Published Online: 03 Dec 2020

การศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารฟินอลิคจากผลิตภัณฑ์แปรรูปในผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบชนิดเนื้อล้วนและผสมเปลือก

The Comparison Amount of Antioxidant and Total Phenolic Content from Processed Products in Pulp and Mixed Peel of Raw Cultivated Banana Starch

ณัฐพร กวีศรีสุวรรณ
อีเมล์ : nongmoo.naty4@gmail.com
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภัครวรรธน์ สิทธิประภาพร
อีเมล์ : drwichian.s@gmail.com
สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหรือเหนี่ยวนำ ให้เกิดโรคร้ายหลายชนิด สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นหรือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระได้ ซึ่งกล้วยน้ำว้าดิบเป็นผลไม้ที่ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระหลายประเภท เช่น สารประกอบฟินอลิค ช่วยชะลอวัยและลดความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ ได้ การแปรรูปกล้วยน้ำว้าดิบ ให้เป็นผงเป็นอีกทางเลือกที่ดีสำหรับผู้บริโภค จึงเป็นที่มาของการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระและค่าสารฟินอลิคในผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ทั้งแบบที่เป็นชนิดเนื้อล้วนและเนื้อผสมเปลือกโดยนำกล้วยน้ำว้าดิบ มาผ่านกระบวนการแปรรูปให้เป็นผงแป้ง 2 ชนิด ชนิดแรก คือ เนื้อกล้วยล้วน ชนิดที่สอง คือ เนื้อกล้วยผสมเปลือก แล้วจึงนำไปทดลองเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)และ หาค่าสาร Total phenolic content โดยวิธี folin-Ciocalteu reagent ในตัวอย่างทั้งสองชนิด

ซึ่งผลจากการศึกษาพบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสาร total phenolic content ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก ทั้งสองกลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)

คำสำคัญ: กล้วยน้ำว้าดิบ, แป้งกล้วย, สารต้านอนุมูลอิสระ, สารฟินอลิค

Published Online: 03 Dec 2020

Abstract

Free radicals are the importance cause of disease or induced causing many kinds of disease. Antioxidant Is a substance that acts to inhibit or resist oxidation or substances that can prevent or slow down the oxidation of free radicals. Which raw banana is a fruit that contains many types of antioxidants such as phenolic compounds, it helps slow down aging and reduce the risk of various diseases. Processing raw banana to starch is another good choice for consumers. This is the source of study to compare the antioxidant content and phenolic values in the raw cultivated banana starch, both types of meat and mixed with peels, by using raw cultivated banana comes through the process of processing into 2 kinds of starch.

The first is the pure banana pulp, the second is the mixed banana peel ,and then put it to trial antioxidant activity was compared by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and total phenolic content was determined by folin-Ciocalteu reagent method in both samples.

The results of the study showed that the antioxidant content and total phenolic content of the raw cultivated banana starch,both groups of them were significantly different ($p < 0.001$) .

Keywords: Raw Cultivated Banana, Cultuivated Bananna Starch, Antioxidant, Total Phenolic Content

บทนำ

จากสภาวะสิ่งแวดล้อมในประเทศไทยที่เปลี่ยนแปลงไปในปัจจุบัน ทำให้ประชากรมีพฤติกรรมการบริโภค และการดำรงชีวิตคล้ายคลึงกับสังคมตะวันตกมากขึ้น ซึ่งส่งผลให้ร่างกายได้รับสารพิษในรูปแบบต่าง ๆ เช่น การทำงานของสารชีวโมเลกุลเกิดความบกพร่อง ทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ เปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันกับ โปรตีนทำงานผิดปกติ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหรือเหนี่ยวนำ ให้เกิดโรคร้ายหลายชนิด เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง ความเสื่อมของเซลล์ประสาท ภาวะความชรา ผิวหนังเกิดรอยเหี่ยวย่น (wrinkle) และเกิดเป็นจุดสี (lipofuscin spot) เป็นต้น การศึกษาวิจัยเพื่อหาสารที่มีผลเสียต่อร่างกายและสารที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเสริมสุขภาพที่ดีของร่างกายจึงได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะงานวิจัยที่เกี่ยวกับอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ

