



การออกฤทธิ์ของสารประกอบชีวภาพจากไหมข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L.) หมัก



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การออกฤทธิ์ของสารประกอบชีวภาพจากไหมข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L.) หมัก



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนครสวรรค์
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนครสวรรค์

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การออกฤทธิ์ของสารประกอบชีวภาพจากไหมข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L.)
หมัก"

ของ กมลวรรณ ผลพิกุล

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ ฉุยฉาย)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร.สิริลักษณ์ ชัยจำรัส)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เนตรนภิส วรรณิสสร)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทะเนตร อุฤทธิ์)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(ดร.มารุตพงศ์ ภู่อำ)

อนุมัติ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.กรองกาญจน์ ชูทิพย์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การออกฤทธิ์ของสารประกอบชีวภาพจากไหมข้าวโพดหวาน (<i>Zea mays</i> L.) หมัก
ผู้วิจัย	กมลวรรณ ผลพิกุล
ประธานที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.สิริลักษณ์ ชัยจำรัส
กรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เนตรนภิส วรรณนิสสร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทะเนตร อุฤทธิ์
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. วิทยาศาสตร์ชีวภาพ, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2565
คำสำคัญ	ไหมข้าวโพดหวาน, สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

บทคัดย่อ

ไหมข้าวโพดจัดเป็นส่วนที่เหลือทิ้งทางการเกษตร มีฤทธิ์ขับร้อน ขับปัสสาวะ แก้ไตอักเสบ รักษาดีซ่าน บำรุงตับ แก้เบาหวาน และรักษาโพรงจมูกอักเสบ อีกทั้งสารสกัดจากไหมข้าวโพดมีคุณสมบัติในการขับปัสสาวะ (Diuretic) และขับโพแทสเซียม (Kaliuretic) ได้ในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ พบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมต้านอนุมูลมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย งานวิจัยนี้ใช้วิธีการหมักเพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไหมข้าวโพด การหมักสามารถเพิ่มคุณค่าให้กับผลิตภัณฑ์อาหาร โดยเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบผลของการหมักไหมข้าวโพดระหว่างเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 ทั้งเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไหมข้าวโพดหมัก รวมทั้งเพื่อศึกษาลักษณะการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสสาเหตุโรคเก๊าต์จากไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยาม โดยทำการหมักแบบเหลว Submerged fermentation และแบบแห้ง Solid-state fermentation รวมทั้งศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของน้ำหมัก วิธีการทดลองใช้ไหมข้าวโพดหวานสดพันธุ์ Hy-brix 10 หมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 ทั้งเชื้อเดี่ยวและผสม โดยใช้สภาวะหมักแบบนิ่ง เป็นเวลา 14 วัน ผลการทดลองพบว่าไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักแบบเหลว Submerged fermentation โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.54 mg GAE/mL ปริมาณฟลาโวนอยด์ 147.8 mg QE/mL ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 60.06% และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสสูงกว่าไหมข้าวโพดหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ ผลการศึกษาที่ได้ชี้ให้เห็นว่าไหมข้าวโพดหวานเป็นแหล่งของ

สารพฤษเคมีที่มีประโยชน์ อีกทั้งยังสามารถนำข้อมูลที่ได้เป็นพื้นฐานในการนำไหมข้าวโพดหวานมาพัฒนาเป็นยารักษาโรค รวมทั้งเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้



Title	ACTIVITY OF THE BIOACTIVE COMPOUNDS FROM FERMENTED SWEET CORN SILK <i>ZEA MAYS</i> L.
Author	Kamonwan Pholphikul
Advisor	Associate Professor Sirilux Chaijamrus, Ph.D.
Co-Advisor	Assistant Professor Netnaphis Warnnissorn, Ph.D. Assistant Professor Thanet Urit, Ph.D.
Academic Paper	M.S. Thesis in Biological Sciences, Naresuan University, 2022
Keywords	Sweet corn silk, Total Phenolic compounds, Antioxidant activity

ABSTRACT

Corn silk is classified as agricultural waste. The corn silk has the effect of expelling heat, diuretic, treating nephritis, treating jaundice, nourishing the liver, curing diabetes and treating sinusitis. Numerous health advantages of bioactive substances and antioxidant activity have also been discovered in corn silk. The objectives of this study were prepared by submerged fermentation and solid-state fermentation method to compare the effect of the fermented corn silk on total phenolic compounds and flavonoids content by *Lactobacillus casei* TISTR 1463 and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464: both, individual and mixture, effect of bioactive phytochemical components from the fermented corn silk, and effect of the fermented corn silk on activity of inhibition the enzyme xanthine oxidase led to gout from sweet corn silk and siam ruby queen corn silk. Method for experimenting with fresh sweet corn silk of Hybrid 10 which fermented by microorganism *Lactobacillus casei* TISTR 1463 and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464: both, individual and mixture using stationary fermented in the still state, close with an air lock. The results showed that the fermented siam ruby queen corn silk by *Lactobacillus casei* TISTR 1463 showed the highest of total phenolic compound contents (0.54 mg GAE/mL) total flavonoids contents (147.8 mg QE/mL) antioxidant activity (60.06%) and xanthine oxidase inhibitory activity. The findings suggested that sweet corn silk have potential

phytochemical that could be used in the future as therapeutic and it is also a source of antioxidants that can be used for further use.



ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์อย่างดีจากรองศาสตราจารย์ ดร. สิริลักษณ์ ชัยจำรัส อาจารย์ที่ปรึกษา คณะกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทะเนตร อุฤทธิ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เนตรนภิส วรรณิสสร ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านเป็นอย่างสูง ที่ให้ความกรุณาทำให้การศึกษาวิจัยสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย บัณฑิตศึกษาด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตรจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ประจำปีงบประมาณ 2564 ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วราภรณ์ ฉุยฉาย ที่ให้ความกรุณามาเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิจากภายนอกมหาวิทยาลัยนเรศวร และ ดร. มารุตพงศ์ ภู่อำ ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบจากอาจารย์ประจำบัณฑิตวิทยาลัย (อาจารย์ภายในมหาวิทยาลัย) ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ตียะภรณ์ เหลืองพิพัฒน์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมีและอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์สาขาชีววิทยาทั้งจากมหาวิทยาลัยนเรศวร และมหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ ที่ให้การสนับสนุนเกี่ยวกับอุปกรณ์ในการทำวิจัย ขอขอบคุณอาจารย์ นิสิตสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ที่เป็นกำลังใจด้วยดีเสมอมา วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ด้วยความอนุเคราะห์ของบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวนาม ไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอน้อมระลึกถึงพระคุณ คุณแม่ณภัสนันท์ สมถวิลธนานันท์ ที่คอยเป็นกำลังใจให้เสมอมา รวมถึงบูรพาจารย์ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้แก่ข้าพเจ้า ไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

กมลวรรณ ผลพิกุล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
ประกาศคุณูปการ.....	ช
สารบัญ.....	ณ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ฐ
บทที่ 1.....	1
บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
ขอบเขตทำการวิจัย.....	3
สถานที่ดำเนินการวิจัย.....	3
บทที่ 2.....	4
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ข้าวโพด.....	4
เศษวัสดุเหลือทิ้งของข้าวโพด.....	5
ไหมข้าวโพด.....	5
สารสำคัญในไหมข้าวโพด.....	6
โรคเก๊าต์ (Gout).....	12

ยาที่ใช้รักษาโรคเก๊าต์.....	13
ผลข้างเคียงของยาอัลโลพูรินอล	14
แซนทีนออกซิเดส Xanthine oxidase (XOD).....	15
กระบวนการหมักจากจุลินทรีย์	18
บทที่ 3.....	21
วิธีดำเนินการวิจัย.....	21
วัตถุประสงค์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	21
แหล่งคาร์บอน	21
วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	21
ขั้นตอนและวิธีการวิจัย.....	24
บทที่ 4	32
ผลการทดลอง.....	32
การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์.....	32
ผลการทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำหมักไหมข้าวโพด (Total Phenolic content).....	36
ผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ในน้ำหมักไหมข้าวโพด (Total Flavonoids content).....	38
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี (ABTS assay).....	40
ผลการทดสอบฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพด ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ..	42
ผลการทดสอบกรดอะมิโน สารหนู และตะกั่ว ในน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน.....	46
สารพิษทุกชนิดในไหมข้าวโพดที่วิเคราะห์แยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identify) ด้วย LC/MS.....	49

บทที่ 555

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....55

บรรณานุกรม.....60

ประวัติผู้วิจัย70



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไหมข้าวโพด	7
ตาราง 2 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากไหมข้าวโพด	8
ตาราง 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวมและ β -carotene-bleaching capacity ของสารสกัดจากไหมข้าวโพด.....	9
ตาราง 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดจากไหมข้าวโพด.....	9
ตาราง 5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากไหมข้าวโพด	10
ตาราง 6 สมบัติทางชีวภาพของสารสกัดจากไหมข้าวโพด	11
ตาราง 7 แสดงการออกแบการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) และการหมักแบบแห้ง (Solid-state fermentation).....	25
ตาราง 8 การเตรียมสารผสมที่มี 0.02 mM แซนทีน และน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	27
ตาราง 9 การเตรียมสารผสมที่มี 0.04 mM แซนทีน และน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	28
ตาราง 10 การเตรียมสารผสมที่มี 0.06 mM แซนทีน และน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	28
ตาราง 11 ผลการทดสอบกรดอะมิโน สารหนู และตะกั่ว ในน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน...47	
ตาราง 12 ผลการทดสอบกรดอะมิโน สารหนู และตะกั่ว ในน้ำหมักไหมข้าวโพดทับทิมสยาม.....	48
ตาราง 13 สารพิษทุขเคมีในไหมข้าวโพดที่วิเคราะห์แยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identify) ด้วย LC/MS/MS.....	51

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 ส่วนประกอบของลำต้นข้าวโพด.....	4
ภาพ 2 ส่วนประกอบข้าวโพด	5
ภาพ 3 โครงสร้างของยาอัลโลพูรินอล	13
ภาพ 4 กลไกการทำงานของยาอัลโลพูรินอล.....	14
ภาพ 5 การทำงานของแซนทีนออกซิเดส ในกระบวนการสร้างกรดยูริก.....	15
ภาพ 6 Crystallographic structure ของ Bovine xanthine oxidase.....	16
ภาพ 7 กลไกการสร้างกรดยูริกผ่านกระบวนการย่อยสลายพิวรีนเบสจากสารตั้งต้น Adenosine monophosphate (AMP) และ Guanosine monophosphate (GMP).....	17
ภาพ 8 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ Xanthine กับ Active site ของ Xanthine oxidase	18
ภาพ 9 โพรไฟล์การหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) ของไหม้ข้าวโพดหวาน.	34
ภาพ 10 โพรไฟล์การหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) ของไหม้ข้าวโพดหวาน	36
ภาพ 11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของน้ำหมักไหม้ข้าวโพดหวาน	37
ภาพ 12 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของน้ำหมักไหม้ข้าวโพดหวาน และไหม้ข้าวโพดทับทิมสยาม.....	38
ภาพ 13 ปริมาณฟลาโวนอยด์ ของน้ำหมักไหม้ข้าวโพดหวาน.....	39
ภาพ 14 เปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์ ของน้ำหมักไหม้ข้าวโพดหวาน และไหม้ ข้าวโพดทับทิมสยาม.....	40
ภาพ 15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำหมักไหม้ข้าวโพดหวาน.....	41
ภาพ 16 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำหมักไหม้ข้าวโพดหวาน และไหม้ ข้าวโพดทับทิมสยาม.....	42

ภาพ 17 ฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพดที่หมักแบบเหลว (Submerged fermentation) ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง.....	43
ภาพ 18 ฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพดที่หมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง.....	44
ภาพ 19 เปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยาม ในการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง.....	45
ภาพ 20 เปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยาม ในการหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง.....	46
ภาพ 21 สารพิษเคมีในไหมข้าวโพดที่วิเคราะห์แยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identify) ด้วย LC/MS/MS.....	50

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวโพด (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Zea mays* Linn.) เป็นพืชที่อยู่ตระกูลเดียวกับหญ้า โดยข้าวโพดจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เนื่องจากข้าวโพดมีส่วนประกอบของสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์หลากหลายชนิด อีกทั้งยังอุดมไปด้วยวิตามินและสารที่สามารถยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidant) ข้าวโพดสีเหลืองจะมีสารกลุ่มลูทีน (Lutein) และซีแซนทีน (Zeaxanthin) ที่สามารถช่วยรักษาโรคเกี่ยวกับจอประสาทตาเสื่อม ส่วนในข้าวโพดสีม่วงมีสารโพลีฟีนอล (Polyphenols) ซึ่งมีส่วนช่วยเกี่ยวกับผิว อีกทั้งยังสามารถป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย (ปราณี เลิศแก้ว และคณะ, 2561) ข้าวโพดสามารถปลูกได้ทั่วไป ทั้งในเขตอบอุ่น (Temperate) เขตอากาศกึ่งร้อนชื้น (Subtropic) และพื้นที่ราบเขตร้อน (Lowland tropic) โดยผู้ปลูกข้าวโพดรายใหญ่ของโลก ได้แก่ ประเทศฝรั่งเศส ฮังการี สหรัฐอเมริกา และแคนาดา ส่วนเอเชียมีผู้ปลูกข้าวโพดรายใหญ่ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น ไต้หวัน และไทย ซึ่งในประเทศไทย ข้าวโพดจัดเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ในปี พ.ศ. 2561 ได้มีการส่งออกข้าวโพดรวมมูลค่าสูงถึงกว่า 2,405 ล้านบาท (กรมการค้าต่างประเทศ, 2562) โดยส่วนใหญ่ข้าวโพดจะถูกนำไปแปรรูปเป็นข้าวโพดปรุงแต่งหรือข้าวโพดกระป๋อง ซึ่งในกระบวนการแปรรูปข้าวโพด พบว่ามีส่วนประกอบอื่น ๆ ของข้าวโพด ไม่ว่าจะเป็น เปลือก ชัง และไหมข้าวโพดที่ถูกทิ้งและไม่ได้นำมาทำใช้ประโยชน์หรือพัฒนา ด้วยเหตุนี้จึงทำให้มีส่วนประกอบเหล่านี้เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตเป็นจำนวนมาก

ในส่วนของไหมข้าวโพด หรือฝอยข้าวโพด (Corn silk) มีรูปทรงเป็นเส้นฝอยขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งพบบริเวณยอดเกสรตัวเมีย ซึ่งคิดสัดส่วนเป็น 2 เปอร์เซ็นต์ จากน้ำหนักฝักสดของส่วนประกอบฝักข้าวโพดทั้งหมด จัดเป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต ซึ่งบางส่วนนำไปพัฒนาเป็นอาหารของสัตว์ (อมร บุญสมบัติ, 2559) จากรายงานของ Wan Rosli *et al.* (2011) ที่ศึกษาเกี่ยวกับไหมข้าวโพด พบว่าไหมข้าวโพดมีใยอาหารสูง โดยคิดเป็น 38.4 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง อีกทั้งยังอุดมไปด้วยโปรตีนถึง 13 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ไหมข้าวโพดยังมีสรรพคุณในด้านสุขภาพอีกมากมาย เช่น Hasanudin *et al.* (2012) กล่าวว่าไหมข้าวโพดสามารถขับปัสสาวะ ขับน้ำดี รักษาอาการไตอักเสบ รักษาดีซ่าน บำรุงตับ โพรงจุกอกอักเสบ นอกจากนี้ยังพบรายงานการวิจัยทางการแพทย์กล่าวถึงคุณสมบัติของสารประกอบที่พบในไหมข้าวโพดในด้านการป้องกันโรค ทั้งในระดับเซลล์ในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง เช่น จากการศึกษาสารสกัดในไหมข้าวโพด พบว่าไหมข้าวโพดมีสมบัติในการขับปัสสาวะ (Diuretic) และขับโพแทสเซียม (Kaliuretic) ได้ในสัตว์ทดลอง และยัง

สามารถรักษาการติดเชื้อในปัสสาวะและกระเพาะปัสสาวะอักเสบ นอกจากนี้โหมข้าวโพดยังมีฤทธิ์ต่อต้านโรคเกาต์โดยการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Jiang *et al.*, 2011) อีกด้วย จากข้อมูลเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) รวมทั้งกิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระของโหมข้าวโพด (Eman 2011; Sarepoua *et al.*, 2013) พบสารประกอบฟีนอลิกในโหมข้าวโพดมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidant) เช่น ในรายงานของ Choi *et al.* (2014) พบเมซินินในโหมข้าวโพด ซึ่งเมซินินเป็นสารฟีนอลิกที่สามารถยับยั้งและป้องกันการเกิดโรคสมองเสื่อม และยังช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด (Cha *et al.*, 2016) นอกจากนี้โหมข้าวโพดยังมีคุณสมบัติต่าง ๆ อีกมากมาย อีกทั้งยังเป็นพืชที่น่าสนใจ สามารถนำมาเพิ่มมูลค่าและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากโหมข้าวโพดในเชิงอุตสาหกรรมได้อีกด้วย

ดังนั้นเพื่อไม่ให้โหมข้าวโพดกลายเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปอีกต่อไป การศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นไปที่สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโหมข้าวโพดโดยการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากการสืบค้นรายงานวิจัยพบว่าการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่ปลอดภัยต่ออาหารบางชนิดสามารถใช้เพื่อเพิ่มคุณค่าให้กับอาหาร (Bamforth & Ward, 2014; Chisti, 2010) เนื่องจากในระหว่างการหมักจุลินทรีย์จะมีเอนไซม์ที่มีบทบาท โดยจะเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของพืช สามารถส่งผลต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยตัวอย่างจากการศึกษาของ Bhat *et al.* (2015) พบว่า การหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* NCIM 2912 สามารถเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผลไม้ ซึ่งจากรายงานของ Casarotti *et al.* (2018) พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* Lc-1 และ *Streptococcus thermophiles* สามารถเพิ่มปริมาณเส้นใย ฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มได้เช่นกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถเพิ่มฤทธิ์อนุมูลอิสระให้เพิ่มมากขึ้นในผลิตภัณฑ์อีกด้วย (Amadou *et al.*, 2009; Adetuyi & Ibrahim, 2014; Kwak *et al.*, 2018) จากการศึกษาพบว่า การหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในถั่วเหลือง เมล็ดกระเจียบ พืชตระกูลถั่ว และกาแฟ ซึ่งจากรายงานของ Kwak *et al.* (2018) ยังพบข้อมูลเกี่ยวกับการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดกาแฟสีเขียว และเพิ่มกลิ่นหอมของกาแฟอีกด้วย ซึ่งส่วนใหญ่จะศึกษาโหมข้าวโพดด้วยวิธีการสกัดเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งอาจเป็นผลทำให้สารสำคัญบางชนิดสูญหายไประหว่างกระบวนการ อีกทั้งการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการหมักเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโหมข้าวโพดสดนั้นยังพบค่อนข้างน้อย งานวิจัยในครั้งนี้จึงสนใจเน้นไปที่การนำโหมข้าวโพดสดมาหมักกับเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ยา เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือพัฒนาเป็นส่วนผสมที่เป็นประโยชน์และมีประสิทธิภาพสูงอื่น ๆ ได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบผลของการหมักไหมข้าวโพดระหว่างเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 ทั้งเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม ต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไหมข้าวโพดหมัก
3. เพื่อศึกษาลักษณะการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสสาเหตุโรคเก๊าต์จากไหมข้าวโพดหมัก

ขอบเขตทำการวิจัย

วัตถุดิบไหมข้าวโพดหวาน พื้นที่เกษตรกรรมที่เพาะปลูกในเขตอำเภอชุมแสง จังหวัดนครสวรรค์ และไหมข้าวโพดพันธุ์ทับทิมสยาม จากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรฯ หนองกรด อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ นำมาหมักด้วยเชื้อ 2 ชนิด คือ แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 ในรูปของเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม การวัดผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไหมข้าวโพด โดยการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของไหมข้าวโพดหมัก และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไหมข้าวโพดหมักด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เก็บตัวอย่างน้ำหมักเพื่อติดตามข้อมูลระหว่างการหมัก โดยวัดอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ วัดค่า pH ระหว่างการหมัก และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

สถานที่ดำเนินการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
2. ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ตึก พวส.13 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้าวโพด

