



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: การสกัดใยอาหารบริสุทธิ์จากลูกสำรอง และการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพ
เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกันถุง
dialysis

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ศรีจำเริญ และคณะ

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: การสกัดใยอาหารบริสุทธิ์จากลูกสำรอง และการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพ
เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกันถุง
dialysis

ผู้วิจัย

- 1 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ศรีจำเริญ
- 2 รองศาสตราจารย์ ดร.วิสิฐ จະวะสิต

สังกัด

มหาวิทยาลัยนเรศวร
มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

รหัสโครงการ: MRG5180042

ชื่อโครงการ: การสกัดใยอาหารบริสุทธิ์จากลูกสำรอง และการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกึ่งถึง dialysis

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ศรีจำเริญ
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร

E-mail Address: anchalee1@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 15 พฤษภาคม 2551-14 พฤษภาคม 2553

บทคัดย่อ:

ลูกสำรองเป็นผลไม้ที่มีการบริโภคมานานแล้วในประเทศไทย ประโยชน์ของลูกสำรองต่อสุขภาพมีความสัมพันธ์กับการเกิดเจลของสารละลาย งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์แรกเพื่อทำการสกัดใยอาหารจากลูกสำรอง จากนั้นนำสารสกัดไปทดสอบคุณสมบัติโอสโยไล ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของค่าความเป็นกรด-ด่าง และตัวถูกละลายที่แตกต่างกัน โดยทำการเปรียบเทียบกับสารละลายลูกสำรองที่วางจำหน่าย ผลการทดลองพบว่าใยอาหารสกัดจากลูกสำรองมีพันธะโครงสร้างทางเคมีน้อยกว่าลูกสำรองที่วางจำหน่าย พันธะที่ลดลงคือพันธะคาร์บอกซิลิกซึ่งเป็นพันธะที่พบในกรดกาแลคทูโรนิก ส่งผลให้ใยอาหารสกัดจากลูกสำรองมีค่าความเป็นเจลสูงกว่า ในการผสมใยอาหารสกัดจากลูกสำรองและสารละลายลูกสำรองร่วมกับกัวกัม ในสารละลายที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ พบว่าสารละลายมีค่าการเกิดเจลที่ดี วัตถุประสงค์ที่สองของงานวิจัยครั้งนี้คือการนำใยอาหารสกัดจากลูกสำรองผสมกับกลูโคสในถุง dialysis เพื่อทดสอบการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกึ่งถึง dialysis เปรียบเทียบกับสารละลายลูกสำรองที่วางจำหน่ายและกัวกัม ผลการทดลองพบว่าใยอาหารสกัดจากลูกสำรองลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกึ่งถึง dialysis แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การผสมใยอาหารสกัดจากลูกสำรองร่วมกับกัวกัมพบว่าลดการเคลื่อนที่ของกลูโคส 50-82% เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีใยอาหาร ในการทดสอบสารละลายที่มีแป้ง, ใยอาหารสกัดจากลูกสำรอง, และ เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส พบว่า ใยอาหารสกัดจากลูกสำรองทำให้แป้งเปลี่ยนเป็นกลูโคสลดลง โดยมีกลูโคสเคลื่อนที่ผ่านผนังกึ่งถึง dialysis ลดลง 3-7 เท่า ในนาที่ที่ 15 และ 30 เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายที่มีแป้งและเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส งานวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่ดีของการใช้ใยอาหารสกัดจากลูกสำรองในการช่วยลดการดูดซึมกลูโคสในร่างกายมนุษย์

คำหลัก: ลูกสำรอง, กัม, คุณสมบัติโอสโยไล, การเคลื่อนที่ของกลูโคส

Project Code : MRG5180042

Project Title : Fiber extraction and purification of malva nut and the modification of its physical property to reduce diffusion of glucose in dialysis bag

Investigator: Assistant Professor Dr. Anchalee Srichamroen
Department of Agro-Industry
Faculty of Agriculture, Natural Resources, and Environment
Naresuan University

E-mail Address: anchalee1@gmail.com

Project Period: May 15, 2008 – May 14, 2010.

Abstract:

Mucilage of malva nut fruit has been used as traditional medicine in Thailand. Health benefits of this mucilage are linked to its gelling property. This research was firstly aimed to extract dietary fiber from malva nut seeds and evaluate oscillatory rheological properties of malva nut gum (MNG) in different conditions of solvent (pH, ionic strength, and co-solutes addition), compared to original MNG. Alkaline extracted MNGs showed higher storage modulus than did the original MNG. FT-IR of alkaline extracted MNGs showed carboxylic bonds with the reduction of galacturonic acids to increase the storage modulus compared to that of original MNG. Addition of guar gum into MNG solution increased storage modulus in either salts or acid containing system. The second objective of the research was aimed to investigate the effect of MNG on the retardation of glucose diffusion in *in vitro* dialysis processes. The results showed that alkaline-extracted MNG significantly ($p < 0.05$) reduced glucose content in dialysate compared to control containing no dietary fiber. The mixture of MNG and guar gum significantly ($p < 0.05$) reduced glucose in dialysate by 50-82% compared to that of control. In starch digestion process, the mixture of MNG and guar gum showed greater reduction of glucose (3-7 folds) in dialysate at 15-30 min. In conclusion, extracted MNG has the potential to modify glycemic status in human.

Keywords: malva nut, gum, rheological property, glucose diffusion

โรคอ้วนเป็นสาเหตุสำคัญนำไปสู่ความผิดปกติทางด้านเมตาบอลิซึมในร่างกายซึ่งมีผลกระทบต่อความดันโลหิต คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และโรคเบาหวาน ความผิดปกติของเมตาบอลิซึมเหล่านี้มีความเกี่ยวข้องกับโรคหัวใจและหลอดเลือดอย่างชัดเจน ในผู้ป่วยที่เป็นโรคอ้วนขั้นรุนแรง (severe obesity) มักพบว่ามีอายุสั้นกว่าปกติประมาณ 5-20 ปี (Fontaine et al., 2003) ในประเทศไทยมีผู้ป่วยเสียชีวิตด้วยโรคหลอดเลือดและหัวใจสูงถึง 40,000 คนต่อปี หรือคิดเป็นชั่วโมงละ 5 คน (กระทรวงสาธารณสุข, 2550) การป้องกันและบรรเทาอาการของโรคดังกล่าวมีความจำเป็นอย่างยิ่ง มิฉะนั้นจำนวนผู้ป่วยจะเพิ่มขึ้นอย่างมากในอนาคตอันใกล้

ใยอาหารมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคดังกล่าวข้างต้น ใยอาหารชนิดละลายน้ำ (water-soluble fiber) เช่น guar gum, pectin, β -glucan เป็นต้น ถูกใช้เป็นส่วนหนึ่งของการให้โภชนบำบัดในผู้ป่วยโรคอ้วน โรคเบาหวานและโรคไขมันสูงในเลือด (Kovacs et al., 2001; Schneeman, 2002) อย่างไรก็ตามประเทศไทยต้องนำเข้าใยอาหารเหล่านี้จากต่างประเทศปีละ 4-6 ล้านเหรียญสหรัฐ (กรมศุลกากร, 2004) ดังนั้นการหาแหล่งใยอาหารใหม่ที่ผลิตได้ในประเทศจะช่วยลดการสูญเสียเงินตราให้ต่างประเทศ

ลูกสำรองเป็นไม้ผลที่ปลูกในประเทศไทยและเป็นแหล่งที่ดีของใยอาหารชนิดละลายน้ำ (water-soluble fiber) จากการทดลองเบื้องต้นของผู้วิจัยพบว่า เมื่อละลายลูกสำรองในน้ำจะทำให้สารละลายมีความข้นหนืด และเมื่อนำสารละลายลูกสำรองเก็บไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 3-5 วันจะมีลักษณะเป็นแผ่นวุ้นมากขึ้น ซึ่งน่าจะเกิดจากคุณสมบัติของการเป็น mucilaginous substance ของส่วนประกอบในลูกสำรอง เมื่อวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดพบว่ามีปริมาณสูงถึง 58% ผู้วิจัยตระหนักถึงความสำคัญของการบริโภคใยอาหารเพื่อสุขภาพ และเห็นว่าการสกัดใยอาหารจากลูกสำรองเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอาจช่วยลดการนำเข้าใยอาหารจากต่างประเทศ

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์แรก เพื่อศึกษาวิธีการสกัดใยอาหารจากลูกสำรอง โดยจะมีการเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพของใยอาหารที่สกัดได้กับใยอาหารที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย เช่น กวักัม (guar gum), เพคติน (pectin) วัตถุประสงค์ที่สองของโครงการวิจัยนี้คือการปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของใยอาหารที่สกัดได้จากลูกสำรองให้มีความใกล้เคียงกับใยอาหารที่ขายในทางการค้า เช่น กวักัม, เพคติน โดยจะมีการทดสอบความสามารถของใยอาหารในการชะขวางการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านถุง dialysis