กล้วยน้ำว้า คือผลไม้ไทย ที่มีสรรพคุณเป็นยาป้องกันและรักษาโรคได้หลายโรค และยังเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีสารอาหารครบทุกชนิด ที่ร่างกายต้องการ คือ มีทั้ง โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เกลือแร่ วิตามิน และน้ำ จากการที่กล้วยโดยเฉพาะกล้วยน้ำว้า เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และยังมีคุณสมบัติที่ย่อยง่ายทางการแพทย์จึงได้เลือกให้กล้วยน้ำว้าสุกเป็น

อาหารเสริมในวัยทารก น้ำตาลที่เกิดจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงของแป้งขณะที่กล้วยสุกมีคุณสมบัติพิเศษคือ เมื่อกล้วยตกไปถึงลำไส้จะทำให้ลำไส้มีฤทธิ์เป็นกรด ซึ่งจะเป็นตัวช่วยให้แคลเซียมถูกดูดซึมง่ายและสมบรูณ์ขึ้น จึงนับว่าน้ำตาลในกล้วยมีคุณค่ากว่าน้ำตาลที่ได้จากธัญพืชอื่นๆ กล้วยน้ำว้าดิบ มีสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดปริมาณสารอนุมูลอิสระในร่างกายได้ดี จึงช่วยชะลอวัยและลดความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ ได้ ด้วยเหตุผลที่คนไม่นิยมรับประทานกล้วยดิบ เพราะกล้วยดิบมียางปริมาณมาก จึงทำให้มีรสฝาดรับประทานยาก จึงมีการแปรรูปนำกล้วยดิบมาเปลี่ยนให้เป็นแป้ง “กล้วยดิบ”

ทั้งนี้ผู้ทำวิจัยเห็นถึงคุณประโยชน์ จากการแปรรูปกล้วยน้ำว้าดิบ ให้เป็นผง เป็นอีกทางเลือกนึงที่สามารถช่วยเหลือเกษตรกรไทยและได้นำผลไม้ไทยในท้องถิ่น มาใช้ประโยชน์ได้และเพิ่มมูลค่าให้สินค้าทางการเกษตร อีกทั้งเพื่อนำไปศึกษาต่อถึงคุณประโยชน์ทางด้านสุขภาพและเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้ร่างกายด้วยคุณค่าจากสารต้านอนุมูลอิสระจากผงกล้วยน้ำว้าดิบ ก็จะทำให้คนไทยได้บริโภค ผลิตภัณฑ์ ที่ราคาย่อมเยา หาได้ง่าย ไม่จำเป็นต้องนำเข้าผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระจากต่างประเทศ จึงเป็นที่มาของการศึกษาหาปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระและค่า Total Phenolic content ในผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบนี้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสาร Total Phenolic content ในผงกล้วยน้ำว้าดิบแบบเนื้อล้วนและแบบผสมเปลือกกล้วย

การทบทวนวรรณกรรม

อนุมูลอิสระ (freeradicals) คืออะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Unpaired electron) ทำให้โมเลกุลมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยาสูง อนุมูลอิสระจะเข้าไปแย่งจับอิเล็กตรอนจากสารอื่นเพื่อให้ตัวมันเสถียรขึ้น โมเลกุลที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนมาจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่และเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป (Halliwell, 1991) สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นหรือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระได้ (รัตนา ม่วงรัตน์, พงศธร ถ้ำทอง และจรัสศรี หลวงพันธ์, 2555)

สารประกอบฟีนอลิค (phenolic) จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติในพืชหลากหลายชนิด โดยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระนั้นอาจเป็นได้หลายแบบ เช่น การลดพลังงานของสารอนุมูลอิสระ การขัดขวางและการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นต้น โมเลกุลของสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปทำปฏิกิริยาด้วยการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระแล้วทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของสารอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง และไม่เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระตัวใหม่