ข้าวโพด จัดอยู่ในวงศ์ Gramineae ซึ่งเป็นพืชตระกูลเดียวกับหญ้าที่มีความหลากหลาย โดยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays* Linn. (Eman, 2011) มีความสูงประมาณ 1.4 เมตร ลำต้นมีลักษณะกลมผิวเรียบ ด้านในคล้ายกับฟองน้ำ ใบเป็นใบเดี่ยว (Simple leaf) โดยใบมีลักษณะเรียวยาวขอบขนาน ปลายใบค่อนข้างแหลม โคนใบมน เห็นเส้นกลางใบชัดเจน ขอบใบมีขน ก้านใบเป็นกาบหุ้มลำต้น ออกดอกเป็นช่อโดยจะออกที่บริเวณปลายยอด ดอกตัวเมียออกที่กาบใบ ยอดเกสรมีลักษณะเป็นเส้นบาง ๆ คล้ายเส้นไหมจำนวนมากอยู่ระหว่างกาบใบและลำต้น ผลเป็นฝัก หุ้มด้วยกาบใบหลายชั้น พอแก่จะเปลี่ยนเป็นสีนวลและมีเมล็ดครอบฝักเรียงเป็นระเบียบรอบแกนฝัก โดยส่วนประกอบของลำต้นข้าวโพด ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพ 1 ส่วนประกอบของลำต้นข้าวโพด

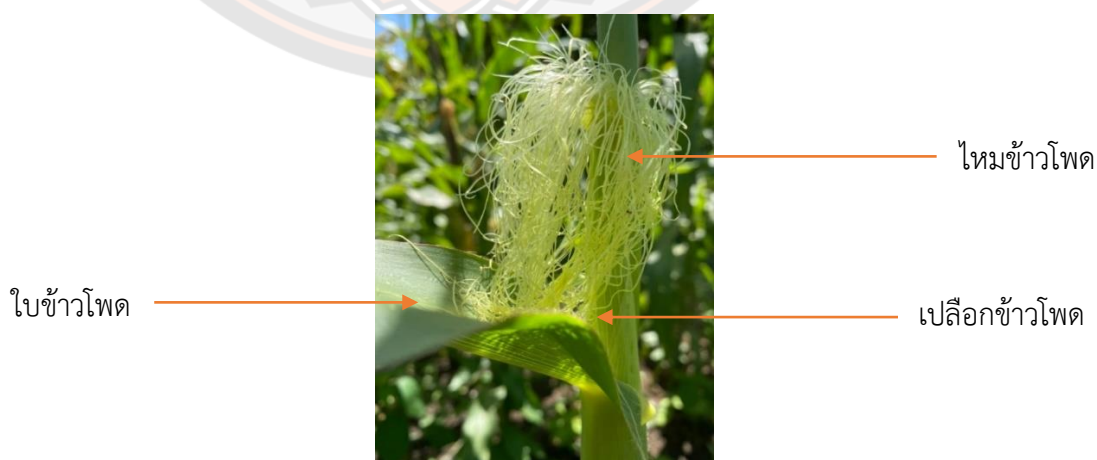
ที่มา: vectorstock (2020)

เศษวัสดุเหลือทิ้งของข้าวโพด

ผลผลิตฝักข้าวโพดส่วนใหญ่จะถูกนำไปแปรรูปเป็นข้าวโพดกระป๋องเป็นหลัก จึงทำให้มีเศษวัสดุจากส่วนประกอบของข้าวโพดเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตเป็นจำนวนกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ชัง เปลือก และเส้นไหมข้าวโพด โดยชังข้าวโพดมีการแปรรูปไปเป็นเชื้อเพลิงอัดแท่ง (Oladeji, 2010) นำไปย่อยสลายแล้วหมักเพื่อผลิตเอทานอล (Luis *et al.*, 2016) นำไปผลิตถ่านชาร์โคล (Lina *et al.*, 2017) หรือนำไปผลิตสารให้ความหวานไซลิทอล เปลือกข้าวโพดสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์กระดาษ (Rainer & Kristoffer 2016) นำไปพัฒนาเป็นตะกร้า (Vasanthakumari, 2012) หรือนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ สำหรับไหมข้าวโพดนั้นปัจจุบันถูกนำไปศึกษาต่อยอดอย่างแพร่หลาย เนื่องจากไหมข้าวโพดมีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่นำมาใช้ประโยชน์ได้

ไหมข้าวโพด

ไหมข้าวโพด หรือฝอยข้าวโพด (Corn silk) พบบริเวณยอดเกสรตัวเมียของข้าวโพดที่มีลักษณะเป็นเส้นเล็ก ๆ ที่บางเหมือนเส้นผม ผิวมัน เมื่อยังอ่อนจะเป็นสีน้ำตาลอ่อน สีเหลืองผสมม่วง เมื่อฝักอายุมากขึ้น เส้นไหมจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยมีความยาวประมาณ 20-30 เซนติเมตร อยู่ปลายฝักข้าวโพด ดังแสดงในภาพที่ 2 ซึ่งคิดสัดส่วนเป็น 2 เปอร์เซ็นต์ จากน้ำหนักฝักสดของข้าวโพด จัดเป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต ซึ่งบางส่วนก็นำไปพัฒนาเป็นอาหารของสัตว์ (อมร บุญสมบัติ, 2559) อีกทั้งยังพบงานวิจัยอีกส่วนหนึ่งที่นำไหมข้าวโพดไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์อีกหลากหลาย (ฟาริยา กุลพิจิตร และคณะ, 2558) จากรายงานของ Wan Rosli *et al.* (2011) ที่ศึกษาเกี่ยวกับไหมข้าวโพด พบว่าไหมข้าวโพดมีใยอาหารสูง โดยคิดเป็น 38.4 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง อีกทั้งยังอุดมไปด้วยโปรตีนถึง 13 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 2 ส่วนประกอบข้าวโพด

สารสำคัญในไหมข้าวโพด

จากการศึกษาพบว่าในไหมข้าวโพดมีสารพฤกษเคมีหลายชนิด เช่น ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนโกลโคไซด์ โพลีฟีนอล แอนโทไซยานิน แคโรทีนอยด์ กรดฟีนอลิก เทอร์พีนอยด์ สเตียรอยด์ ลูทีน อัลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน น้ำมันระเหย วิตามิน น้ำตาลบางชนิด และโพลีแซ็กคาไรด์ (ดังแสดงในตารางที่ 1) จากรายงานของ Hu *et al.* (2010) และ Hu & Deng (2011) พบว่า ฟลาโวนอยด์ในไหมข้าวโพดสามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหนู โดยสารประกอบพฤกษเคมีที่สำคัญที่พบในไหมข้าวโพดดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนี้ไหมข้าวโพดยังอุดมไปด้วยสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระที่รุนแรง อีกทั้งไหมข้าวโพดยังมีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารเคมีที่สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของเซลล์ซึ่งเป็นอันตรายกับเซลล์ โดยอนุมูลอิสระจะสามารถทำลาย DNA โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต เมื่ออยู่ในภาวะปกติ ในเซลล์จะมีการรักษาสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้เซลล์สามารถทำงานได้เป็นปกติ แต่ถ้าเมื่อใดที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากกว่าสารต้าน จะทำให้เซลล์อยู่ในสภาวะเครียดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative stress) ซึ่งทำให้เซลล์เกิดความเสียหายเนื่องจากการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนของอนุมูลอิสระกับสารเคมีสำคัญ ทั้งนี้การวิจัยในปัจจุบันพบว่าสภาวะเครียดออกซิเดชันเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมามากมาย ไม่ว่าจะเป็น โรคมะเร็ง พาร์กินสัน และอัลไซเมอร์ เป็นต้น (Badarinath *et al.*, 2010)

นอกจากนี้ไหมข้าวโพดยังสามารถใช้เป็นยาขับปัสสาวะ (Diuretic antilithiasic) และป้องกันการติดเชื้อจุลชีพในทางเดินปัสสาวะ (Uricosuric antiseptic) โดย Singh *et al.* (2022) พบไหมข้าวโพดมีปริมาณโปรตีนสูงถึง (15.29 ± 1.23) และมีปริมาณเถ้า (5.29 ± 0.29) นอกจากนี้ยังมีปริมาณของฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงถึง $(94.10 \pm 0.26 \text{ mg GAE/g})$ และ $(163.93 \pm 0.83 \text{ mg QE/100 g})$ ตามลำดับ อีกทั้งในไหมข้าวโพดมีเสถียรภาพทางความร้อน (Thermal stability) ที่ดี และยังพบปริมาณวิตามินซีในไหมข้าวโพดสูงถึง $270 \pm 0.57 \text{ mg/100 g}$ อีกด้วย ทั้งนี้ยังพบว่าฟลาโวนอยด์ในไหมข้าวโพดของ Haslina และ Eva. (2017) พบสูงสุดที่ $163.93 \pm 0.83 \text{ mg QE/100 g}$ ซึ่งชนิดของฟลาโวนอยด์ส่วนมากที่พบคือ Apigmaysin, ax-4-OH maysin, Maysin, isoorientin-2"-O-a-L-rhamnoside และ 3-methoxymaysine ซึ่งปริมาณสารที่พบขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่เลือกมาทดสอบ อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยของ Tian *et al.* (2021) ยังพบสารกลุ่มฟีนอล และฟลาโวนอยด์จำนวนมากในบริเวณด้านปลายของเส้นไหมข้าวโพดมากกว่าในส่วนล่างอีกด้วย การเลือกใช้ไหมข้าวโพดสดและไหมข้าวโพดที่ผ่านการแปรรูป เช่น ผง และแท่ง ก็ส่งผลต่อปริมาณของสารเช่นกัน ซึ่งจากรายงานวิจัยของ Sarepoua *et al.* (2013) พบว่าการทำให้ไหมข้าวโพดแห้งอาจจะสามารถทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีปริมาณที่ลดลงอีกด้วย

ตาราง 1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไหมข้าวโพด

Class of phytochemicals	Phytochemical components
Polyphenols	Flavonoids, tannins, alkaloids, saponins, anthocyanins, steroids, cardiac glycosides, allantoin, resins, and hesperidin
Flavonoids	Protocatechin, catechin, rutin, quercetin, flavone, 3-hydroxyl, 4-hydroxy, 5-hydroxy, and 7-hydroxy flavones and isoflavones.
Phenolic acids	Vanillic acid, para-aminobenzoic acid (PABA), chlorogenic acid, p-coumaric acid, caffeic acid, protocatechuic acid, maizenic acid, ferulic acid, 3-O-caffeoylquinic acid, and hydroxycinnamic acid ester
Carotenoids	Zeaxanthin, β -Carotene
Sterols	Beta-sitosterol, phytosterols like stigmasterol
Tannins	Phlobatannins, gallotannins
Volatile compounds	Carvacrol, menthol, eugenol, thymol, cis-sabinene hydrate, neo-iso-3-thujanol, citronellol, 6,11-oxidoacor-4-ene, cis-sabinene hydrate, trans-pinocamphone, neo-iso-3-thujanol, and cis-R-terpineol
Vitamins	Vitamin C, E, and K
Sugars	Xylose, Dextrose
Miscellaneous compounds	Polysaccharides (galactan), limonene, geraniol, α -terpineol, terpenoids, trans-pinocamphone, citronellol, apigenin, formononetin, anthraquinones, pelargonidin, xanthoproteins, and hordenine

ที่มา: Amanullah and Fahad (2018)

จากผลการศึกษาของ Nurhanan *et al.*, (2012) แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาไหมข้าวโพดแบบเยือกแข็งจะรักษาสารฟีนอลิกได้มากกว่าแบบอื่น ซึ่งสามารถกักเก็บแอนโทไซยานิน รวมทั้งปริมาณฟีนอลิกรวมไม่ลดปริมาณลง นอกจากนี้ สารฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารที่มีข้อ

โดยจะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกัน (Haslina & Eva, 2017) (ดังแสดงในตารางที่ 2) โดยสารประกอบฟีนอลในโหมข้าวโพดซึ่งมีขั้ว ได้แก่ แทนนิน ซาโปนิน และฟลาโวนอยด์ ในอัลคาลอยด์และไตรเทอร์พีนอยด์ เป็นสารประกอบกึ่งขั้ว ในสเตอรอยด์จะไม่มีขั้ว (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008; Haslina & Eva, 2017)

ตาราง 2 องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากโหมข้าวโพด

Extracting solvent	Total phenolic content	Total flavonoid content	Total anthocyanin content
Water	1.5 mg GAE/g extract 35.34–64.22 mg GAE/g extract 42.71 μ g TAE/g extract 256.36–272 mg GAE/100 g dw	2–7 μ g/ml extract 2.31–7.55 mg CE/g extract 4.1–38.01 mg CE/g dw	
Hot water	68.61 mg GAE/g	72.74 mg QE/g	0.02 mg CGE/g
Methanol	101.99–175.8 mg GAE/g dw 40.38 μ g TAE/g extract 272.81 mg GAE/100 g dw	0.66–9.26 mg CE/g dw	0.017–0.023 mg CGE/100 g dw.
Methanol acidified with 1% citric acid	69.01–85.49 mg GAE/100 g of fw		78.90–408.54 mg CGE/100 g fw
Ethanol	164.1 μ g GAE/g dw 1756 mg chlorogenic acid/100 g dw 86.26–143.58 mg GAE/g Extract	69.4 μ g RE/g dw 14.66–26.63 mg CAE/g extract	1779 mg CGE/100 g dw.
Aqueous acetone	2093–4447 81 mg GAE/100 g dw	1840–3644 mg CE/100 g dw	1.49 mg CGE/100 g dw
Ethyl acetate	6.70 mg GAE/g extract	8.40 mg CE/g extract	

ที่มา: Amanullah and Fahad (2018)

จากข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Singh *et al.* (2022) พบว่าไหมข้าวโพดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างสูง ทั้งนี้ปริมาณสารที่เพิ่มขึ้นนั้นมีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้องไม่ว่าจะเป็นสายพันธุ์ พื้นที่และสภาพแวดล้อมในการปลูก วิธีสกัด (ดังแสดงในตารางที่ 3-5) ตลอดจนความสมบูรณ์ และอายุการเก็บเกี่ยวที่ใช้ในการศึกษา (Sarepoua *et al.*, 2013)

ตาราง 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวมและ β -carotene-bleaching capacity ของสารสกัดจากไหมข้าวโพด

Extracting solvent	Total antioxidant activity	β -carotene-bleaching capacity
Water	73–44.19%	
Methanol		66.05%
Ethanol	5.61–9.98 mg FeSO ₄ /g dw	52.92%
Ethyl acetate	2.15–2.735 mg GAE/g dw	38.65%, 26.33%

ตาราง 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดจากไหมข้าวโพด

Extracting solvent	Ferric-reducing antioxidant power
Water	35.01%
Methanol	56.41%
Ethanol	51.16%, 38.90–65.46%
Ethyl acetate	27.21%

ตาราง 5ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากไหมข้าวโพด

Extracting solvent	DPPH
Ethanol	84%, 68–75.6% 68.4–75.6% IC ₅₀ (140.89 µg/ml)
Ethanol	IC ₅₀ (143.55 µg/ml)
Ethanol-water	92.6% with IC ₅₀ (0.56 mg/ml)
Ethyl acetate	IC ₅₀ (411.69 µg/ml)

ที่มา: Amanullah and Fahad (2018)

ประโยชน์ของไหมข้าวโพด (Corn silk)

จากรายงานวิจัยมีการกล่าวอ้างถึงสรรพคุณจากไหมข้าวโพดในเชิงสุขภาพมากมาย ได้แก่ ไหมข้าวโพดสามารถขับปัสสาวะ ขับน้ำดี รักษาไตอักเสบ ดีซ่าน บำรุงตับ แก้เบาหวาน โพรงจุมอกอักเสบ (Hasanudin *et al.*, 2012) อีกทั้งสารสกัดจากไหมข้าวโพดมีคุณสมบัติในการขับปัสสาวะ (Diuretic) และขับโพแทสเซียม (Kaliuretic) ได้ในสัตว์ทดลอง (Velazquez *et al.*, 2005) และยังมีประโยชน์ในการรักษาการติดเชื้อและการอักเสบของกระเพาะปัสสาวะ (Steenkamp, 2003) นอกจากนี้ไหมข้าวโพดยังมีฤทธิ์ต่อต้านโรคเกาต์โดยการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Jiang *et al.*, 2011) ซึ่งจากการศึกษาสารประกอบชีวภาพในไหมข้าวโพดเพิ่มเติม ไม่ว่าจะเป็นในด้านของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008; Eman 2011; Sarepoua *et al.*, 2013) โดยไหมข้าวโพดมีสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ เช่น ในรายงานของ Choi *et al.* (2014) พบเมซินในไหมข้าวโพด ซึ่งเมซินเป็นสารฟีนอลิกที่มีความสามารถในการป้องกันการเกิดโรคสมองเสื่อม อีกทั้งยังมีความสามารถในการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อีกด้วย โดยทำการทดสอบในสัตว์ทดลอง ซึ่งเมื่อให้สารสกัดจากไหมข้าวโพดที่ประกอบด้วยเมซินปริมาณ 2,783.54 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม แก่สัตว์ทดลองทุกวัน ในปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ (Cha *et al.*, 2016) ในรายงานของ Zhu (2018) กล่าวถึงสมบัติของสารประกอบประเภทสารแอนโทไซยานินที่พบได้ในไหมข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง โดยสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูง อีกทั้งยังช่วยลดโอกาสในการเกิดมะเร็งเนื้องอก เสริมภูมิคุ้มกัน และยับยั้งเชื้อโรค นอกจากนี้ ยังมีรายงานวิจัยที่กล่าวถึงคุณสมบัติของไหมข้าวโพดต่าง ๆ อีกมากมาย ดังแสดงในตารางที่ 6

นอกจากนี้ยังพบว่า ข้าวโพดหวานที่ปลูกในประเทศไทย อีกสายพันธุ์หนึ่ง คือ ข้าวโพดหวานสีแดงพันธุ์ราชินีทับทิมสยาม (Siam Ruby Queen) ซึ่งเป็นข้าวโพดที่เกิดจากการปรับปรุงสายพันธุ์ โดยจากการศึกษาพบว่า มีปริมาณสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) สูง รวมทั้งมีความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระสูง นอกจากนี้ยังพบว่าไหมข้าวโพดหวานสีแดงสายพันธุ์ราชินีทับทิมสยาม มีสารโอลิโกเมอร์ิกโพรแอนโทไซยานิน (Oligomeric Proanthocyanidins) ช่วยในการบำรุงผิวพรรณ ต้านเซลล์เสื่อม เซลล์ผิดปกติในร่างกาย ป้องกันการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งมีความวิจัยมากมายที่บ่งชี้ว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหลายโรคโดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง (เช่น โรคอัลไซเมอร์) เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความเสื่อมสภาพของเซลล์ต่าง ๆ จึงช่วยลดความเสื่อมสภาพของร่างกาย ให้มีความอ่อนเยาว์ และมีอายุที่ยืนยาวมากขึ้น (ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์, 2548)

ตาราง 6 สมบัติทางชีวภาพของสารสกัดจากไหมข้าวโพด

Extracting solvent	Activity
Water	Anti-hepatocarcinomic, diuretic and kaliuretic activity, antiobesitic, antiadipogenic, antidiabetic, antihyperglycemic, and anti-inflammatory
Hot water	Antioxidant activity and inhibition of IgE antibody
Methanol	Antimicrobial, antioxidant, inhibition of lipid peroxidation, anti-hyperthyroidism, cardioprotective activity, and lipid lowering
Ethanol	Reduction of oxidative stress, urease inhibitory, and antihyperlipidemic
Aqueous alcohol	Anti-fatigue, and hepatoprotective
Aqueous acetone	Antioxidant activity
Various polarity solvents	Antioxidant activity
Corn silk powder	Antioxidant and immunostimulatory activity

ที่มา: Amanullah and Fahad (2018)

โรคเก๊าต์ (Gout)

