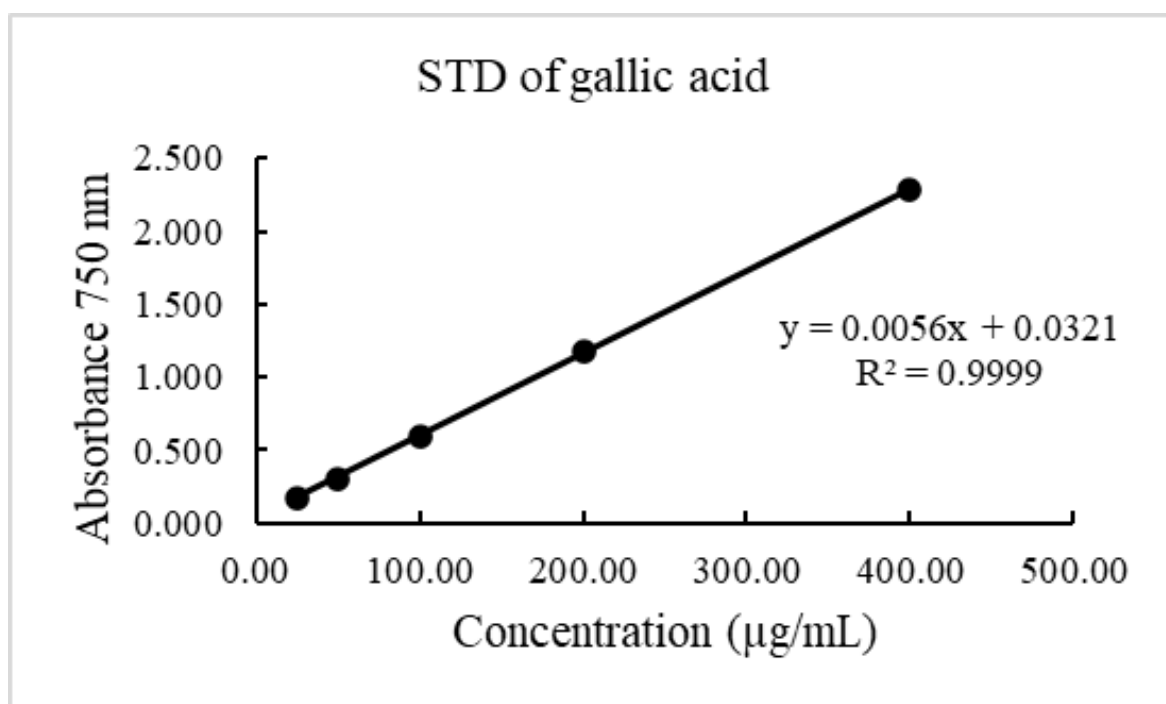




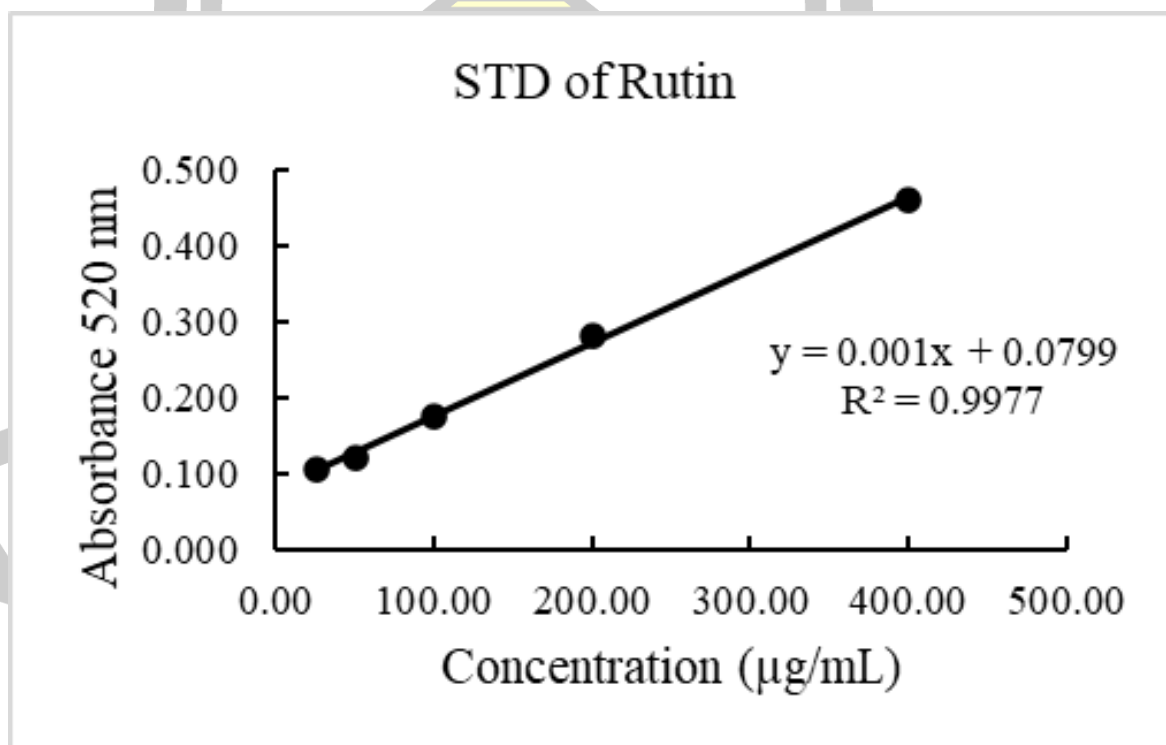
ภาพที่ 8 กราฟของสารมาตรฐานโทรลล็อกซ์ (Trolox)