เนื่องจากโมเลกุลของสารต้านอนุมูลอิสระมีความเสถียร ไม่ว่าในโครงสร้างหลังการเกิดปฏิกิริยาจะมีอิเล็กตรอนเดี่ยวหรือคู่ ถือได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระเป็นตัวขจัดปฏิกิริยาลูกโซ่ที่จะเข้าไปทำลายโมเลกุลสารในร่างกาย การชะลอและป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์ ดังนั้นจึงมีงานวิจัยต่าง ๆ ให้ความสำคัญในการหาปริมาณหรือแม้กระทั่งสกัดสารประกอบฟินอลิคในพืชหลากหลายชนิด เพื่อนำมาใช้ประโยชน์เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพและเวชสำอาง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Turkmen Sari and Velioglu (2005) ได้ทำการศึกษาถึงผลของวิธีการประกอบอาหารต่อปริมาณฟินอล ทั้งหมดและฤทธิ์ในการต้านอมูลอิสระของผักสีเขียวที่ทำการคัดเลือกไว้ (The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables) ได้แก่ถั่วเขียว (green beans) ถั่วลันเตา (peas) พริกไทย (pepper) สควอช (squash) บรอคโคลี่ (broccoli) กระเทียมต้น (leek) และ ปวยเล้ง (spinach) ซึ่งทำ การตรวจวัดค่าความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และตรวจวัดปริมาณสารฟินอลิคทั้งหมดด้วย วิธี Folin–Ciacalteu reagents ทั้งก่อน และหลังการประกอบอาหาร พบว่าสารฟินอลิคทั้งหมดในพริกไทย บรอคโคลี่ และปวยเล้ง มีปริมาณสารฟินอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผ่านการอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟ ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วเขียว มีระดับ เพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อ ผ่านการอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟ รองลงมาคือพริกไทย ปวยเล้ง และบรอคโคลี่

การศึกษาของ รัตนา ม่วงรัตน์ และคณะ (2559) ได้ทำการศึกษาการสกัดสารประกอบฟินอลิคทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยเทคนิค การสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติและปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟินอลิคทั้งหมด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย (เอทานอล น้ำ และตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) จากการศึกษาสรุปได้ว่าตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วน โดยน้ำหนัก 1:1) สามารถสกัดสารประกอบ ฟินอลิคทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ได้มากที่สุดและมีความสามารถสกัดได้ดีกว่าน้ำ และเอทานอลตามลำดับ อีกทั้งเปลือกกล้วย หอมทองแห้งเมื่อนำมาสกัดจะได้ปริมาณสาร ประกอบฟินอลิคทั้งหมดมากกว่าเปลือกกล้วย หอมทองสด

Arya and Sinija (2016) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด จากปลีกล้วย 2 สายพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศอินเดีย คือ Musa spp. Poovan และ Musa spp. Monthan โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและน้ำกลั่น พบว่าสารสกัดปลีกล้วยสายพันธุ์ Poovan ด้วยเอทานอลสามารถดักจับอนุมูลอิสระDPPHได้ดีกว่าสารสกัด จากปลีกล้วยสายพันธุ์ Mohammad, Saleha, Ehsanul and Sohel (2011)ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองโดยใช้วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) จากการสกัดในส่วนต่าง ๆ ของกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L.)ได้แก่

เนื้อ เปลือก และเมล็ด ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) จาก เมล็ด มีมากที่สุดเมื่อเทียบกับ เปลือก และ เนื้อของกล้วยน้ำว้าตามลำดับ โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 54.92 µg / ml

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. ระเบียบวิธีวิจัย

รูปแบบงานวิจัย (study design) เป็นแบบการทดลองในห้องปฏิบัติการ (laboratory research) โดยนำกล้วยน้ำว้าดิบ มาผ่านกระบวนการแปรรูปให้เป็นผงแป้ง 2 ชนิด ชนิดแรก คือ เนื้อกล้วยล้วน ชนิดที่สอง คือ เนื้อกล้วยผสมเปลือก แล้วจึงนำไปทดลอง เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)และ หาค่าสาร Total phenolic content โดยวิธี folin-Ciocalteu reagent ในตัวอย่างทั้งสองชนิด

2. ขั้นตอนการทำวิจัย

วิธีการทำแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ (ชนิดเนื้อล้วน)

วัตถุดิบ

1. กล้วยน้ำว้าดิบ จากอำเภอสทิงพระ จ.สงขลา ความสุกร้อยละ 70-80 นับเป็นอายุคือวันตั้งแต่กล้วยแทงช่อดอกหรือแทงปลีออกมาจนถึงวันที่เก็บเกี่ยวมาทำวัตถุดิบ อายุ 14-16 สัปดาห์ จำนวน 1 หวี (14 ผล)