โรคเก๊าต์เกิดจากภาวะกรดยูริกในเลือดสูง (มากกว่า 7 mg/dL) ซึ่งเกิดจากความไม่สมดุลกันระหว่างการสร้างและการขับออกของกรดยูริกในร่างกายมาเป็นระยะเวลาที่ยาวนาน (Merry *et al.*, 2007) ปัจจุบันการบริโภคอาจเป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคเก๊าต์เพิ่มมากขึ้น (Choi *et al.*, 2005) จากข้อมูลทางสถิติพบว่า โรคเก๊าต์สามารถพบได้ในเพศชายมากที่สุด ระดับค่าปกติของกรดยูริกในเพศหญิงช่วงอายุที่มีประจำเดือนอยู่ที่ 6 mg/dL (416 $\mu\text{mol/L}$) ช่วงหลังหมดประจำเดือนค่ากรดยูริกระดับปกติอยู่ที่ 7 mg/dL (357 $\mu\text{mol/L}$) จากการทดสอบในหลอดทดลอง (*in vitro*) ค่ากรดยูริกมีขีดจำกัดของการละลายอยู่ที่ประมาณ 7 mg/dL ที่ 37 องศาเซลเซียส (Bomalaski *et al.*, 2002)

นอกจากนี้ อายุและเพศก็เป็นอีกหนึ่งปัจจัยเสี่ยง โดยพบว่า เพศชายที่มีอายุมากกว่า 30 ปีขึ้นไป มีอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคมกกว่าเพศหญิงในช่วงอายุที่มีประจำเดือน (Menopausal women) และจะมีอัตราเสี่ยงที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีอายุประมาณ 45 ปีขึ้นไป (ช่วงอายุวัยทองหรือวัยที่หมดประจำเดือน) เนื่องจากฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ลดลง (Choi *et al.*, 2007) ได้มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับประชากรที่มีอายุในช่วง 75-84 ปี เสี่ยงต่อการเป็นโรคเก๊าต์เพิ่มมากขึ้น (Mikuls *et al.*, 2005) นอกจากนี้ ผู้ป่วยที่ถูกรักษาด้วยยาขับปัสสาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคเก๊าต์สูง เนื่องจากยาขับปัสสาวะจะเพิ่มค่าการดูดกลับของกรดยูริกเข้ามาในไตเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดกรดยูริกถูกสะสมที่บริเวณไต และอาจส่งผลต่อการเกิดภาวะกรดยูริกสูงในเลือด (Hyperuricemia) (Ronenn *et al.*, 1991) การใช้ยาแอสไพรินเพื่อป้องกันการเกิดโรคหัวใจ (Cardioprotection) เป็นระยะเวลานาน สามารถส่งผลทำให้เพิ่มระดับกรดยูริกในร่างกายผู้ป่วยได้ (Caspi *et al.*, 2000) และยังพบว่าโรคอ้วน ค่าดัชนีมวลกายที่เพิ่มขึ้น (Body mass index) (Choi *et al.*, 2005) ซึ่งปัจจัยเสี่ยงของโรคเก๊าต์อาจจะมาจากการบริโภคและการดื่ม ไม่ว่าจะเป็นการดื่มแอลกอฮอล์ การบริโภคเนื้อ และอาหารทะเลในปริมาณมาก (Choi, 2005; Choi *et al.*, 2004)

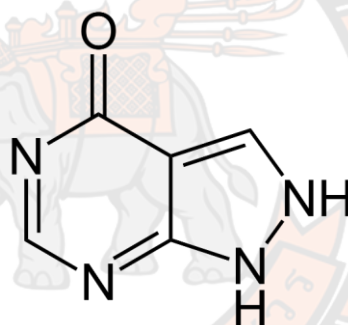
โดยทั่วไปผู้ป่วยที่เป็นโรคเก๊าต์จะมีอาการข้ออักเสบและเป็นไข้หนาว รวมทั้งยังมีการอ่อนเพลีย และเม็ดเลือดขาวที่ค่อนข้างสูง ซึ่งอาการจะทุเลาภายใน 2-3 วัน และภายใน 5-7 วัน อาการจะหายไป แต่ปริมาณกรดยูริกในเลือดมักสูง รวมทั้งอาการอักเสบอาจเกิดขึ้นอีกจนถึงขั้นเรื้อรังเป็นระยะ ๆ ผู้ป่วยที่มีภาวะข้ออักเสบเฉียบพลันจากเก๊าต์มักมีนิ่วในไต ผลึกยูเรตสะสมในหมวกไต ส่งผลให้มีเลือดออกทางปัสสาวะ ถ้ามีการสะสมในไตมาก ๆ จะขัดขวางการทำงานของไต ทำลายเนื้อไต และเกิดภาวะไตล้มเหลว (วิจิตร, 2534) นอกจากนี้ การเกิดภาวะกรดยูริกในเลือดสูงเป็นเวลานาน และเรื้อรัง จะสัมพันธ์ต่อการเสี่ยงเป็นโรคไต โรคเกี่ยวกับระบบหัวใจและหลอดเลือด (Kang *et al.*, 2002; Johnson *et al.*, 2005; Krishnan *et al.*, 2006; Krishnan *et al.*, 2007) โรคเก๊าต์ ระยะแรกมักมีอาการปวดอย่างทันทีทันใด ระยะที่สอง (ระยะพัก) เป็นระยะที่ไม่มีอาการแสดงแต่กรดยูริกในเลือดมักสูง มักพบตุ่มที่เกิดจากผลึกยูเรตสะสมจนเป็นก้อน (Tophus) ใต้ผิวหนังบริเวณเอ็นกล้ามเนื้อ

น่องด้านหน้า (Tibialis anterior tendon) ส่วนใหญ่จะพบมากในผู้ป่วยวัยกลางคนและวัยชรา โดยในขณะที่เดินเท้าจะมีลักษณะโค้งงอ (Jerome *et al.*, 2008)

เครื่องตีมีแอลกอฮอล์ส่งผลที่รุนแรงต่อผู้ป่วยโรคเก๊าต์ (Choi and Curhan 2007) เพราะจะไปเพิ่มการสลายตัวของอะดีโนซีนนิวคลีโอไทด์ในตับ ส่งผลให้มีการสร้างกรดยูริกเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ การดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ในปริมาณมากยังทำให้เลือดมีภาวะเป็นกรดซึ่งไปขัดขวางการขับกรดยูริกออกทางไตได้ (Faller and Fox 1982)

ยาที่ใช้รักษาโรคเก๊าต์

ปัจจุบันการรักษาโรคเก๊าต์โดยทั่วไปจะรักษาโดยใช้ยาที่เพิ่มการขับยูเรตออกจากร่างกายทางปัสสาวะ (Emmerson, 1996) หรือใช้ยาที่ช่วยลดกรดยูริกในซีรัม (Schlesinger and Schumacher 2001) เช่น ยาอัลโลพูรินอล ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีดังภาพ 3

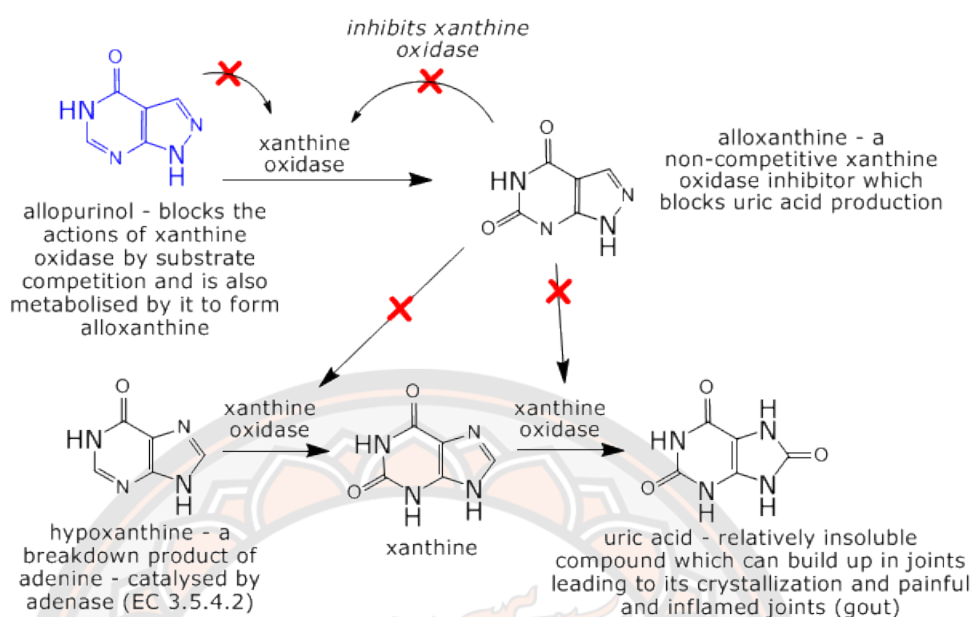


ภาพ 3 โครงสร้างของยาอัลโลพูรินอล

ที่มา: en.wikipedia.org/wiki/Allopurinol.

ในทางคลินิกมีเพียงยาอัลโลพูรินอลเท่านั้นที่ถูกนำมาใช้รักษา โดยจะมีผลในการลดการสร้างกรดยูริก (Fields *et al.*, 1996) และใช้รักษาโรคเก๊าต์ โดยไปขัดขวางการสร้างกรดยูริกซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายของขบวนการย่อยสลายเพียวรีนส่งผลให้ลดความเข้มข้นของกรดยูริกในเลือดลงได้ (Ishibuchi *et al.*, 2001)

ยาอัลโลพูรินอลเป็นตัวยับยั้งที่จำเพาะของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส เนื่องจากมีโครงสร้างคล้ายกับไฮโปแซนทีน ทำให้มีการแย่งจับกับเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ทำหน้าที่ขัดขวางการสร้างแซนทีนจากไฮโปแซนทีน (ภาพ 4) ดังนั้นจึงไม่มีผลในการสร้างอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide free radical) ยาอัลโลพูรินอลช่วยป้องกันการสลายเพียวรีนและป้องกันการสร้างกรดยูริก (Thylor *et al.*, 1984)



ภาพ 4 กลไกการทำงานของยาอัลโลพูรินอล

ที่มา: <http://medicineaddicts.blogspot.com/2013/04/the-xanthine-oxidase-inhibitor.html>

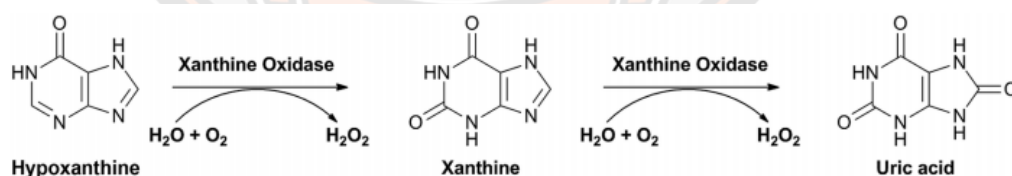
ผลข้างเคียงของยาอัลโลพูรินอล

ยาอัลโลพูรินอลอาจทำให้เกิดอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ โดยมีการศึกษาประวัติของผู้ป่วยเพศหญิงอายุ 86 ปี ที่มารักษาภาวะกรดยูริกสูงในเลือดโดยการให้ยาอัลโลพูรินอล หลังจากนั้นหนึ่งสัปดาห์พบว่าผู้ป่วยมีภาวะไตล้มเหลว ผิวหนังมีตุ่มพอง มีอาการแพ้ยาที่มีลักษณะเป็นตุ่มใสบริเวณผิวหนัง มีอาการไข้สูง (39.1 องศาเซลเซียส) และมีอาการหอบหืดหายใจลำบากร่วมด้วย และจากการวินิจฉัยโรคไฮเปอร์เซ็นซิวิตีซีซินโดรม (Hypersensitivity Syndrome) จะพบว่ายาอัลโลพูรินอลสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไฮเปอร์เซ็นซิวิตีซีซินโดรม (Hypersensitivity Syndrome) ได้จากการทดลองการตัดชิ้นเนื้อ (Biopsy) บริเวณผิวหนังมาทดสอบ พบว่าตัวยามีความเป็นพิษต่อชั้นผิวหนังกำพร้า (Epidermal) โดยทำให้เซลล์บริเวณดังกล่าวตายและหลุดแยกออกหรือสาเหตุอื่น ๆ เช่น อาจเกิดได้จากยังไม่มีการพัฒนาในการรักษาที่ดี มีการรักษาโดยการฉายยาในกลุ่มสเตียรอยด์ ซึ่งไปเปลี่ยนแปลงโปรตีนอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) โดยอาการของโรคไฮเปอร์เซ็นซิวิตีซีซินโดรม (Hypersensitivity Syndrome) ที่รุนแรงหลังจากได้รับยาอัลโลพูรินอล พบว่าผู้ป่วยจะแสดงอาการโดยมีไข้ มีภาวะเม็ดเลือดขาวอีโอซิโนฟิล (Eosinophil) สูงในเลือด ตับอักเสบ ไตล้มเหลว และ

ผิวหนังบริเวณขึ้นหนังกำพร้าตายและหลุดออกอย่างรุนแรง สาเหตุของการใช้ยาอัลโลพูรินอลที่มีผลทำให้เกิดอาการที่รุนแรงต่าง ๆ นี้ อาจเป็นผลมาจากมีตัวกระตุ้นที่สำคัญคือออกซีพูรินอล (Oxypurinol) ซึ่งเป็นสารเมแทบอลิซึม (Metabolize) ของยาอัลโลพูรินอลสะสมอยู่ในร่างกายทำให้เกิดภาวะไตล้มเหลวได้ หรืออาจเกิดจากมีการใช้ยาอัลโลพูรินอลร่วมกับยาไธอะไซด์ (Thiazides) ในผู้ป่วยที่ไม่แสดงภาวะกรดยูริกในเลือดสูง (Hyperuricemia) หรืออาจมีการใช้ในปริมาณที่มากเกินไป ขอบังคับที่กำหนดไว้ (Hammer *et al.*, 2001) ส่วนใหญ่ภาวะอัลโลพูรินอลไฮเปอร์เซ็นซิวิตีตีซินโดรม (Allopurinol hypersensitivity Syndrome) จะเกิดขึ้นในผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตสูญเสียหน้าที่ไป โดยกลไกการเกิดโรคยังไม่ทราบแน่ชัด (Chen *et al.*, 2005)

แซนทีนออกซิเดส Xanthine oxidase (XOD)

แซนทีนออกซิเดสถูกพบครั้งแรกในน้ำนม จัดเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่ง เนื่องจากเป็นแหล่งผลิตออกซิเจน โดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเป็นฟลาโวนโพรตีน (โปรตีนที่ประกอบด้วยฟลาวิน) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาของไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine) ไปเป็นแซนทีน (Xanthine) และเปลี่ยนแซนทีนไปเป็นกรดยูริก (Uric acid) และซูเปอร์ออกไซด์ (Coope *et al.*, 2006) ดังแสดงในภาพที่ 5 สามารถพบได้ในตับและลำไส้เล็กของร่างกาย นอกจากนี้ มีรายงานพบว่าเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งปริมาณอนุมูลอิสระออกซิเจน (Reactive oxygen species : ROS) ที่มีมากเหล่านี้ สามารถทำลายเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตได้ และพบว่าสัมพันธ์กับความผิดปกติและการเกิดโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน (Oxidative stress) เช่น ทำให้เกิดการอักเสบ หลอดเลือดแข็งตัว และมะเร็ง (Sweeney *et al.*, 2001)

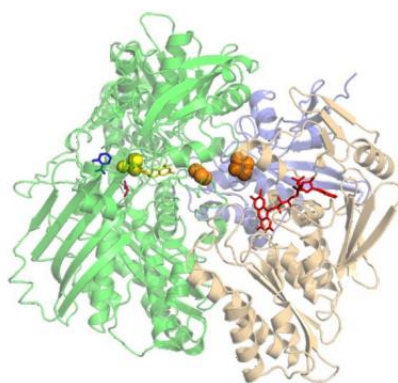


ภาพ 5 การทำงานของแซนทีนออกซิเดส ในกระบวนการสร้างกรดยูริก

ที่มา: Coope *et al.* (2006)

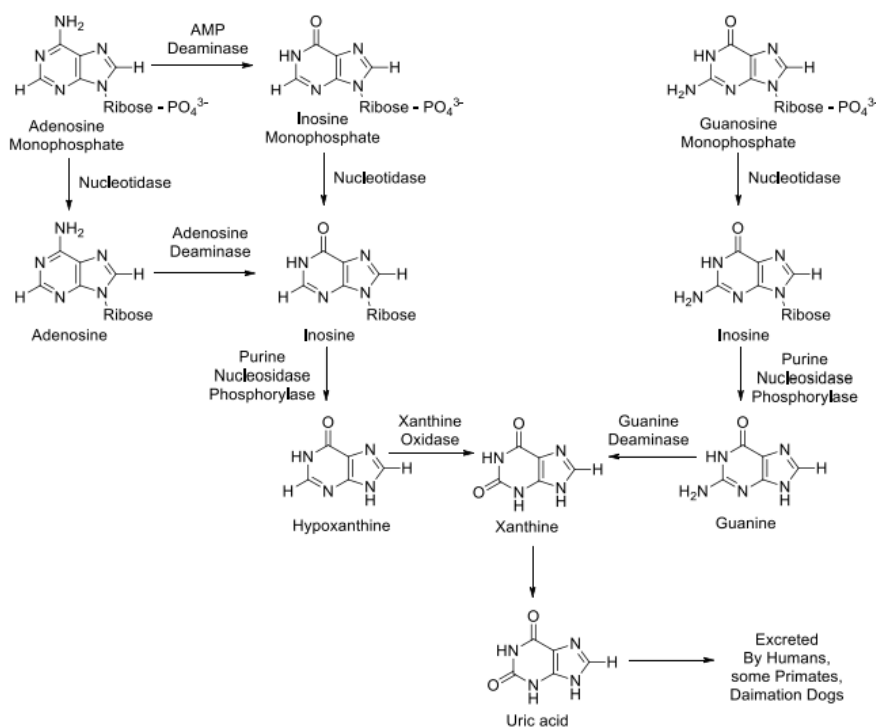
โดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสจัดอยู่ใน Class ของเอนไซม์ออกซิโดรีดักเทส (Oxidoreductase) และ Sysname แซนทีนออกซิเดสประกอบด้วยโมเลกุลที่แตกต่างกันทั้งหมด 7 ชนิด คือ Xanthine oxidase1, Xanthine oxidase2, Xanthine oxidase3, Flavin adenine

dinucleotide (FAD), Inorganic cluster (Fe_2S_2), Molybdopterin cofactor และ Salicylate (Enroth *et al.*, 2000) ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพ 6 Crystallographic structure ของ Bovine xanthine oxidase
ที่มา: Enroth *et al.* (2000)

ซึ่งกรดยูริกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของกระบวนการออกซิเดชันที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายของพิวรีนเบส และขับออกมาในปัสสาวะ โดยมีกระบวนการในการย่อยสลายแสดงในภาพที่ 7

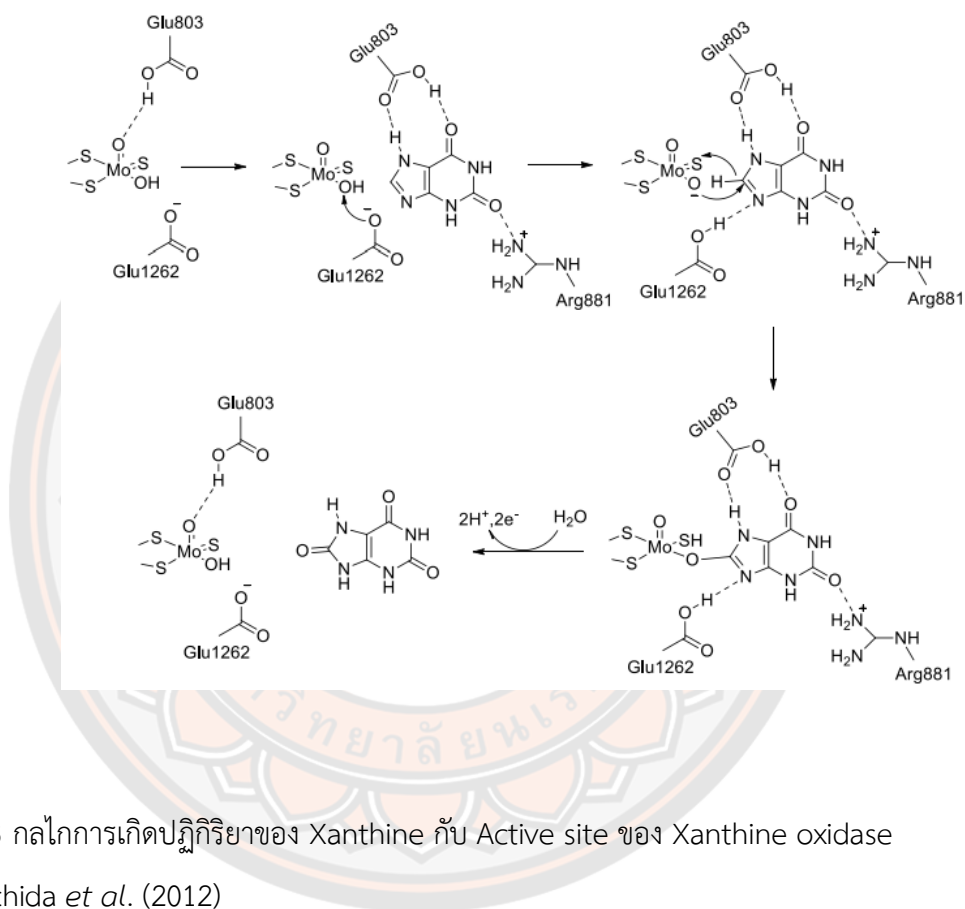


ภาพ 7 กลไกการสร้างกรดยูริกผ่านกระบวนการย่อยสลายพิวรีนเบสจากสารตั้งต้น Adenosine monophosphate (AMP) และ Guanosine monophosphate (GMP)