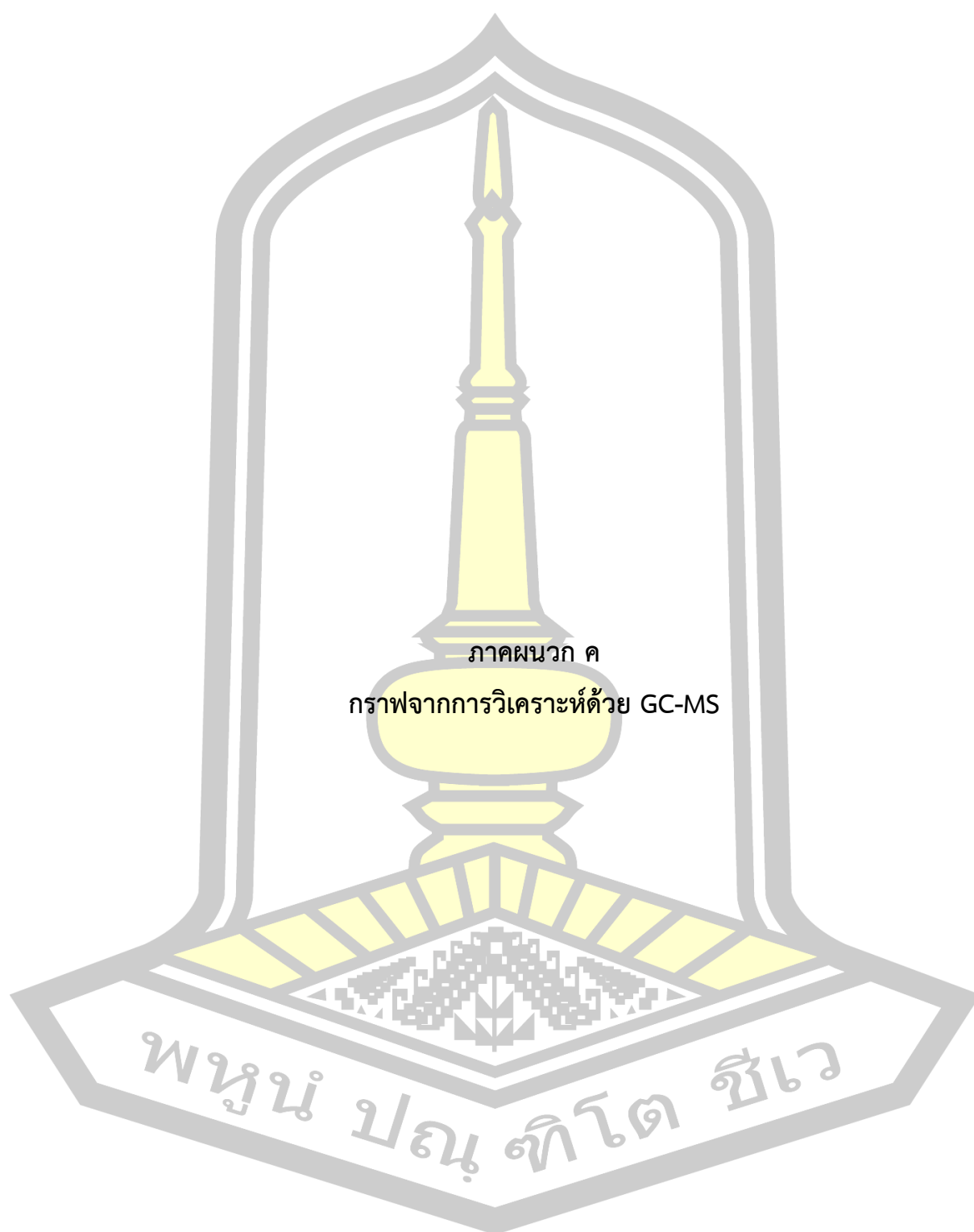
ภาพที่ 9 กราฟของสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO₄•7H₂O)