2. น้ำส้มสายชู

ขั้นตอนการทำ

1. นำกล้วยดิบตัดแยกเป็นผล ล้างด้วยน้ำให้สะอาด

2. ลวกในน้ำเดือดเป็นเวลา 60 วินาที เพื่อให้ไม่มียางเหนียว ซึ่งยากต่อการลอกเปลือกออก และยังคงรักษาคุณค่าทางสารอาหารได้ หลังจากนั้นจึงนำขึ้นพัก

3. หั่นหัวท้าย และปอกเปลือกและ ฝานเป็นชิ้น แนวนอน ซึ่งจะใช้เวลาที่รวดเร็วและ สะดวกในการจัดเรียงในเตาอบกว่าหั่นแบบเป็นแว่น

4. นำกล้วยที่ฝานแล้ว แช่ในน้ำอุณหภูมิห้องที่ผสมน้ำส้มสายชู 2ช้อนชา ต่อ น้ำ 500 ซีซี เพื่อไม่ให้มีสีดำ เสร็จแล้วจึงนำขึ้นผึ่งให้สะเด็ดน้ำ บนตะแกรง เมื่อสะเด็ดน้ำดีแล้ว จึงนำกล้วยไปเรียงในถาด

5. นำเข้าอบ ในเครื่องอบแห้งแบบใช้ลมร้อน ยี่ห้อ Royals Berg รุ่น 5ชั้น RB.959 ควบคุมอุณหภูมิ 50 – 65 °C จนแห้งกรอบ ตามวิธีของ (Bocco, Cuvelier, Richard & Berset, 1998; ขวัญดาว แจ่มแจ้ง, 2557) เพื่อรักษาคุณค่าทางอาหารไว้ ใช้เวลา 8 ชั่วโมง

6. หลังจากครบเวลา 8 ชั่วโมง นำกล้วยที่กรอบแห้ง ไปบดให้เป็นผง โดยใช้เครื่องปั่นพลังสูง แล้วร่อนผ่านตะแกรงร่อน บรรจุในภาชนะบรรจุ

Published Online: 03 Dec 2020

ปริมาณที่ได้

กล้วยน้ำว้าดิบ 1 หวี (14 ผล) ได้ปริมาณผงแป้งกล้วยเนื้อล้วน 220 กรัม

วิธีการทำแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ (ชนิดเนื้อผสมเปลือก)

วัตถุดิบ

1. กล้วยน้ำว้าดิบ จากอำเภอสทิงพระ จ.สงขลา ความสุกร้อยละ 70-80 นับเป็นอายุคือวันตั้งแต่กล้วยแทงช่อดอกหรือแทงปลีออกมาจนถึงวันที่เก็บเกี่ยวมาทำวัตถุดิบ อายุ 14-16 สัปดาห์ จำนวน 1 หวี (14 ผล)

2. น้ำส้มสายชู

ขั้นตอนการทำ

1. นำกล้วยดิบตัดแยกเป็นผล ล้างด้วยน้ำให้สะอาด

2. หั่นหัวท้าย และฝานเป็นชิ้น แนวนอน ซึ่งจะใช้เวลาที่รวดเร็วและ สะดวกในการจัดเรียงในเตาอบกว่าหั่นแบบเป็นแว่น

3. นำกล้วยที่ฝานแล้ว แช่ในน้ำอุณหภูมิห้องที่ผสมน้ำส้มสายชู 2ช้อนชา ต่อ น้ำ 500 ซีซี เพื่อไม่ให้มีสีดำ เสร็จแล้วจึงนำขึ้นผึ่งให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรง เมื่อสะเด็ดน้ำดีแล้ว จึงนำกล้วยไปเรียงในถาด

4. นำเข้าอบ ในเครื่องอบแห้งแบบใช้ลมร้อน ยี่ห้อ Royals Berg รุ่น 5ชั้น RB.959 ควบคุมอุณหภูมิ 50 – 65 °C จนแห้งกรอบ ตามวิธีของ (Bocco et al., 1998; ขวัญดาว แจ่มแจ้ง, 2557) เพื่อรักษาคุณค่าทางอาหารไว้ ใช้เวลา 8 ชั่วโมง

5. หลังจากครบเวลา 8 ชั่วโมง นำกล้วยที่กรอบแห้ง ไปบดให้เป็นผง โดยใช้เครื่องปั่นพลังสูง แล้วร่อนผ่านตะแกรงร่อน และบรรจุในภาชนะบรรจุ