ที่มา: Navolanic *et al.* (2003)

โดยกลไกการสร้างกรดยูริกผ่านกระบวนการย่อยสลายพิวรีนเบส เริ่มต้นจาก Adenosine monophosphate (AMP) ถูกเปลี่ยนเป็น Inosine ผ่านกลไกที่แตกต่างกัน 2 ชนิดคือ 1) เกิดการกำจัด Amino group ด้วยเอนไซม์ Deaminase ในรูปของ Inosine monophosphate (IMP) จากนั้นเกิดกระบวนการกำจัดฟอสเฟตด้วยเอนไซม์ Nucleotidase ให้อยู่ในรูป Inosine 2) ในขั้นตอนแรกเกิดการกำจัดหมู่ฟอสเฟต โดยเอนไซม์ Nucleotidase อยู่ในรูปของ Adenosine จากนั้นกำจัด Amino group อยู่ในรูปของ Inosine เช่นเดียวกัน ส่วน Guanine monophosphate (GMP) ถูกเปลี่ยนไปเป็น Guanosine โดยเอนไซม์ Nucleotidase และเปลี่ยนเป็น Guanine โดยเอนไซม์ Purine nucleoside phosphorylase ซึ่ง Inosine จะถูกเปลี่ยนเป็น Hypoxanthine และถูกเปลี่ยนเป็น Xanthine โดยเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และ Guanine จะถูกกำจัด Amino group โดยเอนไซม์ Guanine deaminase เปลี่ยนเป็น Xanthine เช่นเดียวกัน จากนั้นขั้นตอนสุดท้ายคือ Xanthine เข้ามายึดจับกับ Glu803 และ Arg881 ด้วย H-bonding จากนั้น Oxygen ion ของ Glu1262 จะดึงโปรตอนที่ Hydroxyl ของ Molybdenum cofactor ให้

อยู่ในรูป Mo-O^- เมื่อ Glu1262 เกิด Protonate โปรตอนแล้ว Glu1262 จะสามารถเกิด H-bonding กับ Xanthine ได้ จากนั้น Mo-O^- เกิดปฏิกิริยาแทนที่ Hydrogen โดยสร้าง Ether bond ระหว่าง Xanthine และ Molybdenum cofactor ขั้นตอนสุดท้ายเกิดปฏิกิริยา Hydrolysis พันธะ Ether bond ได้ผลิตภัณฑ์ออกมาเป็นกรดตุริริก (Navolanic *et al.*, 2003) ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยาของ แชนทีนออกซิเดสดังแสดงในภาพที่ 8



กระบวนการหมักจากจุลินทรีย์

การหมัก (Fermentation) เป็นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเซลล์ เพื่อสร้างพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์ด้วยเอนไซม์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งต่างจากการหายใจแบบใช้ออกซิเจนที่ใช้ ออกซิเจนที่เป็นสารอนินทรีย์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย มนุษย์รู้จักใช้จุลินทรีย์ให้เป็นประโยชน์ ในการผลิตอาหารและผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มาตั้งแต่โบราณ ตัวอย่างเช่น แอลกอฮอล์ นมเปรี้ยว เนยแข็ง ขนมปัง เป็นต้น โดยอาศัยกระบวนการหมักที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติจากจุลินทรีย์ในอากาศหรือติดมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต โดยปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อกระบวนการหมัก ประกอบด้วย ค่าความ

เป็นกรดต่าง ซึ่งจะช่วยในการควบคุมทั้งชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ นอกจากนี้สารอาหารที่จุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งพลังงานซึ่งมีความแตกต่างสำหรับจุลินทรีย์แต่ละชนิด ปริมาณสารอาหารเป็นตัวควบคุมชนิดของการหมักได้ ปริมาณออกซิเจน (O_2) ในกระบวนการหมักต้องการออกซิเจนในปริมาณเล็กน้อย (Microaerophilic fermentation) อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญหรือในการสร้างเอนไซม์ จุลินทรีย์แต่ละชนิดและปริมาณเกลือมีผลในการเลือกชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในกระบวนการหมัก รวมถึงเป็นตัวกำหนดลักษณะของผลิตภัณฑ์ (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2548) ซึ่งการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ทางอุตสาหกรรมในปัจจุบันอาศัยพื้นฐานการเรียนรู้และพัฒนาจากกระบวนการหมักในสมัยโบราณ ซึ่งจุลินทรีย์ที่ปลอดภัยต่ออาหารบางชนิดสามารถใช้เพื่อเพิ่มคุณค่าให้กับผลิตภัณฑ์อาหาร (Bamforth & Ward, 2014; Chisti, 2010) การหมักสามารถเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของอาหารที่ซับซ้อน ส่งผลต่อคุณภาพ และรสชาติของอาหาร โดยการทำงานของเอนไซม์ในจุลินทรีย์ ซึ่งจะส่งผลต่อคุณสมบัติต่าง ๆ เช่น การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ อาจใช้ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม โรงงานกระดาษ กากน้ำตาลจากอ้อย วัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรกรรม เป็นต้น เพื่อให้ต้นทุนการผลิตต่ำลงและเป็นการกำจัดของเสียที่ทำให้เกิดมลภาวะได้อีกด้วย

จากการศึกษาของ Celik *et al.* (2021) และ Zhou *et al.* (2012) พบว่าแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์และปลอดภัยสำหรับมนุษย์และสัตว์ สามารถเจริญเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีส่วนผสมของวิตามินต่าง ๆ เพื่อช่วยเร่งการเจริญเติบโต เช่น ไบโอติน (Biotin) ไรโบฟลาวิน (Riboflavin) ซึ่งจากการศึกษาของ Siriporn *et al.* (2019) ที่ได้ทำการศึกษาค่าผลของการหมักเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 พบว่าค่าความเป็นกรดต่างของกลุ่มเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนหมักเสริมกลูต้ามีค่าต่ำกว่ากลุ่มของเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนหมักที่ไม่เสริมกลูต้ามีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ปริมาณกรดอะซิติกและแลคติกของกลุ่มเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนหมักเสริมกลูต้ามีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อีกทั้งปริมาณกรดบิวทีริกมีค่าต่ำกว่ากลุ่มของเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนหมักที่ไม่เสริมกลูต้ามีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ค่าแอมโมเนียไนโตรเจนมีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีพบว่าเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนหมักที่เสริมกลูต้ามีปริมาณโปรตีนสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อีกทั้งปริมาณเยื่อใย ปริมาณผนังเซลล์ และเฮมิเซลลูโลสมีค่าต่ำกว่าเปลือกข้าวโพดฝักอ่อนหมักที่ไม่เสริมกลูต้ามีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากการศึกษาสรุปได้ว่าการเสริมกลูต้ามีเชื้อ *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 ทำให้เปลือกข้าวโพดฝักอ่อนหมักมีคุณภาพดีขึ้นเนื่องจากมีปริมาณกรดแลคติกและอะซิติกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Bhat *et al.* (2015) พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* NCIM 2912 สามารถเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผลไม้ ซึ่งจากรายงานของ Casarotti *et al.* (2018) พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus*

casei Lc-1 และ *Streptococcus thermophiles* สามารถเพิ่มปริมาณเส้นใย ระดับฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มได้เช่นกัน นอกจากนี้ ยังมีรายงานที่กล่าวถึงสรรพคุณของการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) อีกมากมาย เช่น รายงานของ Hashemi *et al.* (2017) ที่ทำการศึกษาการหมักน้ำ Sweet lemon (*Citrus limetta*) ด้วยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* LS5 พบว่าสามารถทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่อุดมด้วยโปรไบโอติกสูง และรายงานของ Goswami *et al.* (2018) พบว่าระดับของยูจีนอล (Eugenol) ในถั่วงอกม้า (*Macrotyloma uniflorum*) เพิ่มขึ้นโดยการหมักด้วย *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496 และ *Lactobacillus plantarum* NCDO 1193

นอกจากนี้ การหมักด้วยเชื้อยีสต์สามารถเพิ่มฤทธิ์อนุมูลอิสระให้เพิ่มมากขึ้นในผลิตภัณฑ์อีกด้วย (Kwak *et al.*, 2018) โดยในการศึกษาของ มนตรี และวัชระ (2015) โดยใช้ซังข้าวโพดหมักทดแทนอาหารผสมสำเร็จรูปในไก่ลูกผสมพื้นเมือง พบว่า ประสิทธิภาพการผลิต ได้แก่ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Weight gain; WG) ปริมาณอาหารที่กิน (Feed intake; FI) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อวัน (Average daily gain; ADG) และอัตราการแลกน้ำหนักรวม (Feed conversion ratio: FCR) ของไก่ลูกผสมพื้นเมืองไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุมที่กินอาหารผสมสำเร็จรูป 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้นทุนค่าอาหารของไก่ลูกผสมที่เลี้ยงด้วยซังข้าวโพดหมักที่ 5, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ลดลงเท่ากับ 3, 6 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มระดับของซังข้าวโพดหมักเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ประสิทธิภาพการผลิตลดลงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ จากรายงานของ Amadou *et al.* (2009); Adetuyi, & Ibrahim (2014); Kwak *et al.* (2018) พบว่าการหมักด้วยยีสต์ช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในถั่วเหลือง เมล็ดกระเจียว พืชตระกูลถั่ว และกาแฟ ซึ่งจากรายงานของ Kwak *et al.* (2018) ยังพบข้อมูลเกี่ยวกับการหมักด้วยยีสต์ช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดกาแฟสีเขียว และเพิ่มกลิ่นหอมของกาแฟอีกด้วย

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

1. ไหมข้าวโพดหวาน จาก อำเภอชุมแสง จังหวัดนครสวรรค์
(พิกัด GPS : Q63V+2XF ตำบล ทับกฤษ อำเภอ ชุมแสง นครสวรรค์ 60250)
2. ไหมข้าวโพดทับทิมสยาม จาก อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์
(พิกัด GPS : P392+J9R ตำบล หนองกรด อำเภอเมืองนครสวรรค์ นครสวรรค์ 60240)

แหล่งคาร์บอน

กลูโคส ($C_6H_{12}O_6$)

จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

1. *Lactobacillus casei* TISTR 1463
 2. *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464
- จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. วัสดุอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อ (Plate)
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
3. กระบอกตวง (Glass measuring cylinder)
4. ไม้บรรทัด (Ruler)
5. ปิเปตต์ (Pipette)
6. ลูกยางปิเปตต์ (Rubber bulb)
7. ปีกเกอร์ (Beaker)
8. หลอดทดลอง (Tube)
9. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube stand)
10. แท่งแก้วคนสาร (Stirrer glass rod)
11. ช้อนตักสารเคมี (Spatula)

12. ถุงมือ (Glove)
13. ขวดฉีดสเปรย์ (Foggy)
14. ทิป (Tip)
15. หลอดเซนติฟิวก์ (Centrifuge tube)
16. ไฟแช็ค (Lighter)
17. สำลี (Cotton wool)
18. กรวยแยกสาร (Separatory funnel)
19. หลอดไมโครเซนตริฟิวก์ (Microcentrifuge tube)
20. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette)

2. เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง ทศนิยม 2 ตำแหน่ง และทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ; (Sartorius CP 323S, Scientific Promotion, Germany)
2. หม้อนึ่งความดันสูง (Autoclave) ; (Labo Autoclave, Sanyo, Japan)
3. เตาอบความร้อนและเครื่องคน (Hot plate and magnetic stirrer)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge); (Spectrafuge 16 M, Labnet, USA)
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter); (M-11, Horiba, Japan)
6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer); (UV-1201, Shimadzu Corporation, Japan)
7. เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ; (EYELA rotary evaporator N-100, Tokyo, Japan)
8. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath); (280 series water bath, Pricision, USA)
9. เครื่องทำแห้งเยือกแข็งระบบสุญญากาศ (freeze drying, ยี่ห้อ Heto รุ่น MAXiDRY LYO)
10. เครื่องโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง (High Performance Liquid Chromatograph, HPLC, รุ่น HPLC 1260 Series)
11. เครื่องลิกวิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกแมสสเปกโตรมิเตอร์ (liquid chromatography mass spectrometry mass spectrometry, LC-MS/MS) (Agilent รุ่น HPLC 1260 infinity; QTOF6540UHD)
12. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) (Bruker 400 MHz)

3. สารเคมี

1. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์; (Sigma-aldrich, USA)
2. Butylated hydroxytoluene; (Sigma-aldrich, USA)
3. NaCl ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์; (Sigma-aldrich, USA)
4. Absolute ethanol; (Sigma-aldrich, USA)
5. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; (Sigma-aldrich, USA)
6. Xanthine ($C_5H_4N_4O_2$); (Sigma Analytical grade)
7. Xanthine oxidase (Grade IV: From bovine milk); (Sigma Analytical grade)
8. Allopurinol ($C_5H_4N_4O$); (Sigma Analytical grade)
9. Sodium hydroxide (NaOH); (Merck)
10. Hydrochloric acid (HCl) (37% HCl); (Merck)
11. Potassium phosphate tribasic (K_3PO_4); (Sigma-aldrich, USA)
12. Folin Ciocalteu's phenol reagent; (Fluka)
13. Gallic acid ($C_7H_6O_5$); (Fluka)
14. Sodium carbonate (Na_2CO_3); (Riedel-de Haën)
15. Absolute ethanol (C_2H_6O); (Merck) CapsLk
16. Dimethyl sulfoxide (DMSO); (Riedel-de Haën)
17. Magnesium sulfate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$); (Fluka)
18. Methanol (CH_3OH); (Lab-Scan ; Analytical Reagent)
19. Acetonitrile (CH_3CN); (Lab-Scan ; HPLC)
20. Ethyl acetate ($CH_3COOC_2H_5$); (Lab-Scan)
21. Apigenin ($C_{15}H_{10}O_5$); (Sigma-aldrich, USA)
22. Luteolin ($C_{15}H_{10}O_6$); (Sigma-aldrich, USA)
23. Vitexin ($C_{21}H_{20}O_{10}$); (Sigma-aldrich, USA)
24. Acetone-d 6 (C_3D_6O); (Sigma-aldrich, USA)
25. Glacial acetic acid (CH_3COOH); (Lab-Scan)
26. Phosphoric acid (H_3PO_4); (Lab-Scan)
27. Iron(II) chloride Hexahydrate ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$); (Riedel-de Haën)
28. Sodium acetate tribasic ($C_2H_2NaO_2 \cdot 3H_2O$); (Riedel-de Haën)
29. TPTZ (2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine; (Fluka)
30. L± Ascorbic acid ($C_6H_8O_6$); (Riedel-de Haën)

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. De Man, Rogosa and Sharpe broth (MRS broth) (Sigma-aldrich, USA)
2. Potato Dextrose Broth (PDB) (Sigma-aldrich, USA)
3. Agar (Sigma-aldrich, USA)

ขั้นตอนและวิธีการวิจัย

1. การเตรียมไหมข้าวโพด

ไหมข้าวโพดที่นำมาศึกษา ได้แก่ ไหมข้าวโพดหวาน (Sweet corn) และไหมข้าวโพดทับทิมสยาม (Siam Ruby Queen) แยกออกจากฝักข้าวโพดแหล่งผลิต ระยะเวลาเก็บเกี่ยวประมาณ 73 วัน หลังเริ่มทำการเพาะปลูก เก็บบรรจุลงในถุงพลาสติก เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C จากนั้นล้างทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง และผึ่งเพื่อสะเด็ดน้ำให้แห้ง นำไหมข้าวโพดสดมาหั่นเพื่อลดขนาดของเส้นไหมลงให้มีขนาดประมาณ 2-3 เซนติเมตร จากนั้นชั่งเพื่อบรรจุไหมข้าวโพดลงในถุงพลาสติกพอลิเอทิลีนถุงละ 70 g และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะใช้ในการทดลอง

2. การเตรียมน้ำสารสกัดไหมข้าวโพด

นำไหมข้าวโพดจากข้อ 1 ปริมาณ 140 กรัม เติมน้ำกลั่น 630 ml นำไปต้มเดือดนาน 15 นาที ก่อนนำไปหมักแบบเหลว (Submerged fermentation)

3. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

3.1 การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463

นำเชื้อแบคทีเรียที่แช่แข็งไว้มา cấyเชื้อลงบนอาหารแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อเชื้อจุลินทรีย์ที่ขึ้นบนอาหารแข็ง 2-3 หลูป ใส่ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 100 ml ในพลาสติกขนาด 250 ml บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อ นาที เป็นเวลานาน 16-18 ชั่วโมง

3.2 การเตรียมกล้าเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* 1464

นำเชื้อยีสต์ที่แช่แข็งไว้มา cấyเชื้อลงบนอาหารแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เชื้อเชื้อจุลินทรีย์ที่ขึ้นบนอาหารแข็ง 2-3 หลูป ใส่ลงในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB) ปริมาตร 100 ml ในพลาสติกขนาด 250 ml บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อ นาที เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

3.3 การเตรียมกล้าเชื้อผสมแบคทีเรียและยีสต์

นำกล้าเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 1464 ผสมกัน โดยการเจือจางเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อยีสต์ให้มีปริมาณ 10^6 และ 10^5 CFU ml⁻¹ ตามลำดับ ก่อนนำไปใช้ในการหมัก

4. การหมักไหมข้าวโพด

การหมักไหมข้าวโพดวางแผนการทดลองแบบ

1. การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) 1 ปัจจัย 3 ระดับ
 - 1.1 การหมักแบบเหลว (Submerged fermentation)
 - 1.2 การหมักแบบแห้ง (Solid-state fermentation)
2. การทดลองแบบสุ่มตลอด (Factorial in CRD) ปัจจัย 2x2
 - 1.1 ปัจจัยที่ 1 ชนิดของไหมข้าวโพด
 - 1.2 ปัจจัยที่ 2 ชนิดของการหมัก
 ดังตารางที่ 7 ในแต่ละการหมักจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตาราง 7 แสดงการออกแบบการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) และการหมักแบบแห้ง (Solid-state fermentation)

ชนิดของเชื้อ ชนิดของไหมข้าวโพด	<i>L. casei</i> TISTR 1463	<i>S. cerevisiae</i> TISTR 1464	Mixed
ไหมข้าวโพดหวาน	+	+	+
ไหมข้าวโพดทับทิมสยาม	+	-	-

4.1 การหมักแบบเหลว (Submerged fermentation)

นำสารสกัดไหมข้าวโพดจากข้อที่ 2 ปริมาตร 630 ml ใส่ลงในพลาสติกขนาด 1,000 ml จากนั้นเติมกลูโคส 21 g (30 g/L) ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำสารสกัดไหมข้าวโพดให้มีค่าเท่ากับ 6.0 หลังจากนั้นเติมกล้าเชื้อปริมาณ 70 ml (ร้อยละ 10 ต่อปริมาตรน้ำหมัก) ปิดด้วยจุก Air lock บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 14 วัน ในสภาวะนิ่ง ในระหว่างการหมักจะทำการเก็บตัวอย่าง

น้ำหมักทุกวัน เพื่อติดตามการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และตัวอย่างที่เก็บนั้นจะถูกแช่แข็งไว้เพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางเคมีและชีวภาพต่อไป

4.2 การหมักแบบแห้ง (Solid-state fermentation)