ผลการวิจัยพบว่าการใช้สารละลายต่างเพื่อสกัดใยอาหารจากลูกสำรอง ทำให้ได้ใยอาหารที่มีสมบัติทางกายภาพดีกว่าเดิม ได้แก่ ความเป็นเจลเพิ่มขึ้น และสามารถลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกั้นถุง dialysis ได้ดี โดยมีความสามารถใกล้เคียงกับใยอาหารกวักัม จากผลการวิจัยครั้งนี้ทำให้เห็นแนวโน้มที่ดีของใยอาหารสกัดจากลูกสำรองในการลดการดูดซึมกลูโคสในระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นงานวิจัยต่อยอดจากผลการทดลองครั้งนี้จึงควรทำการทดสอบประสิทธิภาพของใยอาหารสกัดจากลูกสำรองต่อเมตาบอลิซึมของร่างกายในสัตว์ทดลอง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันและรักษาโรคอ้วน และโรคเบาหวานในมนุษย์เป็นลำดับต่อไป

การนำเสนอผลงานแบบบรรยาย

รหัสผลงาน: EX-O-02

วันที่นำเสนอ: 14 กันยายน 2553 ห้อง GH203

Title (English): Effect of Dietary Fiber Extracted from Malva Nut Seeds on
Inhibiting Glucose Diffusion Through Dialysis Bag

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย): ผลของใยอาหารสกัดจากลูกสำรองต่อการลดการเคลื่อนที่กลูโคสผ่าน
ผนังกึ่งถึง Dialysis

**Effect of dietary fiber extracted from malva nut seeds on inhibiting glucose
diffusion through dialysis bag**

Anchalee Srichamroen^{1*}, Visith Chavasit²

*¹Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture, Natural Resources and
Environment, Naresuan University, Thailand 65000*

²Institute of Nutrition, Mahidol University, Thailand 73170

Abstract

Mucilage of malva nut fruit has been used as traditional medicine in Thailand. Health benefits of this mucilage are linked to its gelling property. Our laboratory has succeeded in extracting malva nut gum (MNG) from malva nut seeds by using alkaline-extraction method. The extract had higher gelling properties compared to water-extracted MNG. The objective of the present study was aimed to investigate the effect of MNG on the retardation of glucose diffusion in in vitro dialysis processes. The results showed that alkaline-extracted MNG significantly ($p < 0.05$) reduced glucose content in dialysate compared to control containing no dietary fiber. MNG at 1% (w/w) concentration was more effective than that of 0.5% (w/w) concentration. The mixture of MNG and guar gum significantly ($p < 0.05$) reduced glucose in dialysate by 50-82% compared to that of control. In starch digestion process, the mixture of MNG and guar gum showed greater reduction of glucose (3-7 folds) in dialysate at 15-30 min.

Keywords: malva nut, gum, oscillatory rheology, glucose diffusion

From ICN 2009 Scientific Program Committee
<newsletter@testsendblaster.com>
reply-to scprogram@asiacongress.com
to anchalee1@gmail.com
date Fri, Aug 21, 2009 at 10:36 PM
subject ICN 2009 Poster Presentation Schedule Confirmation

Dear Anchalee Srichamroen:

On behalf of the Scientific Program Committee of the 19th International Congress of Nutrition, I am pleased to inform you the following details of your Poster

Presentation:
Session Date: Wednesday, October 07, 2009
Session Time: 09:30-10:00 hrs. / 15:30-16:00 hrs.
Session Room: Exhibition Hall 102 (changed from Exhibition Hall 103)
Session Title: P110: Food Composition and Biodiversity II
Poster No.: P110-03

Presentation Title & Author:
FRACTIONATION AND ISOLATION OF POLYSACCHARIDE FROM MALVA
NUT SEEDS (Abs. #1660)
Anchalee Srichamroen, Naresuan University, Thailand

Manuscript Number: FOODCHEM-D

Title: In vitro retardation of glucose diffusion with gum extracted from malva nut seeds produced in Thailand

Article Type: Research Article (max 7,500 words)

Keywords: malva nut; gum; glucose; diffusion; dialysis; α -amylase

Corresponding Author: Miss Anchalee Srichamroen, PhD

Corresponding Author's Institution: Naresuan University

First Author: Anchalee Srichamroen, PhD

Order of Authors: Anchalee Srichamroen, PhD

Abstract:

Mucilage of malva nut fruit has been used as traditional medicine in Thailand. Our laboratory has succeeded in extracting malva nut gum (MNG) from malva nut seeds by using alkaline-extraction method. The extract had higher gelling properties compared to water-extracted MNG. This research was aimed to investigate the effect of MNG on the retardation of glucose diffusion in in vitro dialysis processes. The results showed that alkaline-extracted MNG significantly ($p < 0.05$) reduced glucose content in dialysate compared to control containing no dietary fiber. MNG at 1% (w/w) concentration was more effective than that of 0.5% (w/w) concentration. The mixture of MNG and guar gum significantly ($p < 0.05$) reduced glucose in dialysate by 50-82% compared to that of control. In starch digestion process, the mixture of MNG and guar gum showed greater reduction of glucose (3-7 folds) in dialysate at 15-30 min.

สัญญาเลขที่ MRG5180042

โครงการ: การสกัดใยอาหารบริสุทธิ์จากลูกสำรอง และการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกั้นถุง dialysis

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 15 พฤษภาคม 2551 ถึง 14 พฤษภาคม 2553

ชื่อผู้รับผิดชอบ: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ศรีจำเริญ

หน่วยงาน: ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร

วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1) เปรียบเทียบวิธีการสกัดใยอาหารจากลูกสำรอง ระหว่างวิธีการใช้ทั้งเมล็ดและการแยกเมล็ดออกเป็นหลายส่วน
- 2) ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดจากลูกสำรอง เปรียบเทียบกับใยอาหารที่จำหน่ายในทางการค้า เช่น เพคติน, กวักม
- 3) การลดขนาดโมเลกุลเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของใยอาหารที่สกัดได้จากลูกสำรอง
- 4) ศึกษาผลของใยอาหารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากลูกสำรอง ต่อการลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกั้นถุง dialysis

รายละเอียดการดำเนินงานของโครงการ (พอสังเขป)

วัตถุประสงค์ที่ 1

เปรียบเทียบวิธีการสกัดใยอาหารจากลูกสำรอง ระหว่างวิธีการใช้ทั้งเมล็ดและการแยกเมล็ดออกเป็นหลายส่วน

วิธีการทดลอง

วิธีการทดลองที่ 1: การสกัดใยอาหารจากลูกสำรองทั้งเมล็ด

1.1) วัตถุดิบและสารเคมี

ลูกสำรองสั่งซื้อจากผู้ขายในตลาดจังหวัดชลบุรี สารเคมีที่ใช้ทั้งหมดเป็นชนิดเพื่อการทดลอง (reagent grade) สั่งซื้อจากบริษัทเวชกิจ จ.พิษณุโลก

1.2) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis)

ทำการบดละเอียดลูกสำรองให้ละเอียดมีขนาด 0.5 μm จากนั้นนำไปวิเคราะห์ต่อไป

วัดความชื้นด้วยเครื่องอบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนักจนวน้ำหนักคงที่

วิเคราะห์ปริมาณเถ้าด้วยเตา furnace ที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หยอดกรดไนตริกความเข้มข้น 1% แล้วเข้า furnace อีก 1-2 ชั่วโมง เพื่อช่วยการเผาไหม้สมบูรณ์จนตัวอย่างเปลี่ยนเป็นเถ้าสีขาว

วิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl method (AOAC 1990)

วิเคราะห์ไขมัน ด้วยเครื่อง soxhlet apparatus (AOAC, 1990)

1.3) ศักยภาพการสกัด

การสกัดใยอาหารบริสุทธิ์จะเริ่มต้นจากการสกัดไขมันในวัตถุดิบ หลังจากนั้นทำการสกัดโปรตีนออกจากวัตถุดิบ ซึ่งจะทำให้วัตถุดิบมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตเป็นหลัก โดยมีเกลียวแร่นอยู่ในปริมาณเล็กน้อย ในการที่จะได้ใยอาหารออกจากคาร์โบไฮเดรตและสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ จะต้องทำการตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ 95% ในอัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายต่อแอลกอฮอล์ 1:1

1.4) ผลการทดลองของการสกัดใยอาหารจากลูกสำรองทั้งเมล็ด

1.4.1) องค์ประกอบอาหารของลูกสำรอง

ลูกสำรองบดทั้งเมล็ดมีขนาดอนุภาค 0.5 μm มีปริมาณสารอาหารไขมัน, โปรตีน, เยื่อใย, เถ้า, ความชื้น ดังแสดงในตารางที่ 1 สำหรับปริมาณคาร์โบไฮเดรต ได้จากการคำนวณ

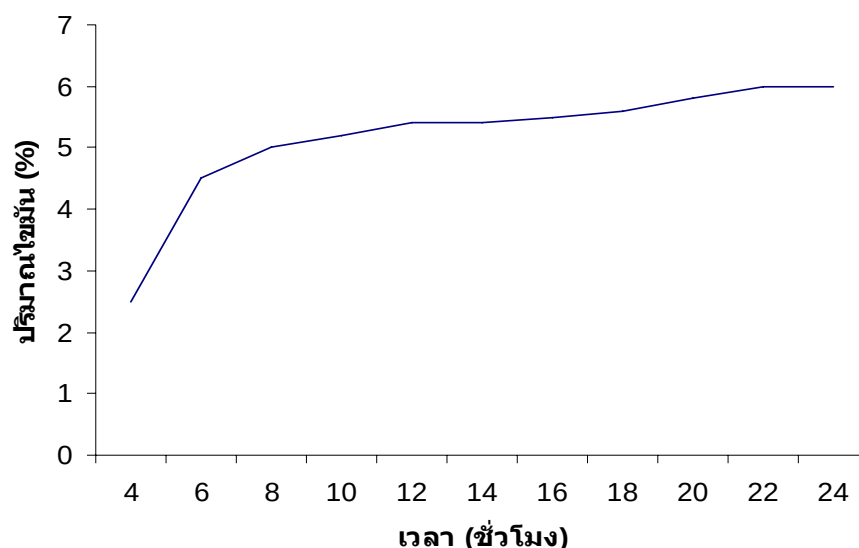
ตาราง 1 องค์ประกอบสารอาหารของลูกสำรองบดทั้งเมล็ด