ทั้งนี้เพื่อการนำผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบไปส่งตรวจหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสาร total phenolic content ทางผู้วิจัยจึงได้ ทำการชั่งน้ำหนักเปลือกกล้วย และเนื้อกล้วย ก่อนจะทำแป้งกล้วยน้ำว้าดิบชนิดเนื้อผสมเปลือก เพื่อทราบสัดส่วนและปริมาณของเปลือก และ เนื้อกล้วยที่ชัดเจน

น้ำหนักเปลือกกล้วยสด ก่อนอบ 244 กรัม น้ำหนักเปลือกกล้วยหลังอบ 41 กรัม

น้ำหนักเนื้อกล้วยก่อนอบ 690 กรัม และน้ำหนักหลังอบ 225 กรัม

สถานที่

เลขที่ 191 ถนน กาญจนวณิชย์ ตำบลสะเดา อำเภอ สะเดา จังหวัด สงขลา

การตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างผงกล้วยน้ำว้าดิบชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก โดยวิธี DPPH assay

Published Online: 03 Dec 2020

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ตัวอย่างผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ทั้งสองตัวอย่าง คือ แบบเนื้อล้วน และ แบบผสมเปลือก
2. -สารละลาย DPPH, สารละลายมาตรฐาน Trolox
3. Auto pipette
4. 96 Well plate บริษัท Corning ประเทศอเมริกา 25
5. Microplate Reader บริษัท Tecan Trading AG ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง, ยี่ห้อ Mettler Toledo, รุ่น AG 204, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

การทดสอบสารละลายด้วยวิธี DPPH

การเตรียมสารมาตรฐาน โทรลอกซ์ (Trolox)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.0-0.2 มิลลิโมล) โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่น ความเข้มข้นต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 20 – 100 ของการยับยั้ง (% inhibition)

2. ปิเปตสารละลาย DPPH 0.1 mM ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixture ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง) ตามวิธีของ Thaipong, Boonprakob Crosbyb ., Cisneros-Zevallosc and Byrne (2006)

3. คำนวณหาร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) จากสูตรต่อไปนี้

ร้อยละของการยับยั้ง = [A517control – A517 test sample] / A517control x 100

4. นำร้อยละของการยับยั้งคำนวณได้ของแต่ละความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐาน

การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

1. เนื่องจากสารตัวอย่าง ทั้งสองชนิด เมื่อละลายน้ำ จะมีตะกอน จึงต้องทำการกรองก่อน โดยเมื่อนำสารตัวอย่างทั้ง 2 ชนิดไปละลายน้ำแล้ว ใช้วิธีการกรองโดยใช้ filter membrane กรอง จนสารตัวอย่างทั้งสองชนิด ใส จึงนำไปสู่กระบวนการวัดค่า

2. เจือจางสารตัวอย่างด้วยเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 0.1-1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3. และทำการวิเคราะห์เหมือนสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ (ข้อ 2-4)

การตรวจหาปริมาณสาร Total phenolic content ของตัวอย่างผงกล้วยน้ำว้าดิบชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก โดยวิธี folin-Ciocalteu reagent

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. -ตัวอย่างผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ทั้งสองตัวอย่าง คือ ชนิดเนื้อล้วน และชนิดผสมเปลือก
2. สารมาตรฐาน Gallic acid บริษัท Sigma-Aldrich, ประเทศฝรั่งเศส
3. Ethanol 99 %, บริษัท RCI Labscan, ประเทศไทย
4. Folin-Ciocalteu's phenol บริษัท Sigma-Aldrich, ประเทศฝรั่งเศส
5. Dimethyl sulfoxide (DMSO) บริษัท VWR International ประเทศอเมริกา
6. 96 Well plate บริษัท Corning ประเทศอเมริกา
7. Microplate Reader บริษัท Tecan Trading AG ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
8. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง, ยี่ห้อ Mettler Toledo, รุ่น AG 204, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
9. Distilled water 1.3.10 Vortex Shaker บริษัท Genie ประเทศอเมริกา
10. Auto pipette

การทดสอบสารละลายด้วยวิธี folin-Ciocalteu reagent

การเตรียมสารมาตรฐาน คือ แกลลิค เอซิด (gallic acid) ตามวิธีของ Singleton and Rossi (1965)