นำไหมข้าวโพดสดจากข้อที่ 1 ปริมาณ 70 g ใส่ลงในโหลปากกว้างขนาด 1,000 ml จากนั้นเติมกล้ำเชื้อปริมาตร 7 ml ซึ่งมีกลูโคสละลายอยู่ 2.1 g (30 g/L) ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำสารสกัดไหมข้าวโพดนั้นให้มีค่าเท่ากับ 6.0 ด้วย ปิดด้วยจุก Air lock และทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน ในระหว่างการหมักจะทำการเก็บตัวอย่างกากไหมข้าวโพดหมักในวันที่ 0, 7 และ 14 ตัวอย่างที่เก็บนั้นจะถูกแช่แข็งไว้เพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางเคมีและชีวภาพต่อไป

5. การเก็บตัวอย่าง

5.1 การเก็บน้ำหมัก

ภายหลังการหมักวันที่ 7 และ 14 น้ำหมักจะถูกนำมาต้มเดือดเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์นาน 15 นาที ก่อนนำมากรองแยกกากออกด้วยตระแกรงขนาด 40 เมท นำกากไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 2-3 วัน จากนั้นเก็บไว้ในสภาวะแห้งที่อุณหภูมิห้อง ส่วนน้ำหมักจะเก็บในตู้แช่แข็งก่อนนำไปทดสอบต่อไป

5.2 การเก็บกากไหมข้าวโพดหมัก

ภายหลังการหมักวันที่ 14 กากไหมข้าวโพดจะถูกไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 2-3 วัน จากนั้นเก็บไว้ในสภาวะแห้งที่อุณหภูมิห้อง

6. การบันทึกข้อมูลในระหว่างการหมัก

1. อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
2. ค่าการละลายได้ของของแข็งในน้ำหมัก
3. ความเป็นกรดทั้งหมด (%)

7. การวิเคราะห์

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด
2. วัดค่า pH

การวิเคราะห์ทางชีวภาพ

1. การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของน้ำหมักไหมข้าวโพด

เตรียมหลอดทดลอง 12 หลอด เขียนหมายเลขกำกับ จากนั้นทำการปิเปตสารละลายลงในหลอดทดลองตามลำดับ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 8-10 โดยใส่เอนไซม์เป็นลำดับสุดท้าย ยกเว้นหลอดที่ 1 ให้เติม 0.5 M HCl ก่อนแล้วจึงเติมเอนไซม์ เมื่อเติมเอนไซม์แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 0.5 M HCl ในหลอดที่ 2-12 หลอดละ 0.1 ml ผสมให้เข้ากัน (หลอดที่ 1 เติมเอนไซม์แทน 0.5 M HCl) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 nm โดยใช้หลอดที่ 1 ปรับเป็น 0 บันทึกผลในตาราง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตาราง 8 การเตรียมสารผสมที่มี 0.02 mM แซนทีน และน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารละลาย	หลอดทดลองที่ (ml)			
	1	2	3	4
50 mM Potassium phosphate buffer pH 7.5	1.8	1.8	1.8	1.8
0.02 mM Xanthine Solution	1.0	1.0	1.0	1.0
10 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	0.1	-	-	-
25 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	0.1	-	-
50 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	-	0.1	-
100 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	-	-	0.1
0.2 unit/ml xanthine oxidase	0.1	0.1	0.1	0.1
0.5 HCl	0.1	0.1	0.1	0.1
Total volume	3.1	3.1	3.1	3.1

ตาราง 9 การเตรียมสารผสมที่มี 0.04 mM แซนทีน และน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารละลาย	หลอดทดลองที่ (ml)			
	1	2	3	4
50 mM Potassium phosphate buffer pH 7.5	1.8	1.8	1.8	1.8
0.04 mM Xanthine Solution	1.0	1.0	1.0	1.0
10 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	0.1	-	-	-
25 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	0.1	-	-
50 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	-	0.1	-
100 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	-	-	0.1
0.2 unit/ml xanthine oxidase	0.1	0.1	0.1	0.1
0.5 HCl	0.1	0.1	0.1	0.1
Total volume	3.1	3.1	3.1	3.1

ตาราง 10 การเตรียมสารผสมที่มี 0.06 mM แซนทีน และน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารละลาย	หลอดทดลองที่ (ml)			
	1	2	3	4
50 mM Potassium phosphate buffer pH 7.5	1.8	1.8	1.8	1.8
0.06 mM Xanthine Solution	1.0	1.0	1.0	1.0
10 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	0.1	-	-	-
25 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	0.1	-	-
50 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	-	0.1	-
100 µg/ml น้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน	-	-	-	0.1
0.2 unit/ml xanthine oxidase	0.1	0.1	0.1	0.1
0.5 HCl	0.1	0.1	0.1	0.1
Total volume	3.1	3.1	3.1	3.1

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของน้ำหมัก และสารสกัดจากกากแห้งของไหมข้าวโพดหมัก ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสจะแสดงออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% Inhibitor) ดังสมการ

$$\% \text{ Inhibitor} = ((A-B)-(C-D)/A-B) \times 100$$

โดยค่า A คือค่า Activity ของเอนไซม์ที่ไม่มีสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ

B คือค่า Control ของค่า A ที่ไม่มีทั้งสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการทดสอบและเอนไซม์

C คือค่า Activity ของเอนไซม์ที่มีสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการทดสอบและเอนไซม์

D คือค่า Activity ของเอนไซม์ที่มีเฉพาะสารสกัดตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ แต่ไม่มีเอนไซม์ Allopurinol (10, 25, 50 และ 100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) ซึ่งทราบว่าเป็น inhibitor ของ xanthine oxidase ใช้เป็น positive control

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยวิธี DNS Method (Miller, 1959)

ปิเปตต์ตัวอย่างน้ำหมักจากไหมข้าวโพด 0.5 ml ลงในหลอดทดลอง จากนั้นปิเปตต์สารละลาย DNS ปริมาตร 0.5 ml นำไปเขย่าให้เข้ากันแล้วต้มน้ำเดือดทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นนำหลอดทดลองไปแช่ในอ่างน้ำเย็น 10 นาที ทำการเติมน้ำกลั่นใสในหลอดทดลองหลอดละ 2.5 ml นำไปเขย่าให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 540 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยหาได้จากสมการ

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/L) = [ค่า OD₅₄₀ x อัตราการเจือจาง] / ค่าความชันของกราฟมาตรฐานกลูโคส

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Singleton and Rossi, 1965)

การศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu's phenol reagent ถูกอ้างอิงจาก (Singleton and Rossi, 1965) โดยเริ่มจากปิเปตต์ตัวอย่างน้ำหมักจากไหมข้าวโพด 0.3 ml ตามด้วยสารละลาย 10 % Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Merck, Germany) ปริมาตร 1.5 ml จากนั้นเติม Na₂CO₃ (7.5% w/v) ปริมาตร 1.2 ml และทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบน้ำ

หมักตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) (Fluka, United States) เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำหมักตัวอย่าง

3. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์โดยวิธี Aluminum chloride colorimetric method (ดัดแปลงจาก Prommuak *et al.*, 2008)

การศึกษาหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยวิธี Aluminum chloride colorimetric method ถูกดัดแปลงวิธีจาก (Prommuak *et al.*, 2008) โดยเริ่มจากปิเปตตัวอย่างน้ำหมักจากหมักข้าวโพด 0.5 ml ตามด้วยเอทานอล ปริมาตร 1.5 ml ตามด้วย 10% aluminium chloride ปริมาตร 0.1 ml ตามด้วย 1M potassium acetate 0.1 ml จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 2.8 ml และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm นำผลที่ได้จากการทดสอบน้ำหมักตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอควิซิทิน (Quercetin) (Sigma-aldrich, USA) เพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำหมักตัวอย่าง

4. การออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ โดยวิธีเอบีทีเอส (ABTS) (Bafna Mayur, 2010)

การศึกษาฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ โดยวิธีเอบีทีเอส (ABTS) ถูกอ้างอิงจาก (Bafna Mayur, 2010) โดยเริ่มจากการเตรียม stock ABTS โดยชั่ง ABTS 0.0768 g และ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 0.0132 g จากนั้นละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 ml ใส่ขวดสีชา เก็บในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังครบเวลา นำ stock ABTS มาเจือจางเพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm เท่ากับ 0.7 จากนั้นดูดสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้วมา 200 μ l ทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 3.5, 4.0, และ 5.0 μ g/ml หรือสารควบคุม และสารสกัดในปริมาตรอย่างละ 10 μ l ในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้สักครู่ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ และพล็อตกราฟมาตรฐาน Trolox

$$\text{สูตรคำนวณ \% Inhibition of ABTS} = (AC-AS)/AC \times 100$$

โดยที่ AC คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน

AS คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์สถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics 15 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว Analysis of Variance (ANOVA) เพื่อทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มตัวอย่าง ($P < 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ข้อมูลที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย



บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากการศึกษาวิจัยการออกฤทธิ์ของสารประกอบชีวภาพจากไหมข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L.) หมัก เพื่อเปรียบเทียบผลของการหมักไหมข้าวโพดระหว่างเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 ทั้งเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสม ต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด นอกจากนี้ยังศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของไหมข้าวโพดหมัก และศึกษาลักษณะการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสจากไหมข้าวโพดหมัก จึงทำการศึกษาดังนี้

1. การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
2. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด
3. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์
4. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีเอบีทีเอส
5. ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของน้ำหมักไหมข้าวโพด
6. ทดสอบกรดอะมิโน สารหนู และตะกั่วในน้ำหมักไหมข้าวโพด
7. ศึกษาสารพิษทุกษเคมีในไหมข้าวโพดที่วิเคราะห์แยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identify) ด้วย LC/MS/MS

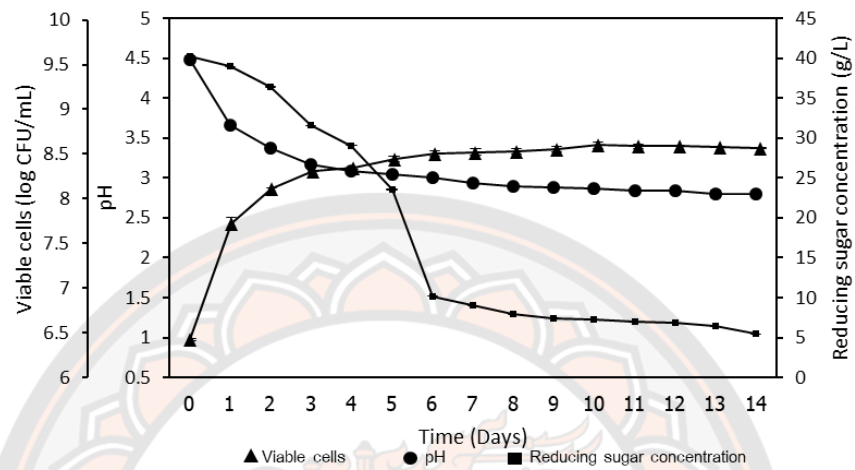
จากการทดลองได้ผลการทดลองดังนี้

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

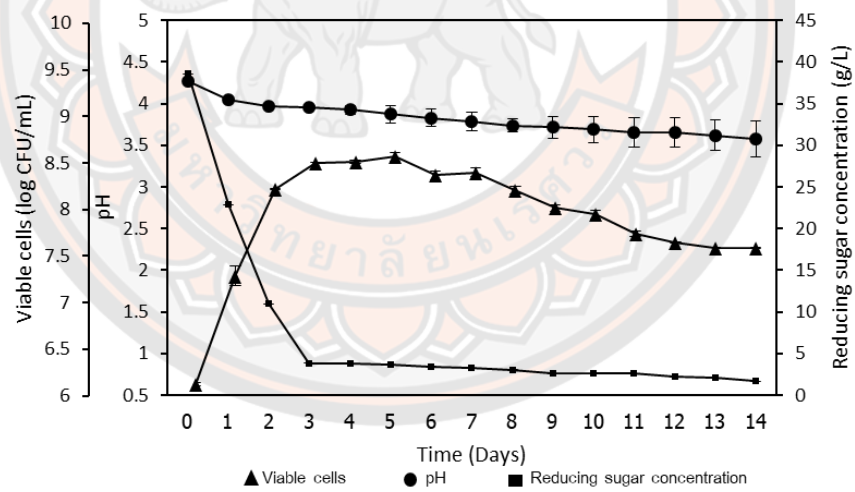
จากการศึกษาการหมักไหมข้าวโพดหวานด้วยจุลินทรีย์ 2 ชนิด ทั้งแบบเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมสองชนิด ผลการเปลี่ยนแปลงระหว่างหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) สามารถแสดงได้ดังภาพที่ 9 พบว่าปริมาณเชื้อมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1-4 วันแรก เนื่องจากการใช้ออกซิเจนและน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำไหมข้าวโพด เมื่อออกซิเจนเริ่มหมดเชื้อจุลินทรีย์จะหยุดเพิ่มจำนวนและเปลี่ยนน้ำตาลที่เหลือให้อยู่ในรูปของแอลกอฮอล์ โดยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 เมื่อหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) จนครบ 14 วันแล้ว จะเห็นได้ว่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ ค่าพีเอช และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มคงที่และลดลง สามารถหยุดกระบวนการหมักได้ สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชพบว่ามีค่าลดลงจาก 4.48 เป็น 2.80 ในเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 ในเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 จาก 4.28 เป็น 3.58 และ 4.56 เป็น 3.05 ในการหมัก 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน เช่นเดียวกับในไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วย

เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 จะเห็นได้ว่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ ค่าพีเอช และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มคงที่และลดลงตามระยะเวลาในการหมัก

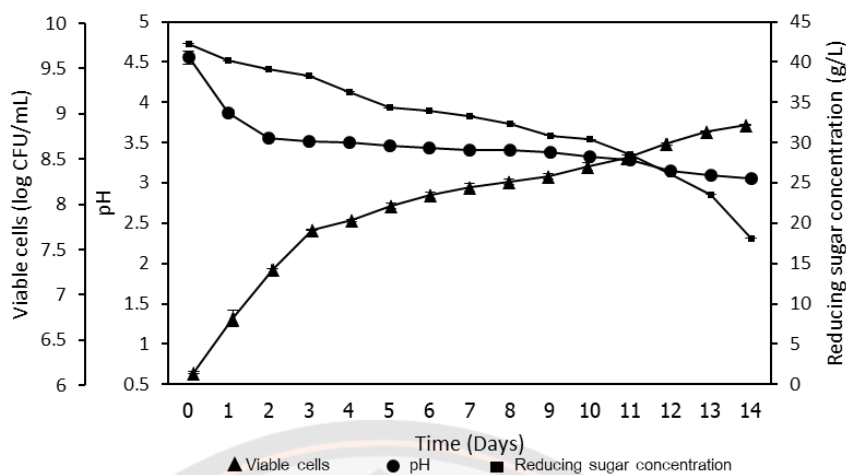
A



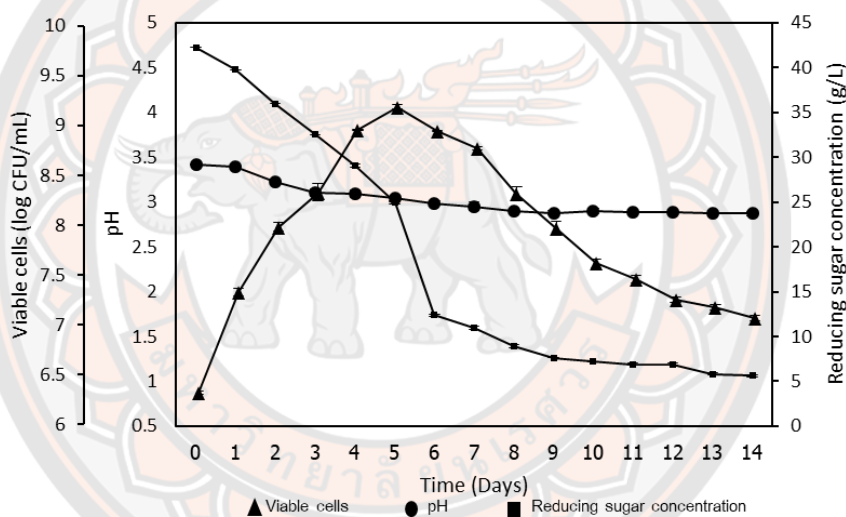
B



C



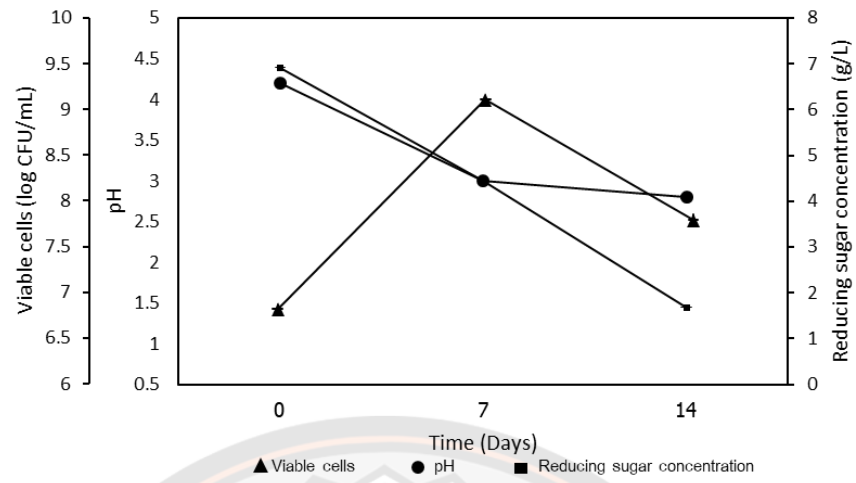
D



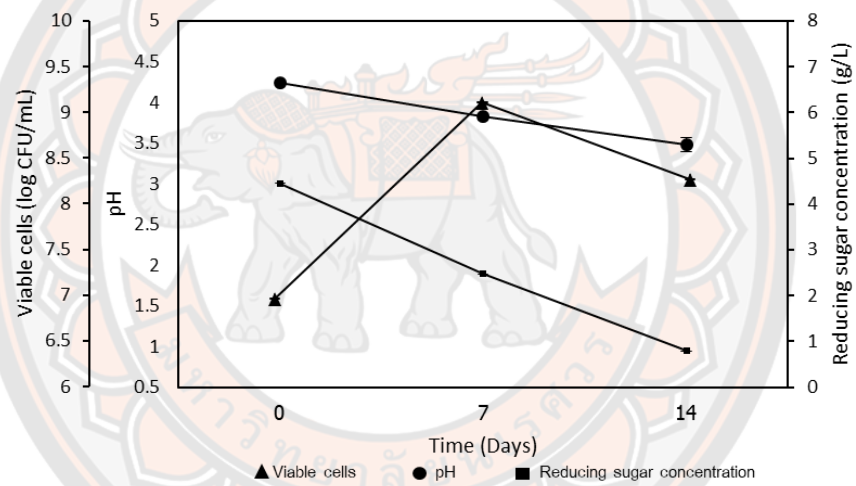
ภาพ 9 โพรไฟล์การหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) ของไหมข้าวโพดหวาน โดย (กราฟ A); การหมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463 (กราฟ B); การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 1464 (กราฟ C); การหมักด้วย 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน และ (กราฟ D); ไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463

ในการหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยามแบบแห้ง (Solid state fermentation) พบปริมาณเชื้อมีการเพิ่มขึ้นในช่วง 1-7 วันแรก เช่นเดียวกับการหมักแบบเหลว เมื่อครบ 14 วัน จะเห็นได้ว่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ ค่าพีเอช และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มลดลง และสามารถหยุดกระบวนการหมักได้ดังแสดงในภาพที่ 10