องค์ประกอบอาหาร (% w/w)	บดทั้งเมล็ด
ความชื้น	12.9 $\pm$ 0.5
โปรตีน	16.8 $\pm$ 0.7
ไขมัน	6.2 $\pm$ 0.2
เถ้า	4.4 $\pm$ 0.1
เยื่อใย (crude fiber)	6.1 $\pm$ 0.3
คาร์โบไฮเดรต(โดยการคำนวณ)	53.6

คาร์โบไฮเดรต คำนวณจาก 100 - โปรตีน- ไขมัน- เถ้า- เยื่อใย-ความชื้น

1.4.2) การสกัดไขมันออกจากลูกสำรอง

ในขั้นตอนนี้มีการใช้สารเคมีหลายชนิดเพื่อทำการสกัดไขมันจากลูกสำรองทั้งเมล็ดที่มีการบดละเอียด โดยเริ่มจากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดไขมันด้วยเฮกเซน (Hexane) โดยใช้ Soxhlet apparatus (AOAC 1990, 945.16) ผลพบว่าการใช้เวลา 10 ชั่วโมงเป็นต้นไปจะทำให้มีปริมาณไขมันออกจากลูกสำรองบดละเอียดมาก 85-97 % (รูป 1)



รูป 1 ปริมาณไขมันของลูกสำรองที่ถูกสกัดด้วยเฮกเซน

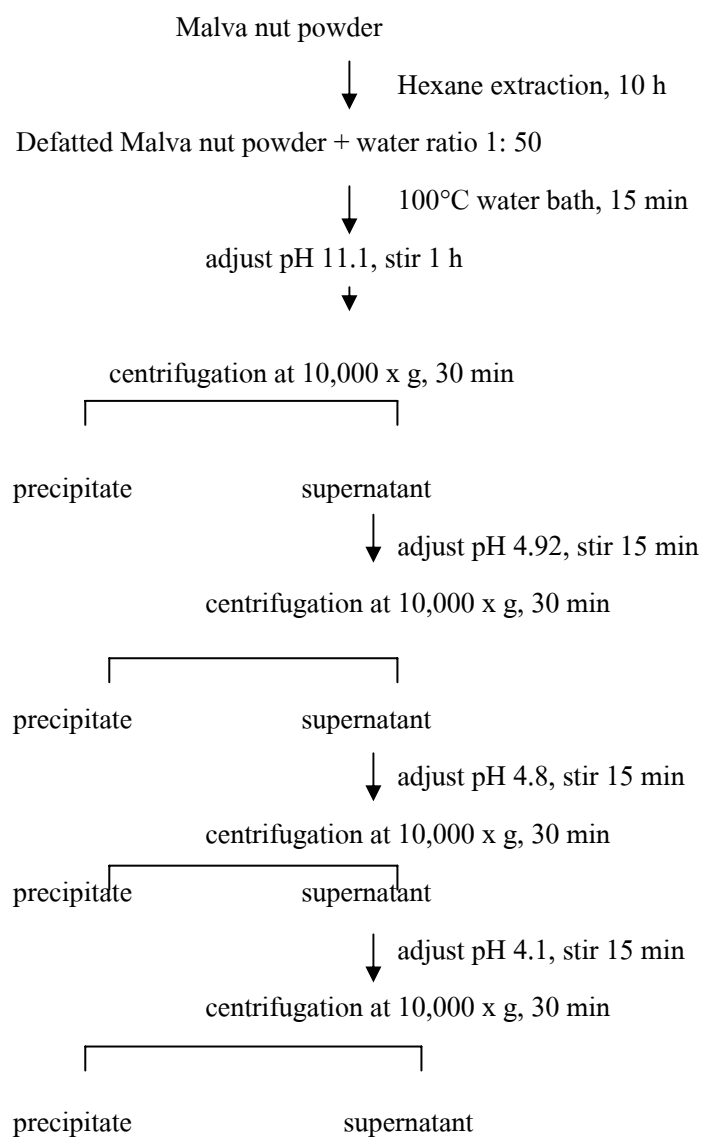
1.4.3) การสกัดโปรตีนออกจากลูกสำรอง และปริมาณผลผลิต (%yield)

นำผงลูกสำรองบดละเอียดที่ผ่านการสกัดไขมันออกจนเกือบหมด ไปทำการสกัดโปรตีนออกจากสารตัวอย่าง โดยใช้สารเคมีชนิดต่างๆ เช่น NaOH, Na_2CO_3 , LiCl, KOH เป็นต้น เพื่อหา pH ที่มีค่าเดียวกับ isoelectric point (pI) ของโปรตีนแต่ละชนิดที่อยู่ในสารตัวอย่าง ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอน ขั้นตอนนี้ต้องใช้เวลามากในการหาจุด pI ของแต่ละครั้งจึงจะสามารถวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในสารสกัดสุดท้าย โดยส่วนใหญ่พบว่ายังมีปริมาณโปรตีนเหลืออยู่มากกว่า 5% ซึ่งจัดว่าเป็นโปรตีนตกค้างมากเกินไปในการทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์ (ตาราง 2) จึงต้องมีการปรับเปลี่ยนการใช้สารเคมีและหาจุด pI ที่ดีที่สุดเพื่อให้โปรตีนตกตะกอนแยกจากสารสกัด รูปที่ 2 เป็นตัวอย่างขั้นตอนการสกัดโปรตีนด้วยการใช้ 1M NaOH ซึ่งยังมีโปรตีนปนเปื้อนอยู่ในสารสกัด 6.5% และมีปริมาณสารสกัด 15 %yield

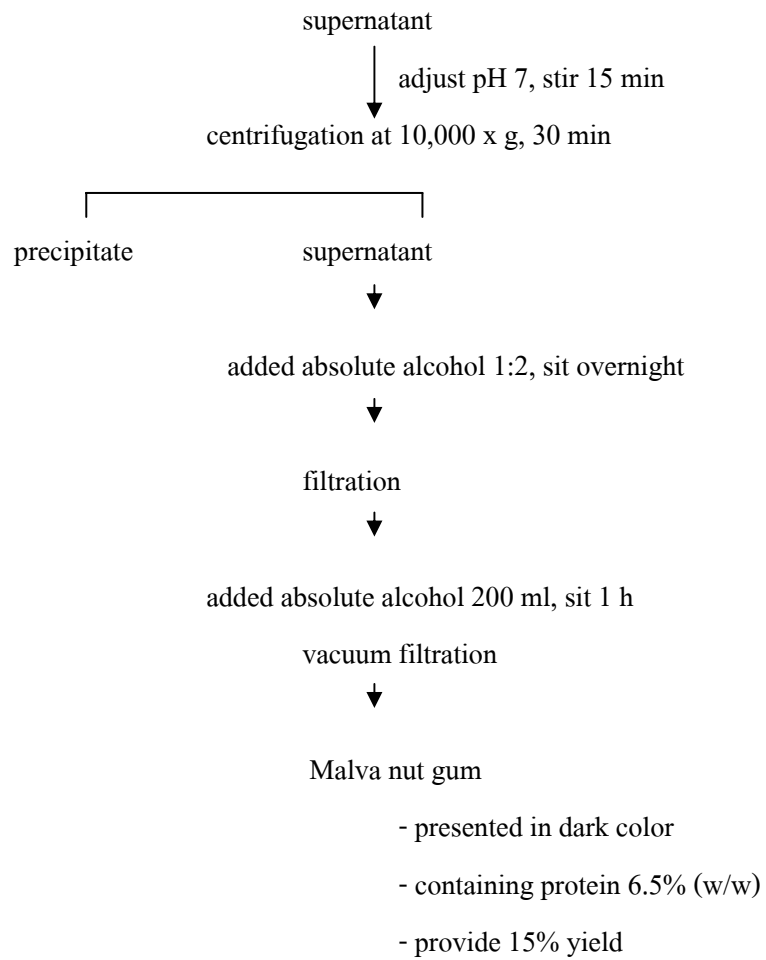
ตาราง 2 ปริมาณสารสกัด (% yield) และโปรตีนที่เหลือในสารสกัด

สารเคมี	%yield	ปริมาณโปรตีน (%)
1M NaOH	15	6.5
Na ₂ CO ₃	12	6.0
LiCl	10	5.0
KOH	16	9.0

รูป 2 ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากลูกสำรองโดยใช้สารละลาย 1M NaOH



รูป 2 (ต่อ) ขั้นตอนการสกัดโปรตีนจากลูกสำรองโดยใช้สารละลาย 1M NaOH



วิธีการทดลองที่ 2: การสกัดใยอาหารจากลูกสำโรงแบบแยกส่วน

2.1) การตรวจโครงสร้างของลูกสำโรง

ตัดลูกสำโรงแบบ cross section ใช้กล้องจุลทรรศน์ในการวิเคราะห์ ลักษณะปรากฏแบ่งออกเป็น 3 ชั้นชัดเจน คือ ส่วนเปลือกนอก ส่วนเปลือกกลาง และส่วนเนื้อใน