1. เตรียมสารละลายกรดแกลลิคความเข้มข้น 1000 ppm โดยชั่งกรดแกลลิค 100 มิลลิกรัม ละลายในเอธานอล ร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
2. ทำการ dilution สารละลายที่ได้ในข้อ 1 โดยการปิเปต ลงในหลอดทดลอง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 8 มิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลาย ที่ได้ มา 0.25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร เติมสาร Folin-Ciocalteu' s phenol 0.25 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย 7.5% Na2CO3อีก 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixture
4. วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยวัดตัวอย่างละ 5 ซ้ำ
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐาน

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. เนื่องจากสารตัวอย่าง ทั้งสองชนิด เมื่อละลายน้ำ จะมีตะกอน จึงต้องทำการกรองก่อน โดยเมื่อนำสารตัวอย่างทั้ง 2 ชนิดไปละลายน้ำแล้ว ใช้วิธีการกรองโดยใช้ filter membrane กรอง จนสารตัวอย่างทั้งสองชนิด ใส จึงนำไปสู่กระบวนการวัดค่า

2. นำสารตัวอย่างที่กรองจนใสแล้ว นำมาชนิดละ 10 มิลลิลิตร นำไปปรับปริมาตรด้วยเอธานอล ร้อยละ 95 ให้ครบ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แยกเอาเฉพาะสารละลายใสไปวิเคราะห์ต่อไป

3. ปิเปตสารละลายใสที่ได้ 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร เติมสาร Folin-Ciocalteu's phenol 0.25 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย7.5% Na_2CO_3 อีก 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixture

4. วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยวัดตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐาน

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องทดลองและวิจัยผลิตภัณฑ์ อาคารปฏิบัติการ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง (Center of Excellence in Natural Product Innovation; CENPI)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้สถิติ t –test เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณ สาร Total phenolic content จาก ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ แบบเนื้อล้วน และเนื้อผสมเปลือก ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) และ Total Phenolic content ในผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบแปรรูป ที่ผสมเปลือก และไม่ผสมเปลือก โดย ใช้วิธีการทดสอบ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และทดสอบปริมาณ Total Phenolic content ด้วย วิธี Folin ciocalteau reagent

ซึ่งการวิเคราะห์ข้อมูลสามารถแบ่งได้ ดังนี้

1. ข้อมูลแสดงผลการทดสอบทั้งสองตัวอย่าง
2. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

Published Online: 03 Dec 2020

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และ ปริมาณสาร total phenolic content ด้วยวิธี Folin ciocalteau reagent ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก

วิธีการทดสอบ	ชนิดของแป้งกล้วย	Mean ±SD	Min-Max
DPPH	เนื้อล้วน	9.24±0.49	8.72 -9.98
(mg TEAC/g sample)	เนื้อผสมเปลือก	15.96±0.75	14.76 -16.65
FC	เนื้อล้วน	4.16±0.29	3.86-4.50
(mg GAE/g sample)	เนื้อผสมเปลือก	9.19±0.66	8.38-10.00

จากตารางที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก โดยทำการทดสอบกับผงแป้งทั้งสองชนิดอย่างละ 5 ซ้ำ การทดลอง

ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น 9.24±0.49 mg TEAC/g sample ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ น้อยสุด8.72 mg TEAC/g sample และ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากสุด 9.98 mg TEAC/g sample

ในขณะ ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิด เนื้อผสมเปลือก ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น 15.96±0.75mg TEAC/g sample ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ น้อยสุด 14.76 mg TEAC/g sample และ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากสุด 16.65 mg TEAC/g sample

ผลการทดสอบปริมาณสาร total phenolic content ด้วยวิธี Folin ciocalteau ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก โดยทำการทดสอบกับผงแป้งทั้งสองชนิดอย่างละ 5 ซ้ำ การทดลอง

ค่าเฉลี่ยปริมาณสาร total phenolic content ด้วยวิธี Folin ciocalteau ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น 4.16±0.29 mg GAE/g sample ปริมาณสาร total phenolic content น้อยที่สุด 3.86 mg GAE/g sample และปริมาณสาร total phenolic contentมากที่สุด 4.50 mg GAE/g sample