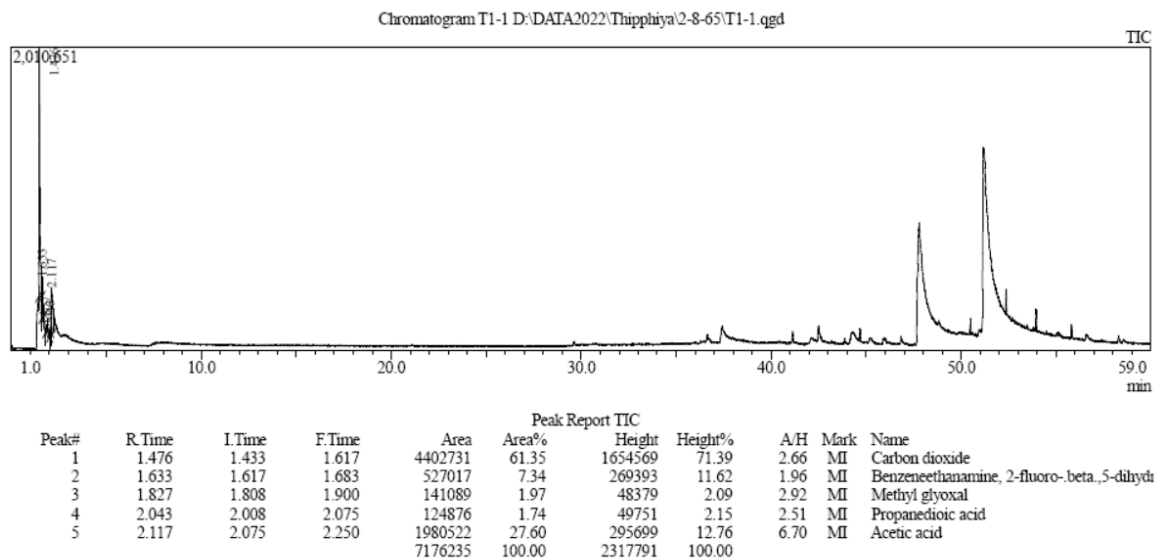


ภาพที่ 10 กราฟของสารมาตรฐานกรดแกลลิก

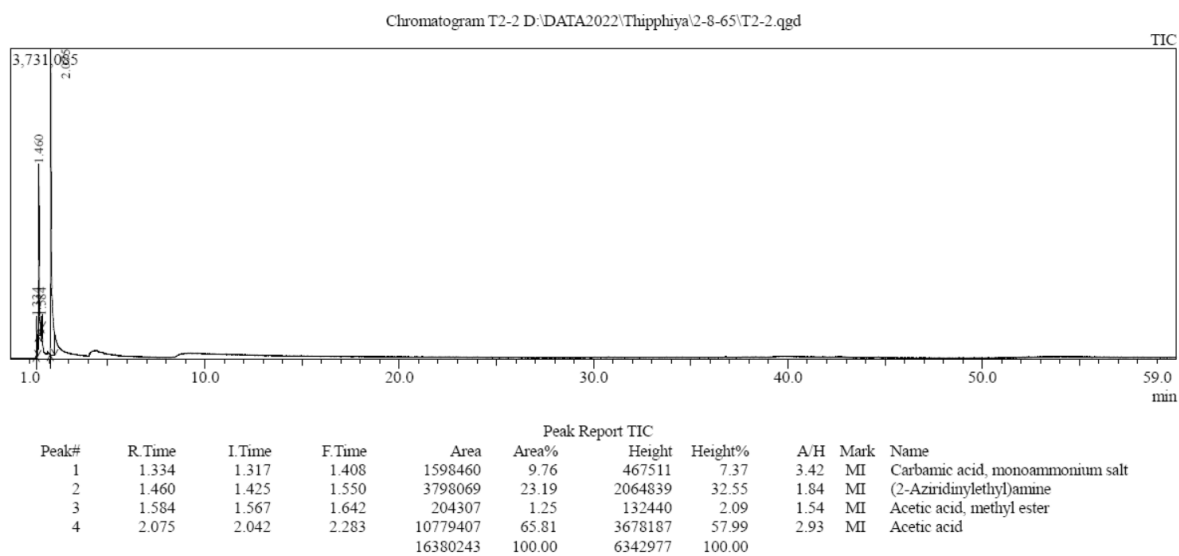