2.2) วิเคราะห์องค์ประกอบอาหาร

ลูกสำโรงที่แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนเปลือกนอก ส่วนเปลือกกลาง และส่วนเนื้อใน แต่ละส่วนถูกนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ไขมัน เกล็ด เยื่อใย และความชื้น

2.3) วิธีการสกัด

2.3.1) การสกัดด้วยน้ำและความร้อน

ซึ่งตัวอย่างเปลือกชั้นนอกต่อน้ำ reverse osmosis (RO) ในอัตราส่วน 1.5:100 กวนที่อุณหภูมิน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกวนที่อุณหภูมิห้องอีกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำมากรองแยกส่วนที่ละลายน้ำออก แล้วเติม 95% ethanol ในอัตราส่วน 1:1 นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4.30 ชั่วโมง

2.3.2) การสกัดด้วยน้ำ, สารเคมี และอัลตราโซนิก

ซึ่งตัวอย่างเปลือกชั้นนอกต่อน้ำ reverse osmosis (RO) ในอัตราส่วน 1:50 กวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมากรองแยกส่วนที่ละลายน้ำออก แล้วเติม 95% ethanol ในอัตราส่วน 1:1 นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4.30 ชั่วโมง สำหรับส่วนที่ไม่ละลายน้ำที่เหลือถูกนำไปเติมน้ำ หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5% (v/v) ในอัตราส่วน 1:50 จากนั้นนำสารละลายไปใส่ในเครื่องอัลตราโซนิก ที่อุณหภูมิ 60, และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, และ 30 นาที (factorial design) หลังจากนั้นนำมากรองเพื่อแยกส่วนที่ละลายน้ำออก แล้วเติม 95% ethanol ในอัตราส่วน 1:1 กรองส่วนที่ตกตะกอนออก แล้วเติม 95% ethanol ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองอีกครั้งแล้วนำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะมีน้ำหนักคงที่

2.3.3) การสกัดด้วยสารเคมี

ซึ่งตัวอย่างเปลือกชั้นนอกต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.25% (v/v) ในอัตราส่วน 1:40 กวนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 60 นาที นำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifugation) ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที

เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที นำมากรองแยกส่วนที่ละลายน้ำออก แล้วเติม 95% ethanol ในอัตราส่วน 1:1 นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะมีน้ำหนักคงที่ สำหรับส่วนที่ไม่ละลายน้ำที่เหลือนำไปผสมกับน้ำเพื่อวัดค่าความหนืด

2.3.4) การสกัดสี

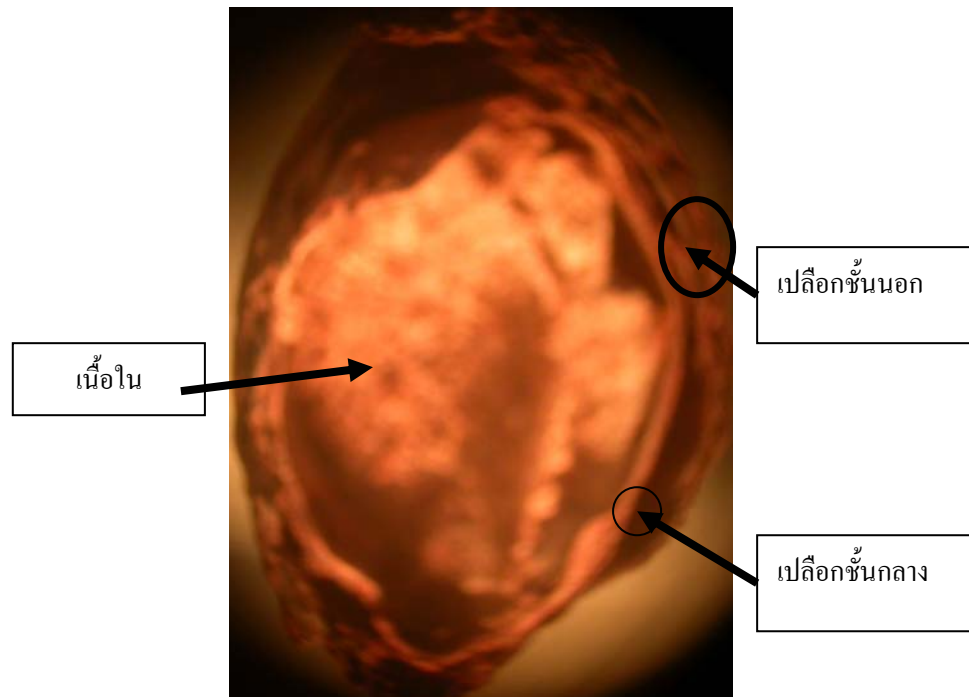
ซึ่งตัวอย่างเปลือกชั้นนอกต่อน้ำ reverse osmosis (RO) ในอัตราส่วน 1:50 กวนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที นำสารละลาย 100 มิลลิลิตรมาผสมด้วยน้ำ RO ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นด่างที่ pH 9.17 ด้วยสารละลาย 5%(v/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ หลังจากนั้นเติม 30%(v/v) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร กวนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 22 ชั่วโมง นำไปกรองแยกส่วนที่ละลายน้ำออก แล้วเติม 95% ethanol ในอัตราส่วน 1:1 นำตะกอนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะมีน้ำหนักคงที่ สำหรับส่วนที่ไม่ละลายน้ำที่เหลือถูกนำไปล้างด้วยน้ำหลายครั้งเพื่อกำจัดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำกากที่ได้ไปแยกขนาดด้วย sieving machine ขนาด 150, 300 ไมครอน นำกากที่ได้ตากแห้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วันจนกว่าจะมีน้ำหนักคงที่

2.4) ผลการทดลองของการสกัดใยอาหารจากลูกสำรองแบบแยกส่วน

2.4.1) ลักษณะโครงสร้างของลูกสำรอง

ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ (รูป 3) แสดงลักษณะปรากฏภายในของลูกสำรองเมื่อตัดลูกสำรองแบบ cross section โดยพบว่าโครงสร้างภายในของลูกสำรองแบ่งออกเป็น 3 ชั้น คือ เปลือกส่วนนอกสุดมีลักษณะสีดำ มีน้ำหนักเป็น 40% ของลูกสำรอง เปลือกชั้นกลางมีลักษณะสีน้ำตาลเข้ม เป็นชั้นบางๆ มีน้ำหนักเป็น 5-10% ของลูกสำรอง เนื้อในสุดมีลักษณะเนื้อแน่นสีขาว ขุ่น มีน้ำหนักเป็น 50-55% ของน้ำหนักลูกสำรอง

รูป 3 ลักษณะปรากฏจากการตัดขวาง (cross section) ของลูกสำรอง ด้วยกล้องจุลทรรศน์ แสดงให้เห็นโครงสร้างหลักของเปลือกชั้นนอก, เปลือกชั้นกลาง, และเนื้อภายใน



2.4.2) องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis)

ลูกสำรองแต่ละส่วน (fraction) มีองค์ประกอบของสารอาหารแตกต่างกัน ดังแสดงตารางที่ 3 เปลือกชั้นนอกเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตรวมกับเยื่อใยในปริมาณ 75.4 % (w/w) โดยมีลักษณะพองตัวเมื่อละลายน้ำ ในขณะที่เปลือกชั้นกลางมีค่าคาร์โบไฮเดรตรวมกับเยื่อใย 64.6% (w/w) แต่ไม่ละลายน้ำ สำหรับเนื้อในเป็นแหล่งของโปรตีน และไขมัน ในปริมาณ 23.9%, และ 12.3% ตามลำดับ

ตาราง 3 องค์ประกอบอาหารของลูกสำรองแต่ละส่วน

Proximate analysis (% w/w)	เปลือกชั้นนอก	เปลือกชั้นกลาง	เนื้อใน
ความชื้น	12.1 ± 0.8	10.2 ± 0.6	10.5 ± 0.5
โปรตีน	5.9 ± 0.1 ^c	17.6 ± 0.3 ^b	23.9 ± 0.5 ^a
ไขมัน	0.2 ± 0.01 ^c	0.8 ± 0.02 ^b	12.3 ± 0.04 ^a
เถ้า	6.4 ± 0.4 ^a	6.8 ± 0.3 ^a	3.0 ± 0.2 ^b
เยื่อใย	8.1 ± 0.9 ^b	22.7 ± 1.5 ^a	4.0 ± 0.5 ^c
คาร์โบไฮเดรต(โดยการคำนวณ)	67.3	41.9	46.3