ในขณะที่ ค่าเฉลี่ยปริมาณสาร total phenolic content ด้วยวิธี Folin ciocalteau ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิด เนื้อผสมเปลือก ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เป็น 9.19±0.66 mg GAE/g sample ปริมาณสาร total phenolic content น้อยที่สุด 8.38 mg GAE/g sample และ ปริมาณสาร total phenolic content มากที่สุด 10.00 mg GAE/g sample

จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสาร total phenolic content เมื่อนำมาคำนวณด้วยสถิติ t- test จะได้ค่าดังตารางที่ 2

การวิเคราะห์เปรียบเทียบ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และปริมาณสาร total phenolic content ด้วยวิธี Folin ciocalteau ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก

ตารางที่ 2 การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และปริมาณสาร total phenolic content ด้วยวิธี Folin ciocalteau ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก

วิธีการทดสอบ	**ชนิดของแป้งกล้วย**	**n**	**Mean ±SD**	
DPPH	เนื้อล้วน	5	9.24±0.49	
(mg TEAC/g sample	เนื้อผสมเปลือก	5	15.96±0.75	
	t; df; p- value	-16.752;	8 ;	< 0.001
FC	เนื้อล้วน	5	4.16±0.29	< 0.001
(mg GAE/g sample)	เนื้อผสมเปลือก	5	9.19±0.66	
	t; df; p- value	-15.588 ;	5 ;	

จากตารางที่ 2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก เมื่อทำการทดสอบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของทั้งสองกลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.001) และ ค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ของผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบชนิด เนื้อผสมเปลือก 15.96±0.75 mg TEAC/g sample มีค่าเฉลี่ยที่สูงกว่า ชนิดเนื้อล้วน 9.24±0.49 mg TEAC/g sample

ผลการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสาร total phenolic content ด้วยวิธี Folin ciocalteau ของ ผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และ เนื้อผสมเปลือก เมื่อทำการทดสอบความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปริมาณสาร total phenolic content ด้วยวิธี Folin ciocalteau ทั้งสองกลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.001) และ ค่าเฉลี่ยของ ปริมาณสาร total phenolic content ของผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบชนิด เนื้อผสมเปลือก 9.19±0.66 mg GAE/g sample มีค่าเฉลี่ยที่สูงกว่า ชนิดเนื้อล้วน 4.16±0.29 mg GAE/g sample

อภิปรายผลการวิจัย

จากการทดสอบสมมติฐาน พบว่า ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสาร total phenolic content ในผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบแปรรูปชนิด เนื้อผสมเปลือก มีความแตกต่างและมีปริมาณค่าเฉลี่ยที่มากกว่า ในผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบแปรรูปชนิด เนื้อล้วน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) ซึ่งผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบนี้จึงเป็นทางเลือกของผู้บริโภคที่ใส่ใจการดูแลสุขภาพ ทั้งในด้านการส่งเสริมสุขภาพ อุดมไปด้วยแร่ธาตุ วิตามินที่จำเป็นต่อร่างกาย มีสารต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันสาเหตุการเกิดโรคต่าง ๆ แป้งกล้วยน้ำว้าดิบ ช่วยให้อิ่มท้อง อยู่นาน คุมน้ำหนักได้ดี อีกทั้งยังเป็นแป้งต้านทานการย่อย (RS) ค่าดัชนีน้ำตาล (GI) ต่ำ ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด เหมาะกับผู้ป่วยเบาหวาน (วราภรณ์ สกลไชย, 2561) กระบวนการที่ทำให้กล้วยน้ำว้าดิบ แปรสภาพ ในรูปแบบผงแป้ง จึงยังคงอุดมไปด้วยคุณค่าทางสารอาหารและคุณสมบัติการต่อต้านอนุมูลอิสระไม่ได้ทำให้คุณค่าทางสารอาหารลดลง โดยการแปรรูปผงกล้วยน้ำว้าดิบนี้ มีการควบคุมอุณหภูมิ 50 – 65 °C จนแห้งกรอบ ตามวิธีของ (Bocco et al., 1998) เพื่อรักษาคุณค่าทางอาหารไว้ ใช้เวลา 8 ชั่วโมง