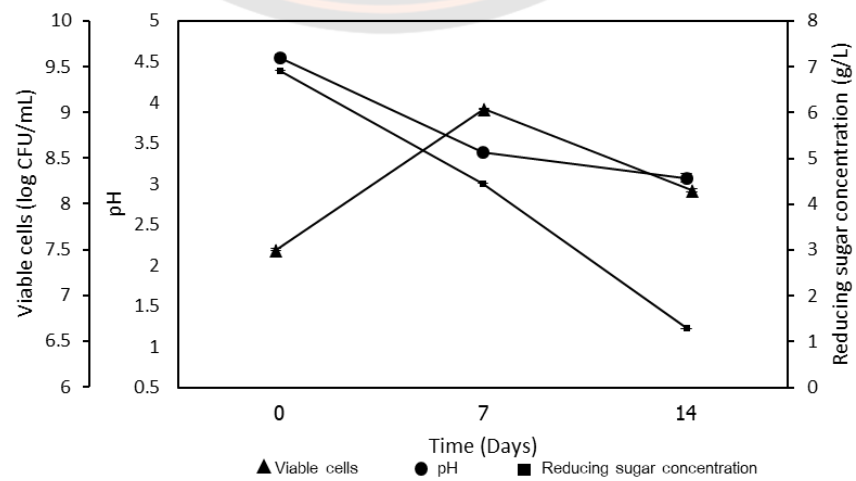
A



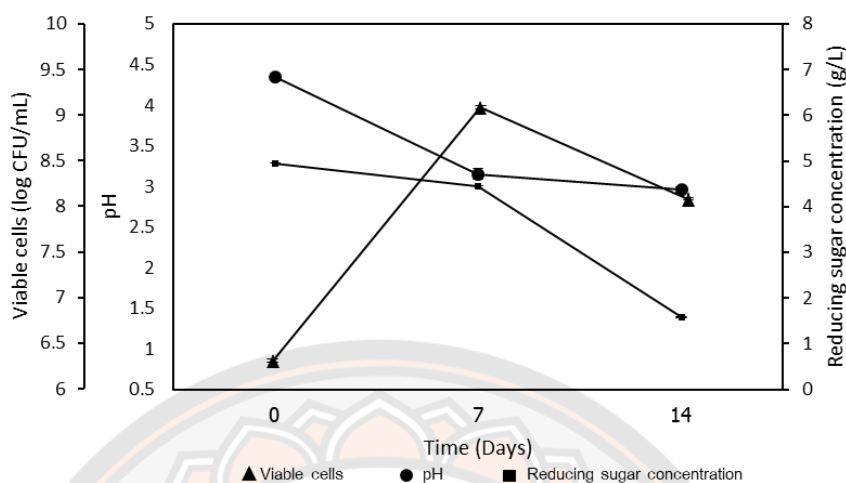
B



C



D

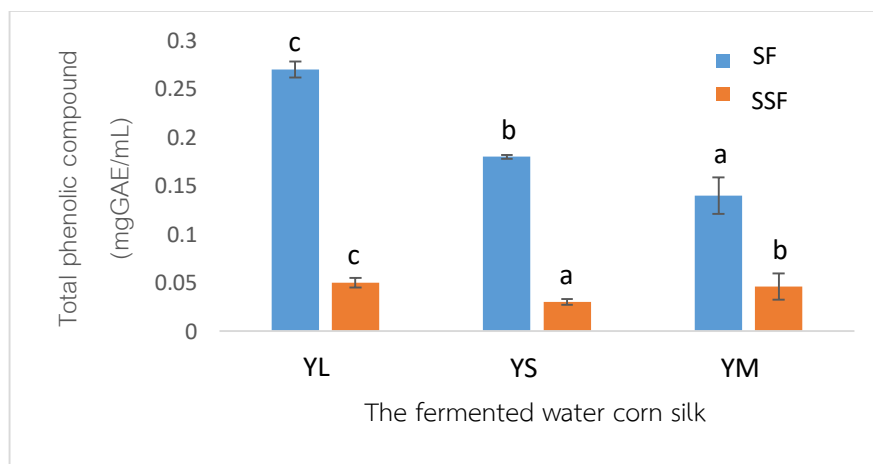


ภาพ 10 โปรไฟล์การหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) ของไหมข้าวโพดหวาน โดย (กราฟ A); การหมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463 (กราฟ B); การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 1464 (กราฟ C); การหมักด้วย 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน และ (กราฟ D); ไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463

ผลการทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำหมักไหมข้าวโพด (Total Phenolic content)

การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดจากน้ำหมักไหมข้าวโพด ด้วยวิธี Folin-Caicateu method ซึ่งเป็นการตรวจวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าน้ำหมักไหมข้าวโพดเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ในการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของ Gallic acid โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05 mg/ml) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ของน้ำหมักไหมข้าวโพดมาคำนวณหาสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid โดยแสดงค่าในรูป GAE (Gallic Acid Equivalent) มีหน่วยเป็น mg gallic acid/ml พบว่าไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* TISTR 1463 ในวันสุดท้ายมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวันแรกของการหมักทั้งการหมักแบบ Submerged fermentation และ Solid state fermentation มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 0.27 mg GAE/ml และ 0.05 mg GAE/ml

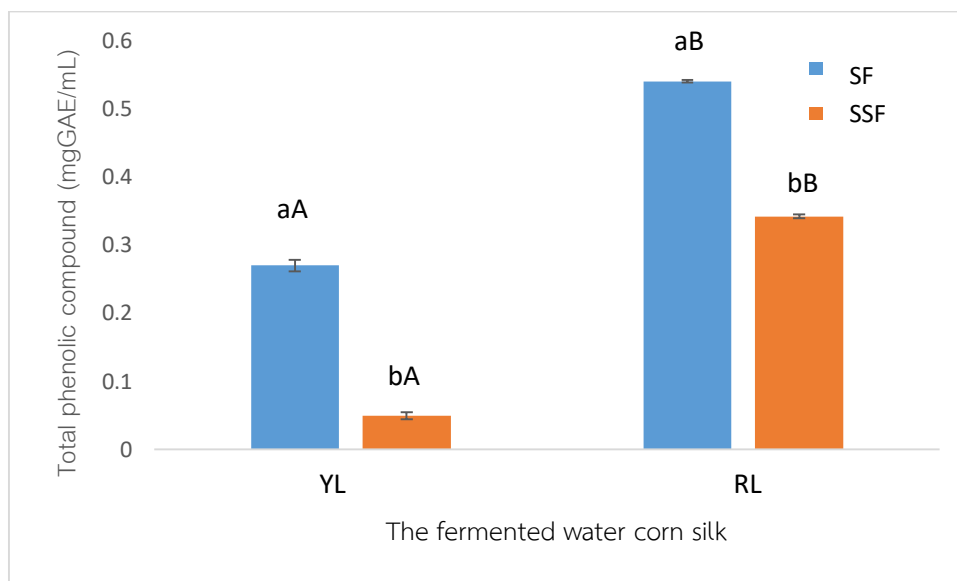
ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ การหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 และ 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 11



หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$) ระหว่างการหมักด้วยเชื้อที่ต่างชนิดกัน โดย SF: Submerged Fermentation, SSF: Solid State Fermentation

ภาพ 11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน ; YL (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463); YS (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 1464); YM (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วย 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน)

จากผลการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน และไหมข้าวโพดทับทิมสยาม ในการหมักแบบ Submerged fermentation และ Solid state fermentation พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในไหมข้าวโพดทับทิมสยามมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 0.54 mg GAE/ml และ 0.342 mg GAE/ml ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าในไหมข้าวโพดหวาน (แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)) ดังแสดงในภาพที่ 12



หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$) ระหว่างไหมข้าวโพดต่างชนิดแต่หมักด้วยวิธีเดียวกัน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่ที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$) ระหว่างไหมข้าวโพดชนิดเดียวกันแต่หมักด้วยวิธีต่างกัน

SF: Submerged Fermentation, SFF: Solid State Fermentation

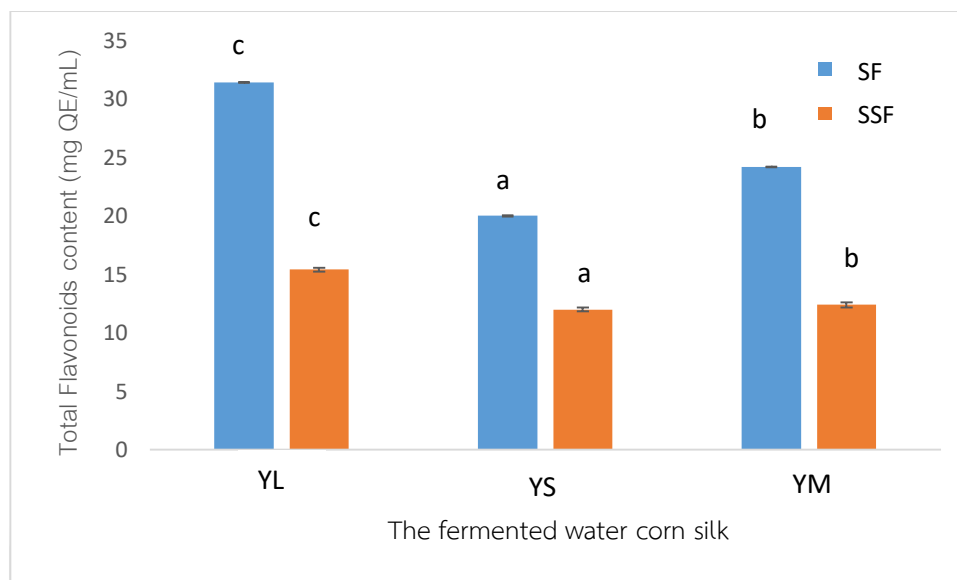
ภาพ 12 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน และไหมข้าวโพดทับทิมสยาม

; YL (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) และ RL (ไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463)

ผลการทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ในน้ำหมักไหมข้าวโพด (Total Flavonoids content)

การทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากน้ำหมักไหมข้าวโพด ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric method (ดัดแปลงจาก Prommuak et al., 2008) โดยนำน้ำหมักมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 415 nm ในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของเคอควิทิน โดยใช้สารละลายมาตรฐานเคอควิทิน (Quercetin) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 20, 40, 60, 80 และ 100 mg/ml) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ของน้ำหมักไหมข้าวโพดมาคำนวณหาสารฟลาโวนอยด์โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Quercetin มีหน่วยเป็น mg QE/mL พบว่าไหมข้าวโพดที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* TISTR 1463 ในวันสุดท้ายมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด ซึ่งเมื่อ

เปรียบเทียบกับวันแรกของการหมักทั้งการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) และการหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) ซึ่งไหม้ข้าวโพดหวานมีปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 31.4 mg QE/ml และ 15.4 mg QE/ml ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 13

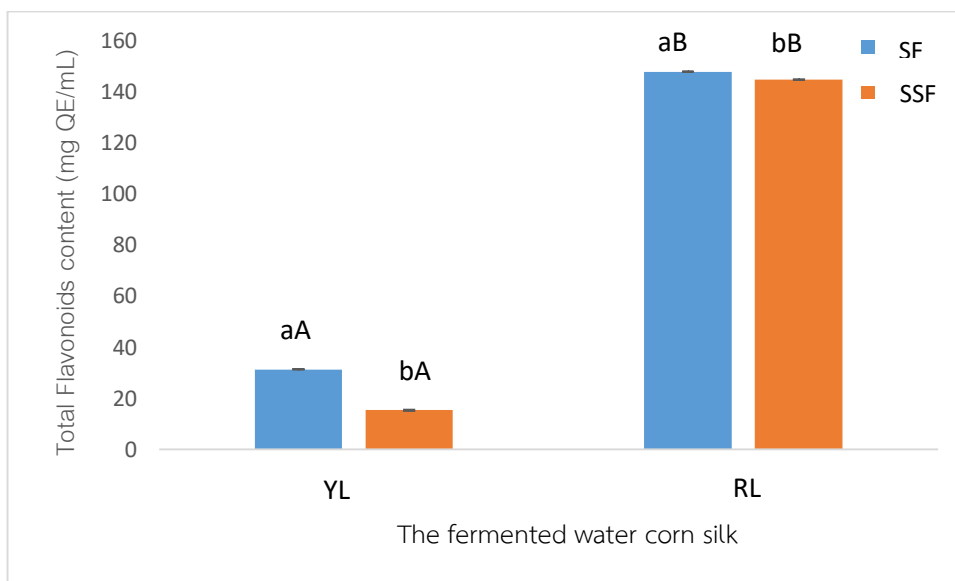


หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$) ระหว่างการหมักด้วยเชื้อที่ต่างชนิดกัน โดย SF: Submerged Fermentation, SSF: Solid State Fermentation

ภาพ 13 ปริมาณฟลาโวนอยด์ ของน้ำหมักไหม้ข้าวโพดหวาน

; YL (ไหม้ข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) YS (ไหม้ข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 1464) YM (ไหม้ข้าวโพดหวานที่หมักด้วย 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน)

จากผลการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์ ของน้ำหมักไหม้ข้าวโพดหวาน และไหม้ข้าวโพดทับทิมสยาม ในการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) และแบบแห้ง (Solid state fermentation) พบปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 147.8 mg QE/ml และ 144.7 mg QE/ml ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าในไหม้ข้าวโพดหวาน (แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)) โดยจะเห็นได้ชัดว่าชนิดของไหม้ข้าวโพดมีผลต่อปริมาณฟลาโวนอยด์อย่างมาก ดังแสดงในภาพที่ 14



หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$) ระหว่าง
โหมข้าวโพดต่างชนิดแต่หมักด้วยวิธีเดียวกัน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่ที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$)
ระหว่างโหมข้าวโพดชนิดเดียวกันแต่หมักด้วยวิธีต่างกัน

SF: Submerged Fermentation, SSF: Solid State Fermentation

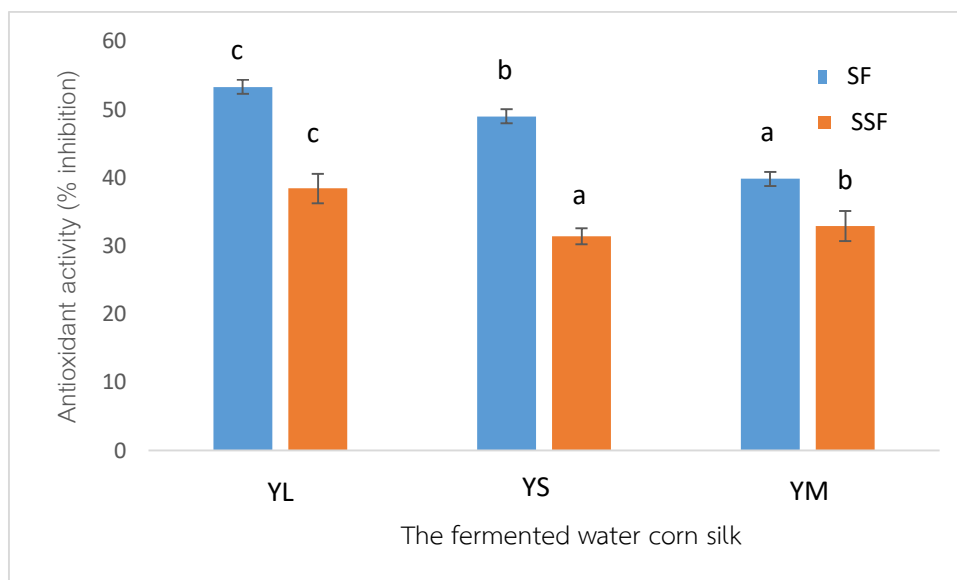
ภาพ 14 เปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์ ของน้ำหมักโหมข้าวโพดหวาน และโหมข้าวโพดทับทิม
สยาม

; YL (โหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) และ RL (โหมข้าวโพดทับทิมสยามที่
หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี (ABTS assay)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากน้ำหมักโหมข้าวโพดหวาน ด้วยวิธี 2,2'-Azino-bis (3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid) (ABTS assay) โดยนำน้ำหมักมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ในการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ Trolox โดยใช้สารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.5, 1.0, 2.0 และ 2.5 $\mu\text{g/ml}$) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ของน้ำหมักโหมข้าวโพดหวานมาคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox โดยแสดงค่าในรูป (% inhibition) พบว่าโหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* TISTR 1463 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 53.31% ซึ่งสูงกว่าการ

หมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 และ 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 15

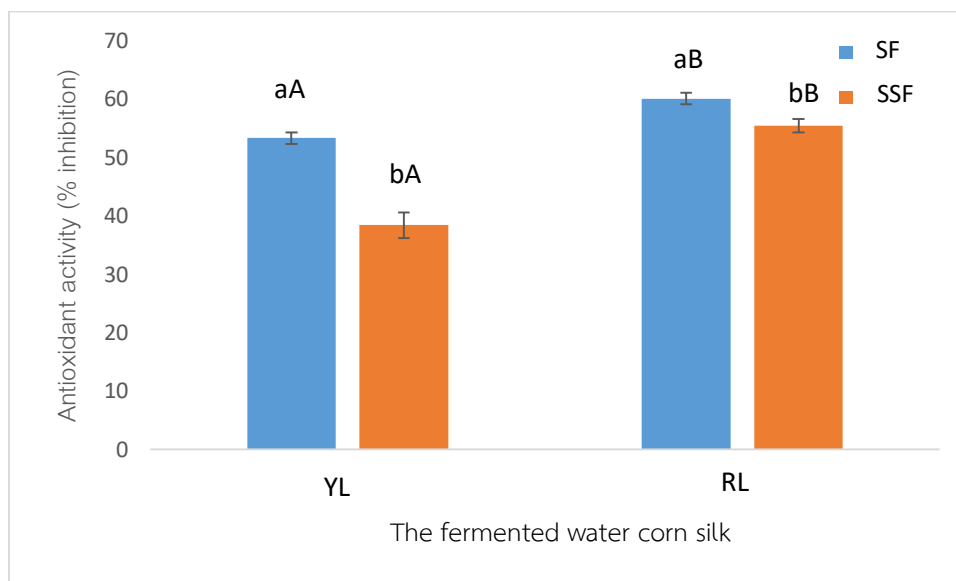


หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$) ระหว่างการหมักด้วยเชื้อที่ต่างชนิดกัน โดย SF: Submerged Fermentation, SSF: Solid State Fermentation

ภาพ 15 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน

; YL (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) YS (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 1464) YM (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วย 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน)

จากผลการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน และไหมข้าวโพดทับทิมสยาม ในการหมักแบบ Submerged fermentation และ Solid state fermentation ไหมข้าวโพดทับทิมสยาม พบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 60.06 % และ 55.41 % ซึ่งสูงกว่าในไหมข้าวโพดหวาน (แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)) โดยจะเห็นได้ชัดว่าชนิดของไหมข้าวโพดมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างมาก ดังแสดงในภาพที่ 16



หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$) ระหว่างไหมข้าวโพดต่างชนิดแต่หมักด้วยวิธีเดียวกัน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่ที่แตกต่างกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ ($P < 0.05$) ระหว่างไหมข้าวโพดชนิดเดียวกันแต่หมักด้วยวิธีต่างกัน

SF: Submerged Fermentation, SFF: Solid State Fermentation

ภาพ 16 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน และไหมข้าวโพดทับทิมสยาม

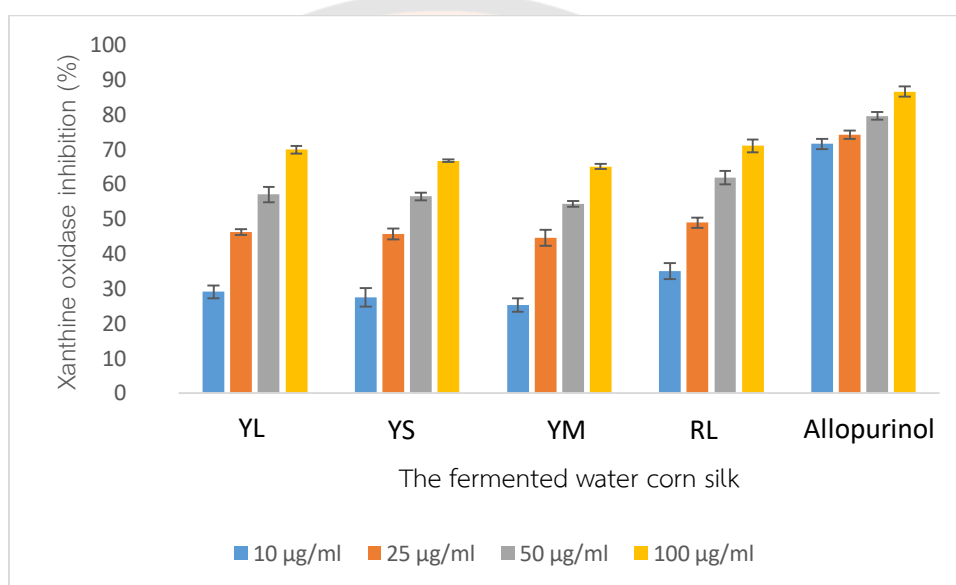
; YL (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) และ RL (ไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463)

ผลการทดสอบฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพด ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