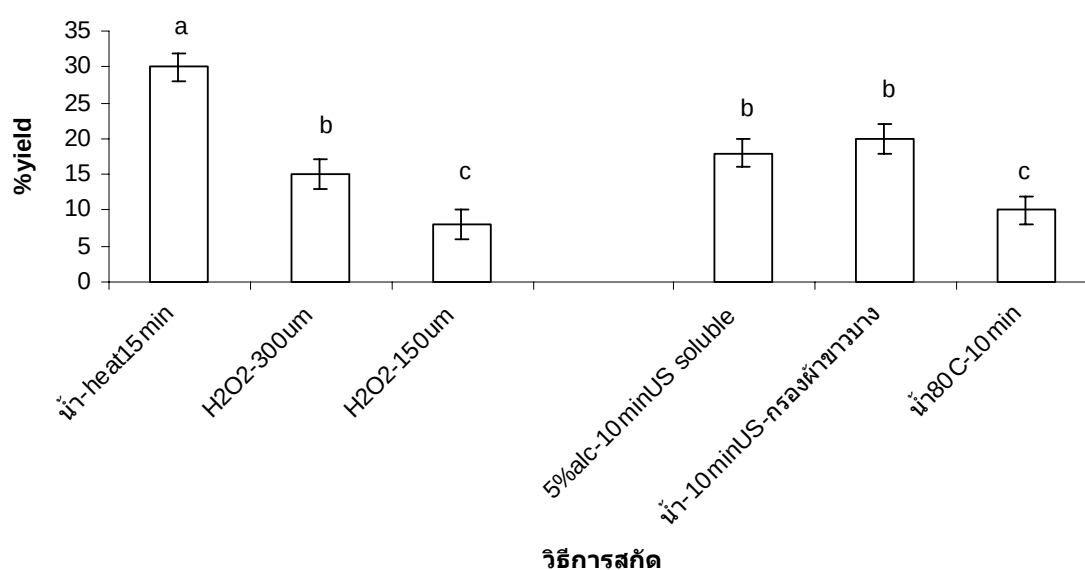
^{a,b,c} ค่าความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.05$) เปรียบเทียบในแนวนอน (row)

คาร์โบไฮเดรต คำนวณจาก 100 - โปรตีน- ไขมัน- เถ้า- เยื่อใย-ความชื้น

2.4.3) ปริมาณสารสกัด (% yield) ในแต่ละวิธีการสกัด

การสกัดใยอาหารจากลูกสำรองหลายวิธี เช่น การสกัดด้วยน้ำและความร้อน, การสกัดด้วยสารเคมี, การสกัดด้วยน้ำ หรือ สารเคมีและอัลตราโซนิก, การสกัดสีกด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้ได้ผลผลิต (%yield) ของแต่ละวิธีในส่วนที่ละลายน้ำ (soluble fraction) ในปริมาณที่ต่างกัน โดยพบว่าการสกัดด้วยน้ำและความร้อนให้ผลผลิตสูงที่สุด 30% (แสดงในรูป 4)

รูป 4 ผลผลิต (%yield) ของสารสกัดส่วนที่ละลายน้ำ



^{a,b,c} ความแตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.05$

วัตถุประสงค์ที่ 2

ศึกษาสมบัติทางกายภาพของสารสกัดจากลูกสำรอง เปรียบเทียบกับใยอาหารที่จำหน่ายในทางการค้า เช่น เพคติน, กวักม

วิธีการทดลอง

การวัดความหนืด

เตรียมสารสกัดในน้ำ RO ให้มีความเข้มข้น 1% (w/v) นำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ เพื่อให้ละลายอย่างสมบูรณ์ วัดค่าความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield model DV-III ที่ความเร็วรอบ 0.5-250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์การพองตัวในน้ำ

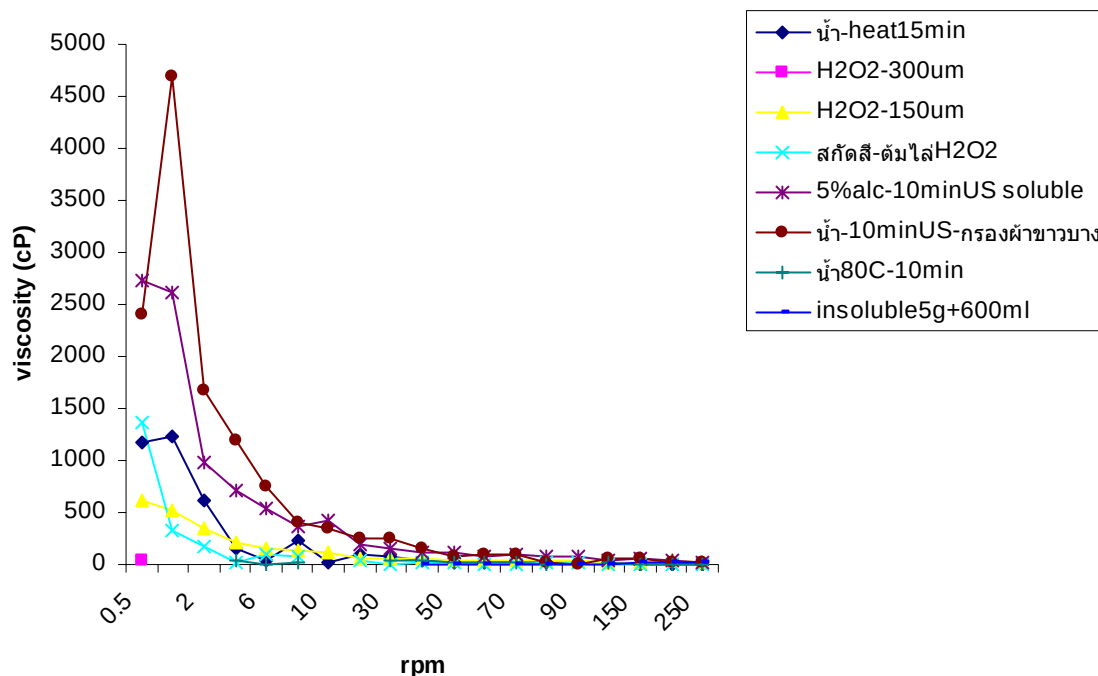
ชั่งส่วนที่ไม่ละลายน้ำที่สกัดได้น้ำหนัก 0.5 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นอยู่ปริมาณ 10 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น นำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ชั่งน้ำหนักสุดท้ายของส่วนที่ตกตะกอน แล้วคำนวณหาค่าการพองตัวหรือการบวมน้ำ โดยการหารน้ำหนักสุดท้ายด้วยน้ำหนักเริ่มต้น

ผลการทดลอง

ค่าความหนืด (viscosity)

ค่าความหนืดของส่วนที่ละลายน้ำจากวิธีการสกัดทั้งหมด (รูป 5) สามารถจัดแบ่งออกเป็นกลุ่มได้ว่า กลุ่มที่มีการใช้อัลตราโซนิกจะมีค่าความหนืดสูงที่สุด กลุ่มที่มีการสกัดสืเมื่อแยกขนาดเล็ก (150 ไมครอน) จะมีค่าความหนืดสูงรองลงมา สำหรับกลุ่มที่มีการสกัดโดยใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวจะมีค่าความหนืดต่ำที่สุด แต่ค่าความหนืดทุกค่าที่ได้จากการทดลองครั้งนี้จัดว่ามีค่าความหนืดที่สูงพอเหมาะสำหรับนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

รูป 5 ความหนืดของสารสกัดในส่วนที่ละลายน้ำ วัดด้วยเครื่อง Brookfield model DV-III
 สารสกัดที่นำมาทดสอบมีความเข้มข้น 1% (w/v) วัดที่ 25 องศาเซลเซียส



ค่าความพองตัว (swelling power)

ในการสกัดสารใดๆ มักจะได้สารส่วนที่ละลายน้ำและส่วนที่ไม่ละลายน้ำ สำหรับสารส่วนที่ไม่ละลายน้ำจากทุกวิธีการสกัดทั้งหมดในงานวิจัยครั้งนี้ได้นำไปวัดค่าการพองตัว ด้วยการนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifugation ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที พบว่าสารสกัดมีการพองตัวดูดซับน้ำไว้ ทำให้ไม่สามารถแยกน้ำออกจากเนื้อได้ เมื่อทดสอบด้วยความเร็วรอบที่สูงที่สุดของเครื่องมือ (13,000 รอบต่อนาที) พบว่ามีลักษณะเดิม คือ สารสกัดดูดซับน้ำไว้ 100% ดังนั้นจึงไม่สามารถวัดค่าความพองตัวของใยอาหารสกัดส่วนที่ไม่ละลายน้ำ อย่างไรก็ตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยครั้งนี้คือการนำใยอาหารสกัดส่วนที่ละลายน้ำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

วัตถุประสงค์ที่ 3

การลดขนาดโมเลกุลเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของใยอาหารที่สกัดได้จากลูก
สำรอง

วิธีการทดลอง

3.1) ใช้สารเคมีประเภทกรด-ด่าง (acid-alkaline treatment)

ทำการใช้ด่าง monovalent alkaline หลายชนิด (เช่น KCl, NaCl, KOH, NaOH, LiOH) และ divalent alkaline (เช่น CaCl_2 , CaSO_4 , MgSO_4) เพื่อทำการสกัดใยอาหารจากลูกสำรอง ผลพบว่ามีความแตกต่างหนึ่งจำพวก monovalent alkaline ทำให้ลูกสำรองมีการเกิดเจลสูงกว่าลูกสำรองดั้งเดิม ทั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์พันธะภายในโครงสร้างของใยอาหารที่สกัดได้เปรียบเทียบกับใยอาหารลูกสำรองดั้งเดิม ด้วยวิธี Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) ขณะนี้ได้ยื่นขอจดสิทธิบัตรต่อสำนักสิทธิบัตร กรมทรัพย์สินทางปัญญา เรื่อง “กระบวนการสกัดใยอาหารจากเมล็ดลูกสำรอง” โดยไม่พบการทับซ้อนกับสิทธิบัตรอื่นๆ และได้รับเลขที่คำขอรับสิทธิบัตร เลขที่ 0901003455 ลงวันที่ 30 กรกฎาคม 2552