ไทยเรามีการใช้กล้วยดิบรักษาโรคมานานแล้ว โดยเฉพาะกล้วยน้ำว้าดิบ กล้วยเป็นทั้งยารักษาและป้องกันโรคในเวลาเดียวกัน นอกจากนี้การทำแป้งกล้วยดิบ ยังเป็นการถนอมอาหารและ สามารถนำไปเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ได้ คุณประโยชน์จากแป้งกล้วยดิบ นอกจากจะมีสารต้านอนุมูลิสระ สารอาหาร วิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ แล้ว คุณสมบัติในเรื่องใยอาหาร เป็นแป้งต้านการย่อย (วราภรณ์ สกลไชย, 2561) การรับประทานแป้งกล้วยน้ำว้าดิบจึงเป็นทางเลือกที่เหมาะกับผู้ดูแลสุขภาพอย่างยิ่ง และจากการศึกษาถึงปริมาณ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสาร total phenolic content ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์แปรรูปผงกล้วยน้ำว้าดิบ ชนิดเนื้อล้วน และชนิดผสมเปลือก โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสาร total phenolic content มีค่าเฉลี่ยที่สูงกว่าในผงแป้งกล้วยน้ำว้าดิบชนิดผสมเปลือก ดังนั้นการแปรรูปกล้วยน้ำว้าดิบให้อยู่ในรูปผงแป้งที่มีเปลือกผสมแล้ว จึงเป็นรูปแบบที่สะดวกต่อการรับประทานมากกว่า เพื่อเป็นอีกทางเลือกนึงให้ผู้บริโภคสามารถเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย เสริมสร้างการทำงานที่ดีของเอนไซม์ต่าง ๆ ทำให้เซลล์ในร่างกายทำงานอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสาร total phenlic content ในส่วนประกอบอื่น ๆ ของกล้วยน้ำว้า เช่นเมล็ด ปลีกล้วย เพื่อการนำส่วนต่าง ๆ ของกล้วยน้ำว้าไปใช้ประโยชน์สูงสุดในอนาคต

2. การศึกษากล้วยน้ำว้า ในแหล่งเพาะปลูกอื่น ๆ เพิ่มมากขึ้น เพื่อนำมาเปรียบเทียบหาคุณค่าทางสารอาหารคุณประโยชน์สูงสุดจากแหล่งอื่น ๆ ในประเทศไทย

3. ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสาร Total phenolic content จากกล้วยสายพันธุ์อื่น ๆ นอกเหนือจากกล้วยน้ำว้า

4. ศึกษาและเปรียบเทียบ กรรมวิธีแปรรูป หรือสกัด ส่วนประกอบต่าง ๆ ของกล้วยน้ำว้า ในรูปแบบอื่น ๆ เช่น สารสกัด จากส่วนต่าง ๆ ของกล้วยน้ำว้า เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาต่อ ในการบริโภคเพื่อส่งเสริมสุขภาพ หรือ การนำมาสกัดทำเวชสำอาง ในอนาคต

รายการอ้างอิง

รัตนา ม่วงรัตน์, พงศธร ถ้ำทอง และจรัสศรี หลวงพันธ์. (2559).การสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจาก เปลือกกล้วยหอมทองโดยใช้เทคนิค การสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 8*(15), http://ejournals.swu.ac.th/index.php/SWUJournal/article/view/7381

ขวัญดาว แจ่มแจ้ง. (2557). การผลิตข้าวเสริมสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้านในจังหวัดกำแพงเพชร. *สัก ทอง: วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.), 1*(1), 57-69

วราภรณ์ สกลไชย. (2551). *การเกิด Resistant Starch โดยการใช้กระบวนการความร้อน และการใช้ทดแทนใน ผลิตภัณฑ์คุกกี้*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res, 31*(4), 261-272.

Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2005). Analytical, nutritional and clinical methods: The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry, 93*, 713-718.

Arya, K.S., & Sinija, V.R. (2016). Proximate composition and antioxidant activity of banana blossom of two cultivars in India. *International Journal of Agricultural and Food Science Technology, 7*(1), 13-22.

Mohammad, Z. I., Saleha, A., Ehsanul, H. M. & Sohel, R. (2011). Antioxidant activities of different parts of Musa sapientum L. ssp. sylvestris fruit. *Journal of Applied Pharmaceutical Science (JAPS), 1*(10), 68-72.

Bocco, A., Cuvelier, A., Richard, H., & Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46*(6), 2123–2129.