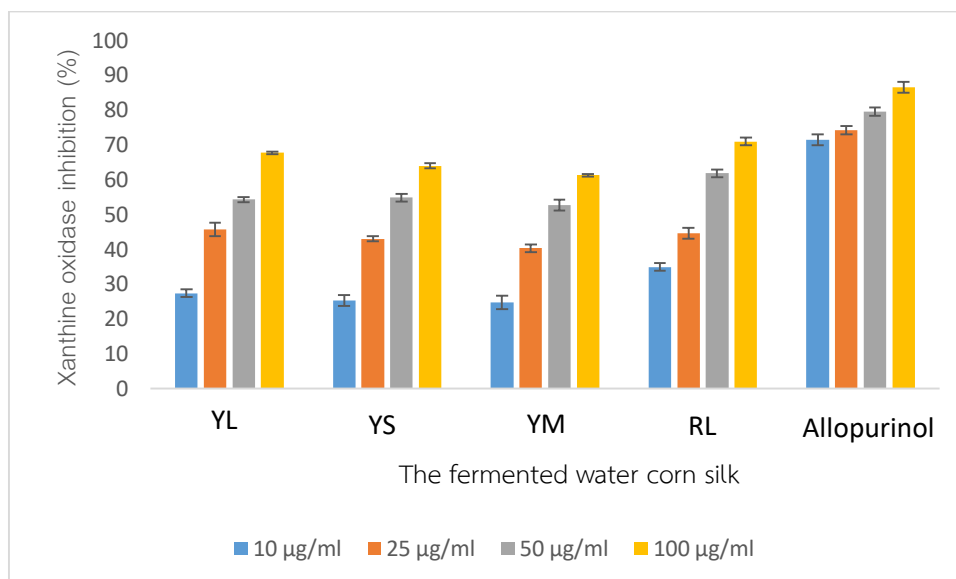
จากการทดสอบคุณสมบัติของน้ำหมักไหมข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยการเติมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในปฏิกิริยาสารผสม เมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดลงแล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 nm แล้วนำค่าการดูดกลืนที่วัดได้ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (% inhibition) จากสมการที่ (1)

$$\% \text{ Inhibitor} = ((A-B)-(C-D)/A-B) \times 100 \quad (1)$$

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน พบว่า น้ำหมักไหมข้าวโพดหวานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (10, 25, 50 และ 100 µg/ml) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และพบว่าที่ความเข้มข้น 10 และ 25 µg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้น้อยกว่าร้อยละ 50 ส่วนที่ความเข้มข้น 50 และ 100 µg/ml ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากกว่า 50 แต่เมื่อเปรียบเทียบกับยาอัลโลพูรินอล พบว่าน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้น้อยกว่า ดังแสดงในภาพที่ 17-18

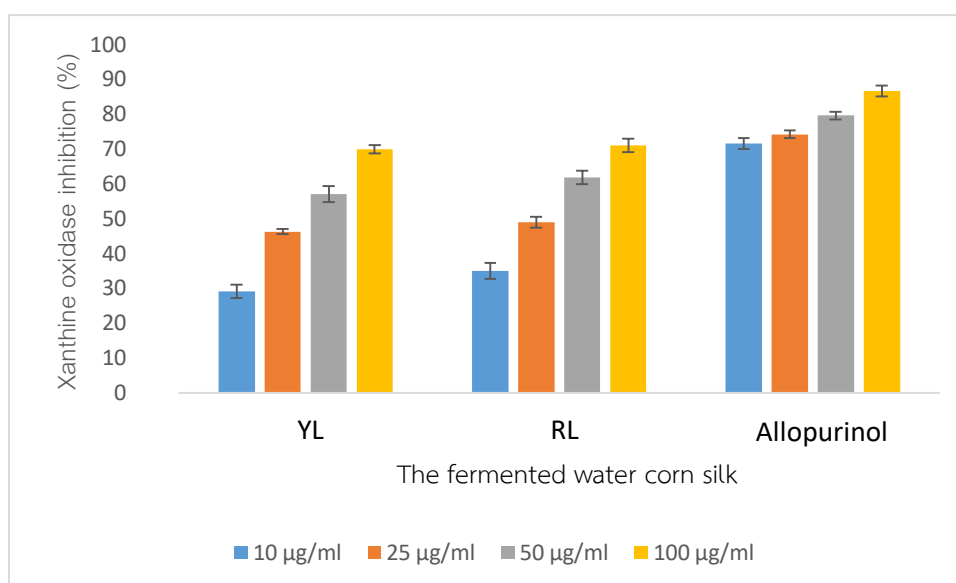


ภาพ 17 ฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพดที่หมักแบบเหลว (Submerged fermentation) ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง ; YL (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) YS (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 1464) YM (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วย 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน) RL (ไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) และ Allopurinol (อัลโลพูรินอล)



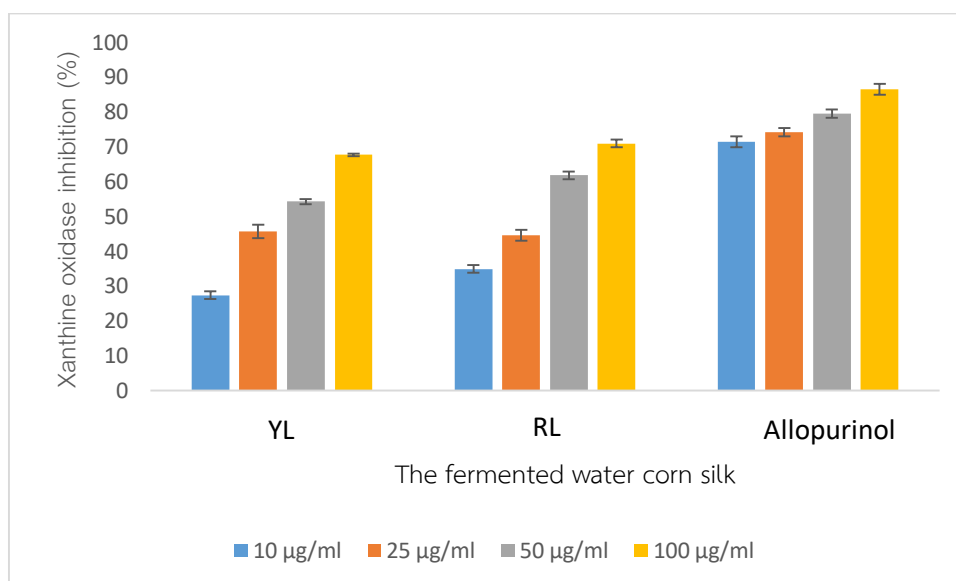
ภาพ 18 ฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพดที่หมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง ; YL (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) YS (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 1464) YM (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วย 2 เชื้อข้างต้นผสมกัน) RL (ไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) และ Allopurinol (อัลโลพูรินอล)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส เปรียบเทียบในน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน และไหมข้าวโพดทับทิมสยาม โดยการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) (ภาพที่ 19) พบว่าน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (10, 25, 50 และ 100 µg/ml) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และพบว่าที่ความเข้มข้นต่าง 10 และ 25 µg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้น้อยกว่าร้อยละ 50 ส่วนที่ความเข้มข้น 50 และ 100 µg/ml ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน และไหมข้าวโพดทับทิมสยามมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากกว่า 50 อีกทั้งจากผลการศึกษายังพบว่าโดยในไหมข้าวโพดทับทิมสยาม (73.04 ± 1.90) ให้ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสสูงกว่าไหมข้าวโพดหวาน (69.53 ± 1.14) อย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับยาอัลโลพูรินอล พบว่าน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้น้อยกว่า



ภาพ 19 เปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยาม ในการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง ; YL (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) RL (ไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) และ Allopurinol (อัลโลพูรินอล)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส เปรียบเทียบในน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน และไหมข้าวโพดทับทิมสยาม โดยการหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) (ภาพที่ 20) พบว่าน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (10, 25, 50 และ 100 µg/ml) มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และพบว่าที่ความเข้มข้นต่าง 10 และ 25 µg/ml มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้น้อยกว่าร้อยละ 50 ส่วนที่ความเข้มข้น 50 และ 100 µg/ml ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน และไหมข้าวโพดทับทิมสยามมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากกว่า 50 อีกทั้งจากผลการศึกษายังพบว่าโดยในไหมข้าวโพดทับทิมสยาม (71.33 ± 1.14) ให้ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสสูงกว่าไหมข้าวโพดหวาน (67.03 ± 0.38) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับยาอัลโลพูรินอล พบว่าน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้น้อยกว่า



ภาพ 20 เปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยาม ในการหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) ต่อการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในหลอดทดลอง ; YL (ไหมข้าวโพดหวานที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) RL (ไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อ *L. casei* TISTR 1463) และ Allopurinol (อัลโลพูรินอล)

ผลการทดสอบกรดอะมิโน สารหนู และตะกั่ว ในน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน

จากการศึกษาตรวจหากรดอะมิโน (In-house method TE-CH-372 based on Official Journal of the European Journal of communities, L257/16 by Amino Acid Analyzer Technique. และ In-house method TE-CH-373 based on Journal Food Chemistry, Vol. 193(2016) P.26-29 by HPLC Technique.) และจากการตรวจหาสารหนู และตะกั่ว (In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019) 986.15 by ICP-MS Technique และ In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019) 999.10 by ICP-MS Technique) ในน้ำหมักไหมข้าวโพดหวานและน้ำหมักข้าวโพดทับทิมสยาม พบว่า ไม่พบกรดอะมิโน ไม่พบสารหนู และตะกั่วในน้ำหมักไหมข้าวโพดทั้ง 2 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 11 และ 12 ตามลำดับ

ตาราง 11 ผลการทดสอบกรดอะมิโน สารหนู และตะกั่ว ในน้ำหมักไหมข้าวโพดหวาน

Test item	Result	Unit	LOD	Reference Method
Amino acid profiles				
Aspartic acid	Not Detected	mg/100mL	100.00	In-house method TE-CH-372 based on Official Journal of the European Journal of communities, L257/16 by Amino Acid Analyzer Technique.
Threonine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Serine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Glutamic acid	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Glycine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Alanine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Cystine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Valine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Methionine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Isoleucine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Leucine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Tyrosine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Phenylalanine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Histidine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Hydroxylysine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Lysine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Arginine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Hydroxyproline	Not Detected	mg/100mL	200.00	
Proline	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Tryptophan	Not Detected	mg/100mL	50.00	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019) 986.15 by ICP-MS Technique
Arsenic (As)	Not Detected	mg/kg	0.025	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019) 999.10 by ICP-MS Technique
Lead (Pb)	Not Detected	mg/kg	0.010	

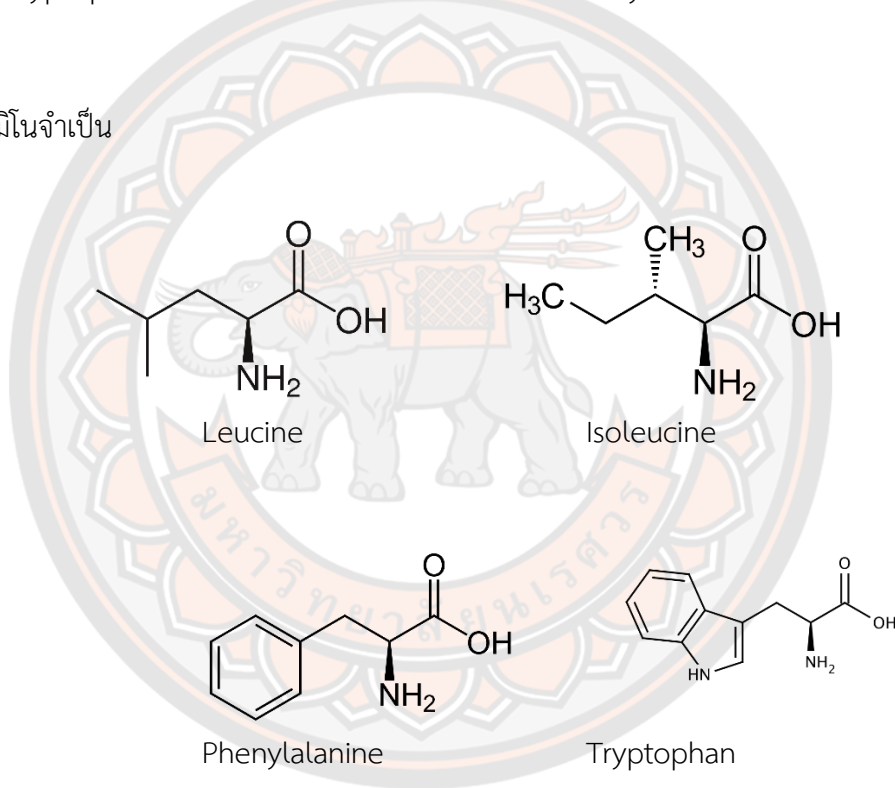
ตาราง 12 ผลการทดสอบกรดอะมิโน สารหนู และตะกั่ว ในน้ำหมักไหมข้าวโพดทับทิมสยาม

Test item	Result	Unit	LOD	Reference Method
Amino acid profiles				
Aspartic acid	Not Detected	mg/100mL	100.00	In-house method TE-CH-372 based on Official Journal of the European Journal of communities, L257/16 by Amino Acid Analyzer Technique.
Threonine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Serine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Glutamic acid	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Glycine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Alanine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Cystine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Valine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Methionine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Isoleucine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Leucine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Tyrosine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Phenylalanine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Histidine	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Hydroxylysine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Lysine	Not Detected	mg/100mL	50.00	In-house method TE-CH-373 based on Journal Food Chemistry, Vol.193 (2016) P.26-29 by HPLC Technique.
Arginine	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Hydroxyproline	Not Detected	mg/100mL	200.00	
Proline	Not Detected	mg/100mL	100.00	
Tryptophan	Not Detected	mg/100mL	50.00	
Arsenic (As)	Not Detected	mg/kg	0.025	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019) 986.15 by ICP-MS Technique
Lead (Pb)	Not Detected	mg/kg	0.010	In-house method TE-CH-134 based on AOAC (2019) 999.10 by ICP-MS Technique

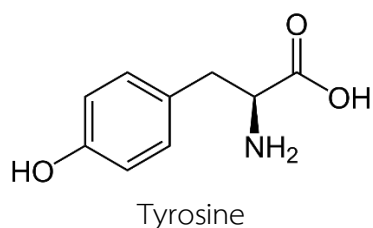
สารพิษเคมีในไหมข้าวโพดที่วิเคราะห์แยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identify) ด้วย LC/MS

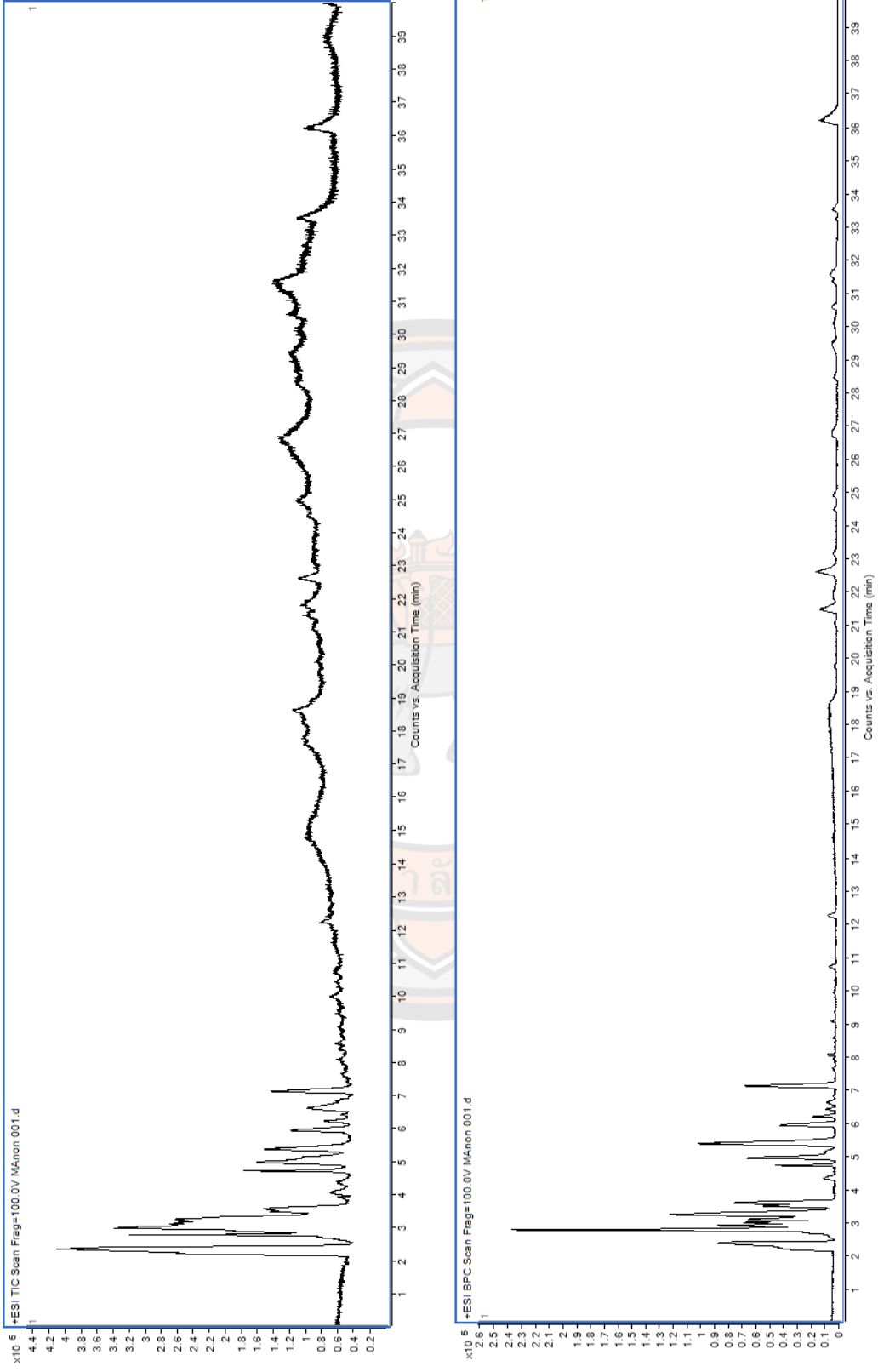
การคัดแยกสารพิษเคมีในสารสกัดไหมข้าวโพด เมื่อนำสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน มาวิเคราะห์แยกและทำให้สารแตกตัวเป็นไอออน ด้วยเครื่อง LC/MS พบว่า ข้อมูลที่ได้จากค่ามวลต่อประจุ(m/z) ทำให้ทราบน้ำหนักโมเลกุลของสารที่มีในสารสกัดจากไหมข้าวโพดหวาน และเมื่อนำค่ามวลต่อประจุของสารแต่ละชนิดมาพิจารณาโครงสร้างทางเคมีพบสารประกอบทั้งหมด 40 ชนิด แต่ระบุได้เพียง 30 ชนิด ดังแสดงในภาพที่ 21 และตารางที่ 13 พบกรดอะมิโนบางชนิด เป็นกรดอะมิโนจำเป็น คือ ลิวซีน (Leucine), ไอโซลิวซีน (Isoleucine), ฟีนีลอะลานีน (Phenylalanine) และ ทริปโตเฟน (Tryptophan) และกรดอะมิโนไม่จำเป็น คือ ไทโรซีน (Tyrosine)

กรดอะมิโนจำเป็น



กรดอะมิโนไม่จำเป็น





ภาพ 21 สารพิษเคยเคมีใหม่ข้าวโพดที่วิเคราะห์และแยกแยะการพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identify) ด้วย LC/MS/MS