3.2) การปรับปรุงโครงสร้างใยอาหารด้วยเอนไซม์

การใช้เอนไซม์ pectinase, และ cellulase เพื่อตัดแปลงโครงสร้างสารสกัดใยอาหารจากลูกสำรอง แล้วนำไปวิเคราะห์การเกิดเจล พบว่ามีการเกิดเจลคล้ายกับลูกสำรองดั้งเดิม ซึ่งอาจเกิดจากการที่เอนไซม์ไม่จำเพาะต่อโครงสร้างของลูกสำรอง อื่นๆ ยังไม่มีการรายงานในวารสารใดๆ ของข้อมูลที่สามารถชี้ชัดถึงโครงสร้างที่แท้จริงของลูกสำรอง

ผลงานวิจัยในช่วงของการใช้สารเคมี monovalent alkaline ได้ผลที่ดี (ดังข้อ 3.1) จึงยุติการใช้เอนไซม์ เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้ต้นทุนสูงและผลลัพธ์ที่ได้ขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ของเอนไซม์ ซึ่งในการทำวิจัยครั้งนี้ใช้เอนไซม์ที่บริสุทธิ์ แต่การนำไปใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมอาหารอาจจะไม่คุ้มค่ากับการลงทุน

3.3) การทดสอบสมบัติการเกิดเจล เปรียบเทียบกับใยอาหารชนิดอื่นทางการค้า (ได้แก่ เพคติน และกัวร์กัม)

เตรียมสารละลายใยอาหารทุกชนิดโดยการชั่งน้ำ (deionized water) แล้วเติมใยอาหารที่มีขนาดอนุภาค $0.5\ \mu\text{m}$ โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0.5%, หรือ 1% จากนั้นต้มสารละลายจนเดือด ปรับน้ำหนัkdั้งเดิมเพื่อทดแทนน้ำที่สูญหายในระหว่างการต้ม จากนั้นนำไปวัดค่าความหนืดและการเกิดเจลด้วยเครื่อง Paar Physica MCR 301 (Physica Messtechnik GmbH, Stuttgart,

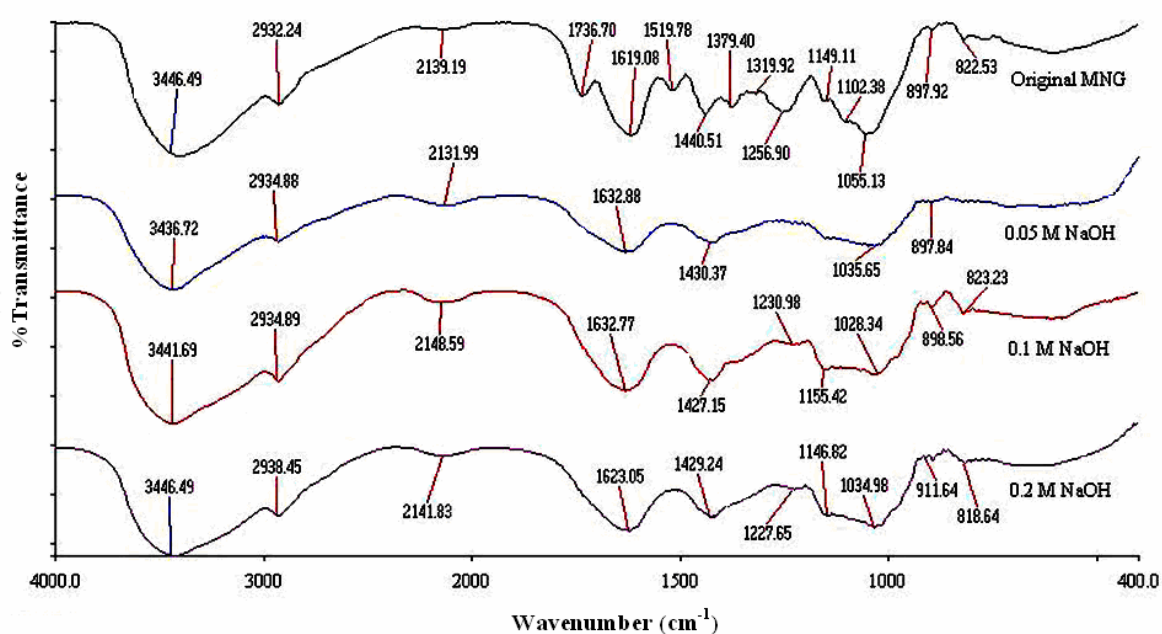
Germany) โดยใช้ถ้วยในระบบการวัด CC₁₇ ในการวัดค่าการเกิดเจลใช้ strain ระหว่าง 0.01-100% โดยมีความถี่ 10 rad/s วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ผลการทดลอง

- FT-IR

ลูกสำรองที่มีการสกัดด้วยสารละลายต่างมีโครงสร้างพันธะแตกต่างจากลูกสำรองเดิม โดยพบว่าไม่มีพันธะในช่วง 1736, 1619, 1520, 1380, 1320, 1256, 1149, and 1102 cm⁻¹ (รูป 6) ซึ่งเป็นพันธะที่เกี่ยวข้องกับกรดยูโรนิก (uronic acid) จึงอาจกล่าวได้ว่ากรดยูโรนิกทำให้เกิดการผลึกประจุระหว่างโครงสร้างโมเลกุลทำให้เกิดเจลลดลง

รูป 6 FT-IR ของใยอาหารสกัดจากลูกสำรองเปรียบเทียบกับใยอาหารจากลูกสำรองปกติ

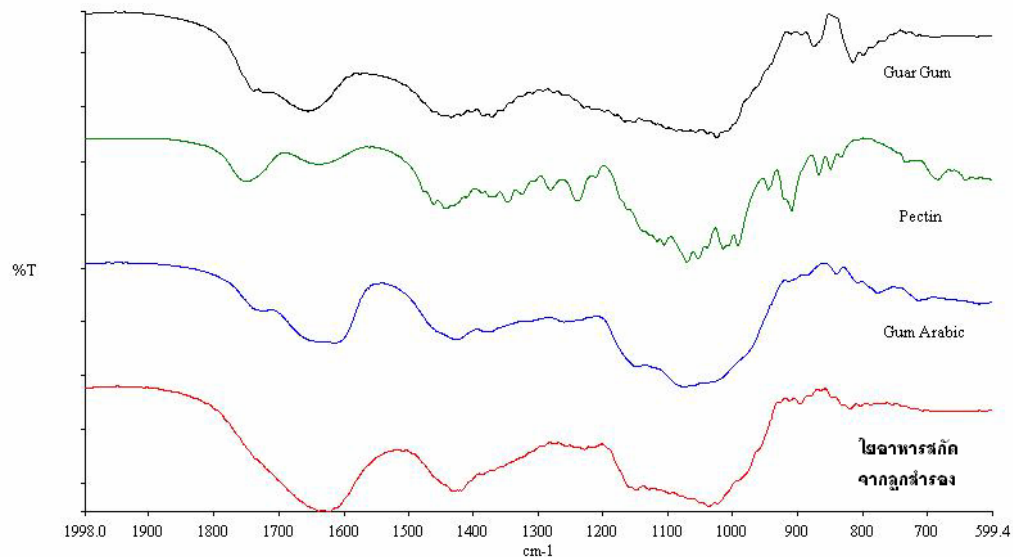


- เปรียบเทียบโครงสร้างโมเลกุลกับใยอาหารที่จำหน่ายทางการค้า

ใยอาหารสกัดจากลูกสำรองมีพันธะที่น้อยกว่าเพคตินและกัวกัมอย่างชัดเจน (รูป 7) แต่มีลักษณะ FT-IR คล้ายกับกัมอราบิก (gum Arabic) อย่างไรก็ตามเมื่อผู้วิจัยทดสอบคุณสมบัติการเกิดเจลด้วยการวัด Rheology ผลพบว่ากัมอราบิกไม่เกิดเจล ถึงแม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นกัมอรา

บิกเป็น 30% (w/w) จึงสรุปได้ว่า กราฟ FT-IR มีความคล้ายคลึงกันแต่ไม่สามารถแสดงคุณสมบัติทางกายภาพได้ชัดเจน

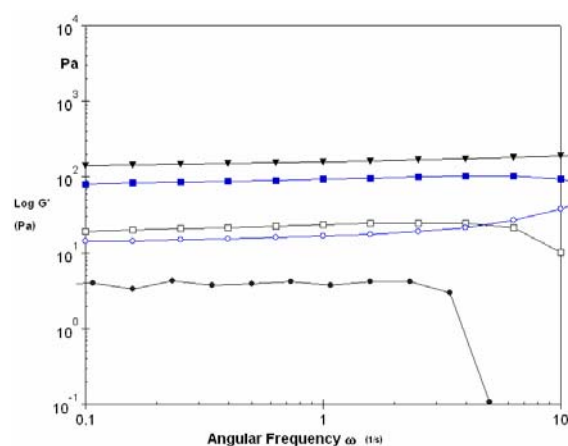
รูป 7 เปรียบเทียบ FT-IR ระหว่างโยอาหารสกัดจากลูกสำรองและโยอาหารที่วางจำหน่าย



- คุณสมบัติการเกิดเจลของสารสกัด

นำสารสกัดไปทดสอบสมบัติทาง rheology พบว่าสารสกัดมีค่าความหนืดและการเกิดเจลสูงกว่าเพคติน อนึ่งต้องใช้เพคตินสูงถึง 2%(w/v) จึงมีค่าการเกิดเจลสูง เพื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.5% (w/v) (รูป 8)