ภาพที่ 11 กราฟของสารมาตรฐานรูทีน



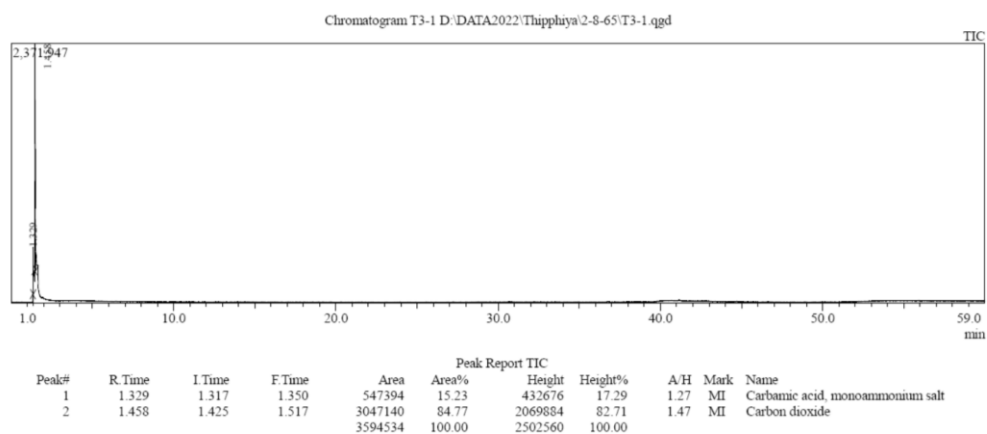


ภาพที่ 12 กราฟโครมาโตแกรมน้ำเยื่อผักขาว (ชุดควบคุม)