รูป 8 เปรียบเทียบการเกิดเจลระหว่าง 0.5% โยอาหารสกัดจากลูกสำรอง และ 2%เพคติน



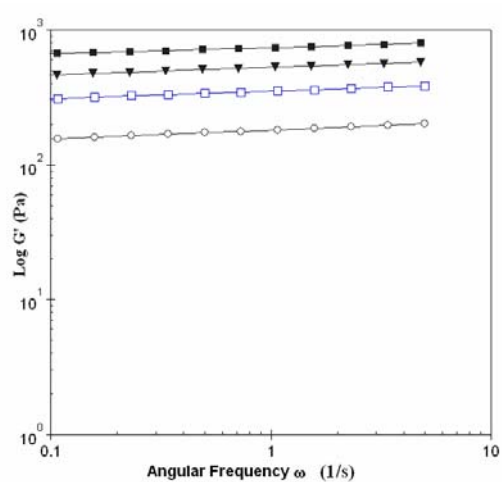
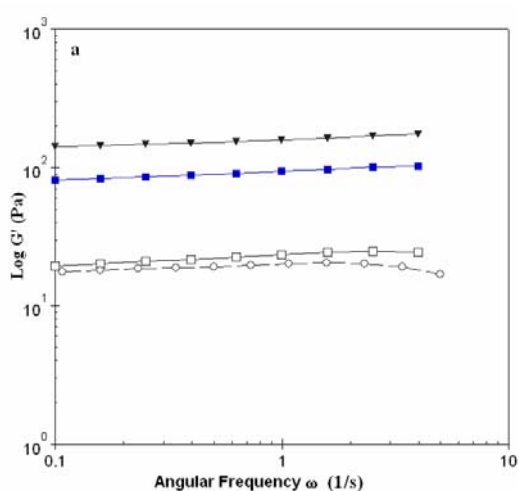
- อิทธิพลของความเข้มข้นต่อการเกิดเจล

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นโยอาหารสกัดจากลูกสำรอง จาก 0.5% (w/w) เป็น 1%(w/w) ผลพบว่ามีการเกิดเจลเพิ่มขึ้นมาก (รูป 9) ซึ่งเป็นสิ่งที่ดีสำหรับการใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการความเป็นเจลหรือความหนืดสูง

รูป 9 เปรียบเทียบโยอาหารสกัดจากลูกสำรองและโยอาหารลูกสำรองปกติ

(รูปซ้าย) ความเข้มข้น 0.5% (w/w) (รูปขวา)ความเข้มข้น 1% (w/w)

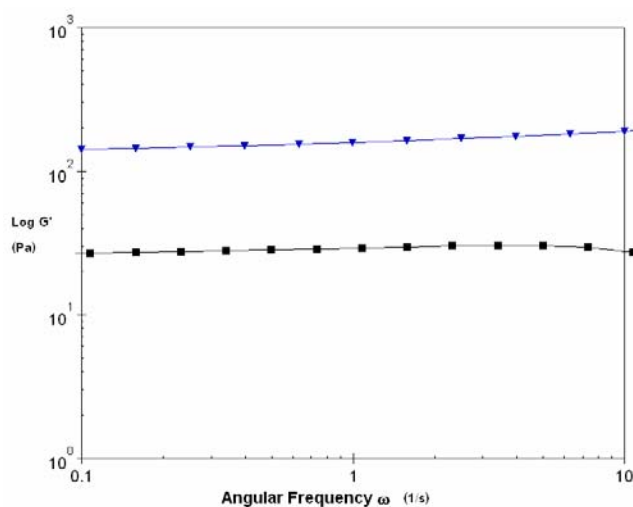
(▼ 0.05 M NaOH, ■ 0.1 M NaOH, □ 0.2 M NaOH, ○โยอาหารลูกสำรองปกติ)



- การเกิดเจลในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์

โยอาหารสกัดจากลูกสำรองและโยอาหารจากลูกสำรองที่ความเข้มข้น 0.5% (w/w) เมื่อผสมกับโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5% (w/w) พบว่าสารละลายไม่เกิดเจล แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโยอาหารเป็น 1%(w/w) โดยที่เกลือโซเดียมคลอไรด์มีความเข้มข้น 0.5% (w/w) ผลพบว่าสารละลายมีการเกิดเจล แต่การเป็นเจลลดลงจากการใช้โยอาหารเข้มข้น 0.5%(w/w) เพียงอย่างเดียว (รูป 10)

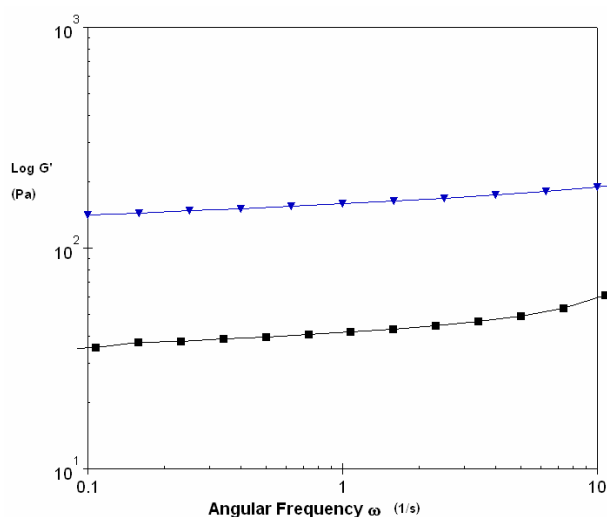
รูป 10 โยอาหารสกัดความเข้มข้น 0.5% (w/w) (▼); โยอาหารสกัดความเข้มข้น 1% (w/w) ผสม
เกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 0.5% (w/w) (■)



- การเสริมฤทธิ์เมื่อผสมกับโยอาหารชนิดอื่น (synergism)

โยอาหารสกัดจากลูกสำรองความเข้มข้น 0.5% (w/w) ผสมกับ กวักัม (guar gum) ความเข้มข้น 0.5% (w/w) แล้วผสมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 0.5% (w/w) ผลพบว่าสารละลายมีการเกิดเจล ทั้งนี้ค่าเจลที่แสดงมีค่าต่ำกว่าสารละลายโยอาหารสกัดจากลูกสำรองความเข้มข้น 0.5% (w/w) เพียงอย่างเดียว (รูป 11) แสดงว่าการใช้โยอาหารสองชนิดร่วมกัน ทำให้ความเป็นเจลของโยอาหารจากลูกสำรองไม่แยกจากกัน (no macroscopic separation)

รูป 11 โยอาหารสกัดความเข้มข้น 0.5% (w/w) (▼); โยอาหารสกัดความเข้มข้น 0.5% (w/w)
ผสมกวักัม 0.5% (w/w) ผสมเกล็ดโซเดียมคลอไรด์ 0.5% (w/w) (■)



วัตถุประสงค์ที่ 4

ศึกษาผลของใยอาหารบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากลูกสำรอง ต่อการลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกันถุง dialysis

วิธีการทดลอง

การทดสอบการแพร่ของสารละลายผ่านผนังกันถุง dialysis เป็นวิธีที่ถูกพัฒนาโดยนักวิทยาศาสตร์บางท่าน หลักการของวิธีนี้คือการผสมตัวถูกละลาย 2 ชนิดไว้ในถุง dialysis จากนั้นนำไปแช่ในภาชนะที่บรรจุน้ำ deionized ที่ไม่มีตัวถูกละลาย แล้วนำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เพื่อเป็นการเลียนแบบอุณหภูมิของร่างกายมนุษย์ ทำการเก็บสารละลายในส่วนน้ำ deionized เมื่อเวลาผ่านไป 15, 30, 60, 90, 120 นาที ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ซึ่งเวลาที่กำหนดนี้ ผู้วิจัยได้แนวคิดมาจากการเลียนแบบการประเมินระดับน้ำตาลในเลือดของมนุษย์ภายหลังการได้รับสารละลายกลูโคส

งานวิจัยครั้งนี้ได้ออกแบบทดสอบสารสกัดจากลูกสำรอง (เรียกว่า extracted MNG) เปรียบเทียบกับใยอาหารจากลูกสำรองที่จำหน่าย (เรียกว่า original MNG) นอกจากนี้ยังทำการเปรียบเทียบผลงานวิจัยกับใยอาหารกาวกัม (guar gum), และเซลลูโลส (cellulose) เพื่อทดสอบว่าสารสกัดจากลูกสำรองมีคุณสมบัติการป้องกันการแพร่ของกลูโคสใกล้เคียงกับใยอาหารชนิดละลายน้ำหรือใยอาหารชนิดไม่ละลายน้ำ

งานวิจัยครั้งนี้ทำการทดสอบความสามารถของใยอาหารแต่ละชนิดในการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ α - amylase ซึ่งทดสอบด้วยการผสมสารละลายแป้งที่มีความเข้มข้น 4%(w/w) กับใยอาหารแต่ละชนิดในถุง dialysis หลังจากนั้นนำไปใส่ในภาชนะที่มีน้ำ deionized แล้ววางในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เพื่อเก็บสารละลายส่วนน้ำ deionized ปริมาตร 2 มิลลิลิตรเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสที่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ α - amylase

ปริมาณกลูโคสที่ผ่านผนังกันถุง dialysis ถูกนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีการทาง HPLC (บริษัท Shimadzu, Kyoto, Japan) ซึ่งมีการใช้คอลัมน์ Inertsil® NH₂ 5 μ m, dimension 4.6 x 250 mm. เฟสเคลื่อนที่คือ CH₃CN/H₂O: 75/25 โดยมีอัตราการไหล 1.0 mL/min ที่อุณหภูมิ 40 °C. การตรวจสัญญาณใช้ refractive index detector ซึ่งสามารถวัดสารได้ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.01 mmol/L. เป็นต้นไป

ผลการทดลอง

ใยอาหารสกัดจากลูกสำรองสามารถลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกันถุง dialysis ได้ดีใกล้เคียงกับกัวกัม (ตาราง 4) ทั้งนี้มีรายงานวิทยาศาสตร์จำนวนมากที่แสดงว่ากัวกัมสามารถชะลอการดูดซึมกลูโคสในระบบทางเดินอาหารสัตว์ทดลองและมนุษย์ ถึงแม้ว่าการทดสอบในครั้งนี้จะไม่สามารถสรุปผลดีของการใช้ใยอาหารสกัดจากลูกสำรองในร่างกายสัตว์ทดลองหรือมนุษย์ แต่จากผลที่ได้ทำให้เห็นแนวโน้มของการลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสได้ดีกว่าการใช้ใยอาหารจากลูกสำรองเดิมที่วางจำหน่าย

ตาราง 4 ผลของใยอาหารชนิดต่างๆที่มีความเข้มข้น 0.5% (w/w) ต่อการลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกันถุง dialysis

ใยอาหารชนิดต่างๆ	กลูโคสใน dialysate (mM)				
	15 นาที	30 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที
กลูโคส	7.27 ± 0.50 ^a	8.12 ± 0.22 ^a	10.11 ± 0.41 ^a	12.45 ± 0.25 ^a	13.29 ± 0.29 ^a
เซลลูโลส	7.12 ± 0.08 ^a	7.57 ± 0.13 ^a	8.65 ± 0.25 ^b	10.50 ± 0.40 ^b	12.43 ± 0.17 ^b
ใยอาหารลูกสำรองที่วางจำหน่าย	4.42 ± 0.20 ^b	5.59 ± 0.21 ^b	6.41 ± 0.21 ^c	7.49 ± 0.31 ^d	10.36 ± 0.16 ^d
ใยอาหารสกัดด้วยต่างเข้มข้น 0.05 M	2.91 ± 0.10 ^c	3.62 ± 0.22 ^d	5.16 ± 0.16 ^d	8.10 ± 0.10 ^c	11.56 ± 0.36 ^c
ใยอาหารสกัดด้วยต่างเข้มข้น 0.1 M	3.20 ± 0.10 ^c	4.27 ± 0.22 ^c	4.53 ± 0.35 ^{de}	6.42 ± 0.11 ^e	11.26 ± 0.15 ^c
ใยอาหารสกัดด้วยต่างเข้มข้น 0.2 M	3.28 ± 0.22 ^c	4.46 ± 0.16 ^c	5.55 ± 0.10 ^d	7.11 ± 0.09 ^{de}	8.27 ± 0.25 ^e
กัวกัม (Guar gum)	2.63 ± 0.05 ^c	3.13 ± 0.05 ^d	3.80 ± 0.10 ^e	3.83 ± 0.05 ^f	5.11 ± 0.10 ^f

ค่าในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± S.E.

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละ column แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

การใช้ใยอาหารร่วมกับอาหารจำพวกแป้งอาจมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากใยอาหารที่มีการพองตัวหรือมีความหนืดจะทำให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับแป้งได้ตามปกติ จึงมีกลูโคสที่จะถูกดูดซึมน้อยลง ซึ่งเป็นผลดีต่อบุคคลที่เป็นโรคเบาหวาน จากผลการทดลองพบว่าใยอาหารสกัดจากลูกสำรองทำให้มีปริมาณกลูโคสใน dialysate ลดลง จึงอาจจะหมายถึงการที่เอนไซม์อะไมเลสไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยา

กับแบ่งได้ดังปกติ การผสมใยอาหารสกัดจากลูกสำรองร่วมกับกัวกัม จะทำให้เห็นผลดีเพิ่มขึ้น จึงเป็นการแสดงว่ามีการเสริมฤทธิ์การทำงานของใยอาหารทั้งสองชนิด (ตาราง 5)

ตาราง 5 ผลของใยอาหารชนิดต่างๆที่มีความเข้มข้น 0.5% (w/w) ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสในการย่อยแป้งเพื่อให้ได้กลูโคสแล้วเคลื่อนที่ผ่านผนังกันถุง dialysis

ใยอาหารชนิดต่างๆ	กลูโคสใน dialysate (mM)				
	15 นาที	30 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที
กลูโคส	1.26 ± 0.15 ^a	1.43 ± 0.08 ^a	1.48 ± 0.12 ^a	1.65 ± 0.20 ^a	1.75 ± 0.16 ^a
ใยอาหารลูกสำรองที่วางจำหน่าย	0.21 ± 0.02 ^b	0.26 ± 0.03 ^c	0.78 ± 0.15 ^b	1.21 ± 0.10 ^{ab}	1.57 ± 0.10 ^{ab}
ใยอาหารสกัดด้วยด่างเข้มข้น 0.05 M	0.61 ± 0.10 ^b	0.62 ± 0.12 ^b	0.68 ± 0.08 ^b	0.82 ± 0.10 ^b	1.08 ± 0.08 ^b
ใยอาหารสกัดด้วยด่างเข้มข้น 0.1 M	0.62 ± 0.15 ^b	0.68 ± 0.15 ^b	0.73 ± 0.15 ^b	1.20 ± 0.10 ^{ab}	1.33 ± 0.15 ^{abc}
ใยอาหารสกัดด้วยด่างเข้มข้น 0.2 M	0.23 ± 0.05 ^b	0.55 ± 0.10 ^b	0.69 ± 0.20 ^b	0.65 ± 0.15 ^b	0.90 ± 0.01 ^c
กัวกัม (Guar gum)	0.52 ± 0.05 ^b	0.57 ± 0.05 ^b	0.66 ± 0.10 ^b	0.85 ± 0.10 ^b	1.28 ± 0.10 ^{abc}
ใยอาหารลูกสำรองที่วางจำหน่ายผสมกัวกัม	0.18 ± 0.05 ^b	0.58 ± 0.10 ^b	0.61 ± 0.05 ^b	0.79 ± 0.08 ^b	1.11 ± 0.09 ^{bc}
ใยอาหารสกัดด้วยด่างเข้มข้น 0.05 M + กัวกัม	0.17 ± 0.03 ^b	0.19 ± 0.01 ^c	0.42 ± 0.10 ^b	0.77 ± 0.05 ^b	1.18 ± 0.10 ^{bc}
ใยอาหารสกัดด้วยด่างเข้มข้น 0.1 M + กัวกัม	0.43 ± 0.10 ^b	0.56 ± 0.10 ^b	0.57 ± 0.08 ^b	1.22 ± 0.10 ^{ab}	1.33 ± 0.18 ^{abc}
ใยอาหารสกัดด้วยด่างเข้มข้น 0.2 M + กัวกัม	0.23 ± 0.10 ^b	0.26 ± 0.03 ^c	0.57 ± 0.05 ^b	0.67 ± 0.15 ^b	1.28 ± 0.10 ^{abc}

ค่าในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± S.E.

^{a-f} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละ column แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลูกสำรองแบ่งออกได้เป็น 3 ชั้น คือ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นกลาง และเนื้อใน เปลือกชั้นนอกเป็นส่วนที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด ประกอบกับการพองตัวเมื่อละลายน้ำ จึงนำเปลือกชั้นนอกมาสกัดใยอาหารด้วยวิธีทางเคมี ใยอาหารที่สกัดได้เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าการเกิดเจลพบว่า มีการเกิดเจลสูงกว่าใยอาหารเดิม และสามารถลดการเคลื่อนที่ของกลูโคสผ่านผนังกั้นถุง dialysis ได้ดีกว่าใยอาหารเดิม

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

ใยอาหารสกัดจากลูกสำรองมีแนวโน้มที่ดีในการลดการดูดซึมกลูโคสในระบบทางเดินอาหาร จึงควรทำการทดสอบประสิทธิภาพในสัตว์ทดลอง เพื่อประเมินกลไกการทำงานของร่างกาย (เมตาบอลิซึม) ที่เปลี่ยนแปลงหลังจากได้รับใยอาหารสกัดเป็นระยะเวลานาน

เอกสารอ้างอิง

- กรมศุลกากร. 2004. *Import/export statistics from Jan-Oct 2004*. <http://www.customs.go.th/statistic>
- กระทรวงสาธารณสุข. 2550. ข่าวช่อง 7 วันที่ 24 กันยายน 2550 เวลา 19.30 น.
- Fontaine K.R., Redden D.T., Wang C., Westfall A.O., Allison D.B. 2003. Years of life lost due to obesity. *JAMA* 289, 187-93
- Kovacs E.M.R., Westerterp-Plantenga M.S., Saris W.H.M., Goossens I., Geurten P., Brouns F. 2001. The effect of addition of modified guar gum to a low-energy semisolid meal on appetite and body weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25, 307 -315.
- Schneeman BO. 2002. Gastrointestinal physiology and functions. *Br J Nutr* 88 (suppl 2): S159-S163.