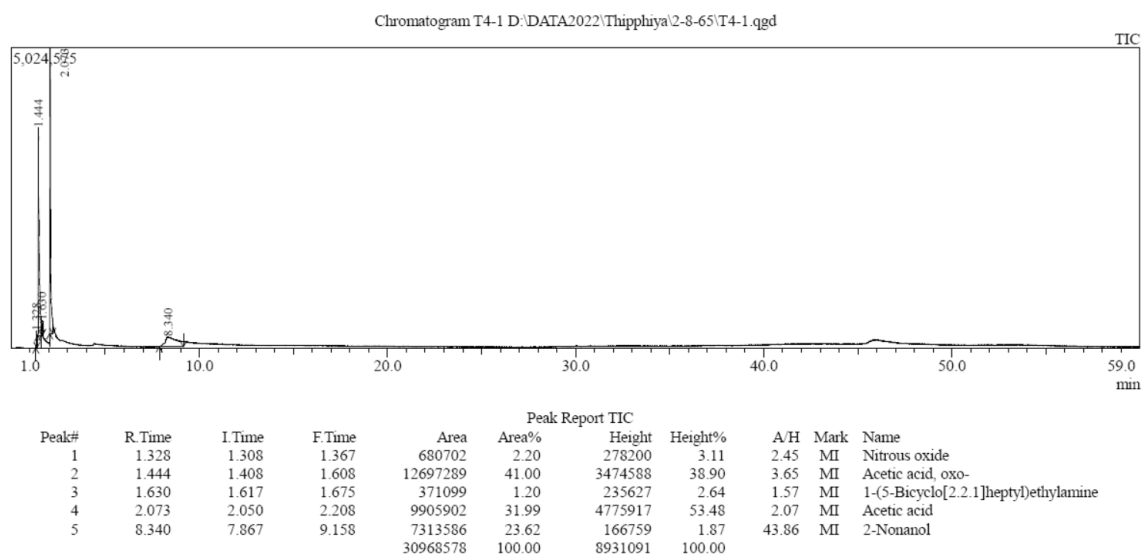


ภาพที่ 13 กราฟโครมาโตแกรมของน้ำเยื่อผักขาวผสมซีเฟอร์ DT5001 2%

พูน ปณ ทิโต ชเว

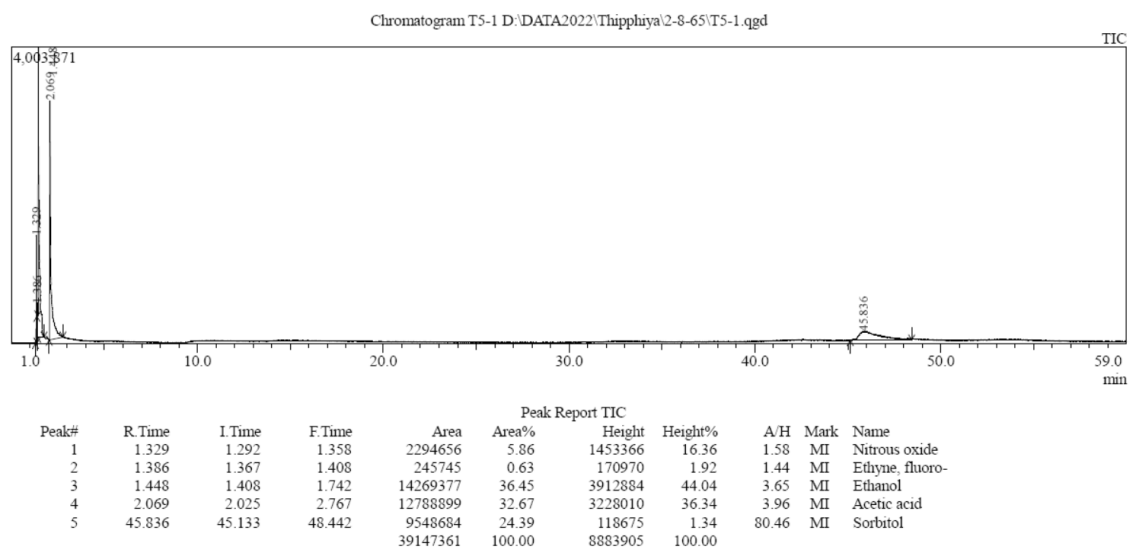


ภาพที่ 14 กราฟโครมาโตแกรมของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเชื้อรา *Aspergillus niger* 2%



ภาพที่ 15 กราฟโครมาโตแกรมของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เพคตินเนส 2%





ภาพที่ 16 กราฟโครมาโตแกรมของน้ำเยื่อฟักข้าวผสมเอนไซม์เซลลูเลส 2%



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	เกษรา มงคลโคตร
วันเกิด	18 กุมภาพันธ์ 2523
สถานที่เกิด	อำเภอกุมภวาปี จังหวัดอุดรธานี
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	109 หมู่ 1 ต.เสือเพลิง อ.กุมภวาปี จ.อุดรธานี
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	หัวหน้าแผนกตรวจสอบคุณภาพ
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	199 หมู่ 12 ต. ศรีมหาโพธิ อ. ศรีมหาโพธิ จ. ปราจีนบุรี 25140
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2546 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2565 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขา เทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ทุนวิจัย	-
ผลงานวิจัย	-