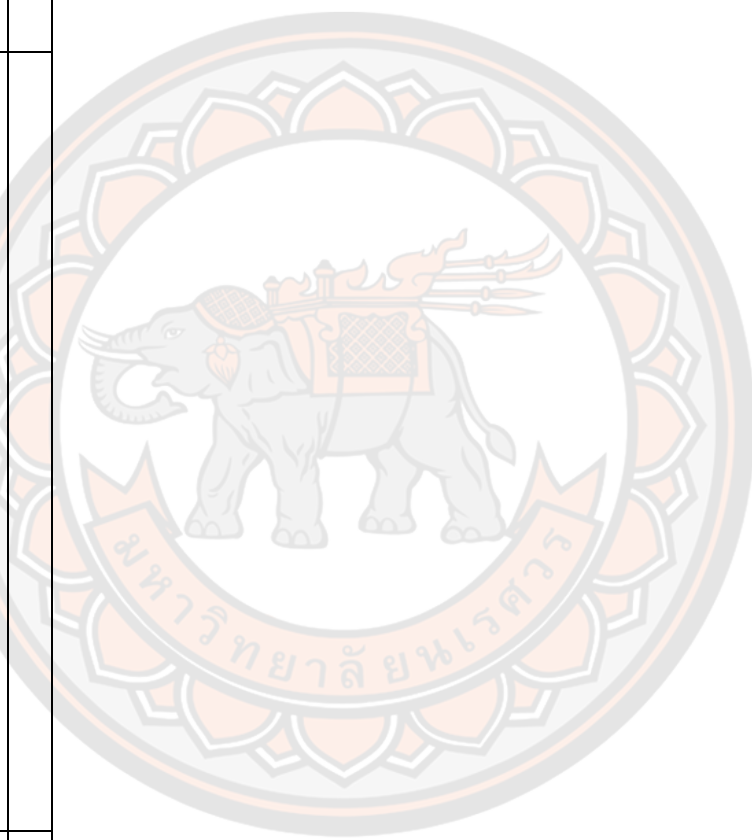
ตาราง 13 สารประกอบเคมีใหม่ซ้ำที่วิเคราะห์และทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identify) ด้วย LC/MS/MS

NO	RT (min)	m/z	Adduct	MS/MS	Tentative Identification	Formula	Error (ppm)
1	2.47	185.0501	[M+Na] ⁺	127.0235,83.0338,68.9817	O-Glycylserine	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₄	17.17
2	2.837	104.1062	M ⁺	60.0807	Choline	C ₅ H ₁₄ NO	12.86
3	3.014	252.1061	[M+H] ⁺	234.0963,216.0856,188.0910,102.0548,56.0492	N-(1-Deoxy-1-fructosyl)alanine	C ₉ H ₁₇ NO ₇	6.66
4	3.025	148.0589	[M+H] ⁺	84.0443,56.0493	DL-Glutamate	C ₅ H ₉ NO ₄	10.36
5	3.126	118.0852	[M+H] ⁺	58.0651	3-Amino-3-methylbutanoic acid	C ₅ H ₁₁ NO ₂	8.93
6	3.374	218.1014		200.0907,87.0311	unidentified		
7	3.376	144.1012			unidentified		
8	3.376	136.0611	[M+H] ⁺		adenine	C ₅ H ₅ N ₅	4.94
9	3.376	236.1118	[M+H] ⁺	200.0909,172.0960,145.0727	unidentified		
10	3.588	118.0857	[M+H] ⁺	72.0809,59.0493,55.0545	3-Amino-3-methylbutanoic acid	C ₅ H ₁₁ NO ₂	8.93
11	3.697	110.0594	[M+H] ⁺	82.0655,67.0418	1-Methyl-2-pyrrolicarboxaldehyde	C ₆ H ₇ NO	5.82
12	4.747	274.0916	[M+H] ⁺	256.0804,238.0700,192.0643,164.0696,130.0494,97.0283,84.0443	unidentified		
13	4.756	137.0451	[M+H] ⁺	55.0288	unidentified		
14	5.157	132.1013	[M+H] ⁺	86.0963,69.0697,56.0493	L-Leucine	C ₆ H ₁₃ NO ₂	4.58
15		182.0807	[M+H] ⁺	165.0541,136.0752,91.0538,77.0382	Tyrosine	C ₉ H ₁₁ NO ₃	2.58

NO	RT (min)	m/z	Adduct	MS/MS	Tentative Identification	Formula	Error (ppm)
16	5.585	132.1016	[M+H] ⁺	86.0963	L-Isoleucine	C ₆ H ₁₃ NO ₂	2.31
17	6.129	258.0964	[M+H] ⁺	240.0858,222.0751,194.0805,176.0701,148.0751,130.0494,111.0436,84.0442,69.0441	3-(4-Hydroxy-2-methoxyphenoxy)-1,2-propanediol-1-carbamate	C ₁₁ H ₁₅ NO ₆	3.15
18	6.344	273.144	[M+H] ⁺	255.1330,237.1219,193.0965,137.0703,57.0334	tert-Butyloxycarbonylglycyl-L-proline	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₅	1.82
19	6.545	273.1435	[M+H] ⁺	255.1313,237.1212,219.1115	N-methyl trans-4-hydroxy-L-proline	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₅	3.65
20	7.158	166.0853	[M+H] ⁺	120.0803,103.0539,77.0383,51.0226	Phenyl alanine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	5.75
21	8.551	205.0963	[M+H] ⁺	188.0700,170.0600,146.0595,118.0644,91.0537	Tryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	4.16
22	8.717	365.17		219.1118	unidentified		
23	9.173	379.1845		233.1271,187.0857,159.0901,132.0413,71.0487	unidentified		
24	9.617	129.0538	[M+H] ⁺	57.0333	2-Ethyl-3,4-dihydroxyfuran	C ₆ H ₈ O ₃	6.36
25	10.634	595.1629	[M+H] ⁺	577.1533,457.1104,379.0788,325.0694,295.0584	Vicenin-2	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	4.78
26	11.547	579.1689	[M+H] ⁺	433.1107,313.0690,129.0543,85.0281	Vitexin 4'-O-alpha-L-Rhamnopyranoside	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	3.34
27	12.003	653.1329	[M+H] ⁺	477.0998,301.0694	Chrysoeriol 4',7'-diglucuronide	C ₂₈ H ₂₈ O ₁₈	2.97
28		683.1433	[M+H] ⁺	507.1119,331.0792	Tricin 7'-diglucuronoside	C ₂₉ H ₃₀ O ₁₉	3.08

NO	RT (min)	m/z	Adduct	MS/MS	Tentative Identification	Formula	Error (ppm)
29	12.065	433.1111	[M+H] ⁺	415.0994,397.0894,337.0691,313.0695,283.0590	Apigenin 8-C- β -glucoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	4.21
30	12.089	549.1583	[M+H] ⁺	531.1469,513.1362,495.1257,469.1107,445.1102,423.1051,379.0790,337.0689,307.0577	Chrysin 6-C- α -L-arabinopyranoside-8-C- β -glucoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	3.58
31	12.463	549.1581	[M+H] ⁺	531.1471,513.1366,495.1261,469.1099,379.0770,337.0701	Chrysin 6-C- β -glucoside-8-C- α -L-arabinopyranoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	3.95
32	13.159	593.1842	[M+H] ⁺	431.1315,412.1209,395.1104,369.0951,351.0846,327.0847	isomolllupentin 7,4'-dimethyl ether 2"-O- β -glucoside	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	3.85
33	13.21	577.1531	[M+H] ⁺	431.0954,413.0847,369.0584,329.0632,299.0542	Maysin	C ₂₇ H ₂₈ O ₁₄	3.61
34	14.454	182.0804	[M+H] ⁺	154.0857,136.0749,108.0803	4-Hydroxy-4-(3-pyridyl)-butanoic acid	C ₉ H ₁₁ NO ₃	4.23
35		591.1686	[M+H] ⁺	529.1315,445.1108,367.0787,313.0693	Cassiaoccidentalin C	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₄	3.78
36	15.054	351.1536		205.0955,187.0861,129.0531,85.0283,71.0490	unidentified		
37	15.331	196.096	[M+H] ⁺	150.0907,82.0648	Metyrosine	C ₁₀ H ₁₃ NO ₃	4.18
38	26.728	293.2099	[M+H] ⁺	275.1994,257.1885,229.1947,147.1162,107.0848	(-)-8-hydroxy-11E,17-octadecadien-9-ynoic acid	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	4.16
39	26.729	275.1996	[M+H] ⁺	257.194,229.1940,55.0540	1-Phenyl(-)-1,3-dodecanedione	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	3.48
40	27.578	295.2259	[M+H] ⁺	277.2152,249.2203,231.2099,207.1726,179.1422,123.1162,81.0695	2-hydroxy-9Z,12Z,15Z-octadecatrienoic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	2.95

NO	RT (min)	m/z	Adduct	MS/MS	Tentative Identification	Formula	Error (ppm)
41	28.516	295.2258	[M+H] ⁺	277.2153,249.2201,231.2098,107.0850,81.0695,55.0541	2-hydroxy-9Z,12Z,15Z- octadecatrienoic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	3.29
42	34.641	702.2106			unidentified		



บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

ในการศึกษาการออกฤทธิ์ของสารประกอบชีวภาพจากไหมข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L.) หมักโดยทำการทดลองเปรียบเทียบกับชนิดของไหมข้าวโพด ชนิดของการหมัก และชนิดของเชื้อ ซึ่งจากการศึกษาการหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยามด้วยจุลินทรีย์ 2 ชนิด ทั้งแบบเชื้อเดี่ยว และแบบเชื้อผสม ทั้งการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) และการหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) พบว่าปริมาณเชื้อมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1-4 วันแรก เนื่องจากมีการใช้ออกซิเจนและน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำไหมข้าวโพด เมื่อออกซิเจนเริ่มหมดเชื้อจุลินทรีย์จะหยุดเพิ่มจำนวนและเปลี่ยนน้ำตาลที่เหลือให้อยู่ในรูปของแอลกอฮอล์ โดยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 เมื่อหมักน้ำไหมข้าวโพดจนครบ 14 วันแล้ว จะเห็นได้ว่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ ค่าพีเอช และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มคงที่ สามารถหยุดกระบวนการหมักได้ เนื่องจากในระหว่างการหมักเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีหลายอย่าง มีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางสารอาหารของพืช ซึ่งจะส่งผลต่อคุณสมบัติต่าง ๆ เช่น การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bamforth & Ward, 2014; Chisti, 2010) ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาของ Amanullah and Fahad (2018) พบว่าไหมข้าวโพดมีสารพฤกษเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น ฟีนอล โพลีฟีนอล กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนโกลโคไซด์ แอนโธไซยานิน แคโรทีนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ อัลคาลอยด์ สเตียรอยด์ ลูทีน แทนนิน ซาโปนิน น้ำมันระเหย วิตามิน น้ำตาลบางชนิด และโพลีแซ็กคาไรด์ นอกจากนี้ จากรายงานการศึกษาของ Bhat *et al.* (2015) พบว่าการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์สามารถสกัดสารพฤกษเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ อีกทั้งยังสามารถเพิ่มปริมาณสารพฤกษเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้อีกด้วย

จากการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพดทับทิมสยามที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* TISTR 1463 ในวันสุดท้ายของการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) และการหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวันแรกของการหมัก ส่วนปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีปริมาณที่เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Casarotti *et al.* (2018) และ Bhat *et al.* (2015) พบสารฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเมื่อหมักแบคทีเรียผลิตเชื้อแล็กติกซึ่งระยะเวลาในการหมักมีผลต่อปริมาณของสารฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย เนื่องจากสารฟิ

นอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความเป็นขี้ จึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีสภาพขี้ใกล้เคียงกัน (Walter and Purcell, 1979) ซึ่งน้ำ มีสภาพขี้สูง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Solihah *et al.* (2012) ที่รายงานปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดน้ำของไหมข้าวโพดสูงกว่าในสารสกัดเมทานอลสูงถึง 1.06 เท่า นอกจากนี้ จากรายงานของ Amadou *et al.* (2009); Adetuyi, & Ibrahim (2014); Kwak *et al.* (2018) พบว่าการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในถั่วเหลือง เมล็ดกระเจี๊ยบ พืชตระกูลถั่ว และกาแฟ ซึ่งจากรายงานของ Kwak *et al.* (2018) ยังพบข้อมูลเกี่ยวกับการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ว่าช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดกาแฟสีเขียว และเพิ่มกลิ่นหอมของกาแฟอีกด้วย ซึ่งไหมข้าวโพดอุดมไปด้วยองค์ประกอบทางพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ แต่อย่างไรก็ดี สารพวกนี้ถูกห่อหุ้มด้วยผนังเซลล์พืชและโปรตีน (Sanjukta และ Rai, 2015) ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการศึกษาสารประกอบทางชีวภาพจากไหมข้าวโพดจะทำการสกัดออกมาด้วยวิธีทางเคมีดังนั้นก็อาจจะมีสารประกอบทางชีวภาพบางส่วนที่ยังหลงเหลืออยู่ในเซลล์ของพืชอีกด้วย จากรายงานของ Salar *et al.* (2016) พบว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์และโปรตีนออกได้ สามารถปลดปล่อยสารประกอบทางพฤกษเคมีในพืชและช่วยเพิ่มปริมาณได้อีกด้วย นอกจากนี้ ยังพบว่าปริมาณกรดมีส่วนช่วยในการปลดปล่อยสารประกอบทางพฤกษเคมีในพืช โดยเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยของพืชมักทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด ซึ่งจากรายงานของ Huynh *et al.* (2014) พบว่า ในเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์พืชเพื่อปลดปล่อยสารประกอบทางพฤกษเคมีเช่นกัน ได้แก่ β -Glucosidase, Cellulase และ β -Glucosidase, Feruoyl esterase ตามลำดับ นอกจากนี้ ในรายงานของ Martins *et al.* (2011) กล่าวว่า การหมักถือเป็นกระบวนการที่ดีที่สุดวิธีหนึ่งของการได้มาซึ่งสารสกัดที่มีคุณภาพและมีปริมาณที่ค่อนข้างสูง โดยใช้เทคนิคที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งจากผลการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการหมักไหมข้าวโพดสามารถเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการหมักฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ในพืช สมุนไพร และผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติมีประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์ เนื่องจากมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาพบว่าสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าการหมักไหมข้าวโพดหวานและไหมข้าวโพด

ทับทิมสยามด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงที่สุด รองลงมาคือการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 และการหมัก 2 เชื้อ ข้างต้นผสมกัน มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ต่ำที่สุด ทั้งการหมักแบบเหลว (Submerged fermentation) และการหมักแบบแห้ง (Solid state fermentation) โดยสารฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีขี้ว ดังนั้นเมื่อใช้น้ำเป็นตัวสกัดจึงได้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สูง เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีขี้วสูงและมีไฮโดรเจนที่สามารถแตกตัวได้สูง (Loudon และ Mark, 2002) นอกจากนี้ ยังพบว่าไหมข้าวโพดเมื่อหมักนานขึ้นจะมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงขึ้นซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องจากสารฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก

จากผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่าการหมักไหมข้าวโพดหวานด้วยเชื้อเดี่ยว *Lactobacillus casei* TISTR 1463 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ต่อการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระในระหว่างการหมักสูงกว่าการหมักไหมข้าวโพดหวานด้วยเชื้อเดี่ยว *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 1464 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Casarotti *et al.* (2018) พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* Lc-1 สามารถเพิ่มปริมาณเส้นใย ระดับฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่ม นอกจากนี้ จากรายงานของ Bhat *et al.* (2015) พบว่าการหมักด้วยเชื้อกลุ่ม *Lactobacillus* สามารถเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผลไม้ได้เช่นเดียวกัน อีกทั้งจากรายงานของ Amadou *et al.* (2009); Adetuyi, & Ibrahim (2014); Kwak *et al.* (2018) พบว่าการหมักด้วยยีสต์ช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในถั่วเหลือง เมล็ดกระเจี๊ยบ พืชตระกูลถั่ว และกาแฟอีกด้วย อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ต่อการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระในระหว่างการหมัก 2 เชื้อข้างต้นผสมกันมีปริมาณที่น้อยกว่าการหมักด้วยเชื้อเดี่ยวทั้ง 2 เชื้อ ซึ่งจากการศึกษาของ Dan *et al.* (2019) พบว่าการใช้เชื้อแลคโตบาซิลลัสและยีสต์มาเป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการทำขนมปังชาวดัวร์ทำให้ขนมปังมีลักษณะที่ซับซ้อนของสารระเหย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของเอสเทอร์ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับขนมปังชาวดัวร์โดยใช้ยีสต์เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการทำพบว่า ขนมปังมีรสชาติและเนื้อสัมผัสที่ดีที่สุด นอกจากนี้ ยังพบว่าระหว่างแลคโตบาซิลลัสและยีสต์มีปฏิสัมพันธ์เป็นแบบแข่งขันเพื่อสารอาหารชนิดเดียวกัน (Nakamura & Hartman, 1961; Viljoen, 2006) อีกทั้งในแบคทีเรียแลคโตบาซิลลัสบางชนิดก็เป็นปฏิปักษ์ต่อยีสต์ (Fleet, 2007) จึงอาจจะมีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพข้างต้น

จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของน้ำหมักไหมข้าวโพดเปรียบเทียบกับยาอัลโลพูรินอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (10, 25, 50 และ 100 µg/ml) พบว่า ที่ความเข้มข้น 25,50

และ 100 µg/ml มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากกว่า 50% แต่อย่างไรก็ตาม โหมข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลองก็ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้น้อยกว่ายาอัลโลพิรินอลในความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ เจนจिरา (2553) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากโหมข้าวโพดหวานมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสน้อยกว่ายาอัลโลพิรินอล

จากผลการทดสอบ สารหนู ตะกั่ว ในน้ำหมักหมักโหมข้าวโพด ทั้งน้ำหมักโหมข้าวโพดหวาน และน้ำหมักโหมข้าวโพดทับทิมสยาม ไม่พบ สารหนู ตะกั่ว ซึ่งทั้งสารหนูและตะกั่ว เป็นโลหะหนัก ในสารหนูถ้าได้รับปริมาณมากอาจทำให้เกิดการทำลายระบบสมองและทำลายตับ เกิดอาการตับอักเสบ สำหรับอาหารทั่วไปไม่ควรพบสารหนูทั้งหมดเกิน 2 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สำหรับสัตว์น้ำ และอาหารทะเลไม่ควรเกิน 1 กิโลกรัม ในตะกั่ว เมื่อได้รับจะมีทั้งอาการเฉียบพลันและเรื้อรัง คือ ปวดท้อง น้ำหนักลด เบื่ออาหารคลื่นไส้ อาเจียน ประสาทหลอน ซึม ไม่รู้สึกตัว ชัก มือและเท้าตก เป็นอัมพาต สลบและอาจเสียชีวิตได้ สำหรับอาหารทั่วไปไม่ควรพบ 1 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2546) นอกจากนี้จากผลการตรวจหาสารพิษทุกชนิดในโหมข้าวโพดที่วิเคราะห์แยกและการพิสูจน์เอกลักษณ์ (identify) ด้วยวิธี In-house method TE-CH-372 based on Official Journal of the European Journal of communities, L257/16 by Amino Acid Analyzer Technique. ไม่พบกรดอะมิโน แต่เมื่อมาวิเคราะห์ด้วย LC/MS/MS ที่มีความละเอียดที่สูงกว่านี้จะทำให้ขยายขอบเขตการวิเคราะห์ โดยข้อมูลที่ได้จากค่ามวลต่อประจุ (m/z) ทำให้ทราบน้ำหนักโมเลกุลของสารที่มีในสารสกัดจากโหมข้าวโพดหวาน และเมื่อนำค่ามวลต่อประจุของสารแต่ละชนิดมาพิจารณาโครงสร้างทางเคมีพบสารประกอบทั้งหมด 40 ชนิด แต่ระบุได้เพียง 30 ชนิด พบกรดอะมิโนบางชนิด เป็นกรดอะมิโนจำเป็น ได้แก่ ลิวซีน (Leucine), ไอโซลิวซีน (Isoleucine), ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) และ ทริปโตเฟน (Tryptophan) และกรดอะมิโนไม่จำเป็น ได้แก่ ไทโรซีน (Tyrosine) ซึ่งกรดอะมิโนชนิดจำเป็น เป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ (นัยนา, 2553) ต้องได้รับจากการบริโภคอาหารที่เป็นแหล่งของกรดอะมิโนเหล่านั้นให้เพียงพอร่างกายจึงจะสร้างขึ้นมาได้ กรดอะมิโนชนิดไม่จำเป็นเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เพียงพอความต้องการของร่างกาย ไม่จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร โดยสร้างจากกรดอะมิโนชนิดจำเป็น แต่ในบางคนที่มีร่างกายไม่สามารถสร้างกรดอะมิโนชนิดไม่จำเป็นได้ เช่น คนที่เป็นโรคฟีนิลคีโตนูเลีย ร่างกายไม่สามารถเปลี่ยนฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine) ที่เป็นกรดอะมิโนชนิดจำเป็นไปเป็นไทโรซีน (Tyrosine) ที่เป็นกรดอะมิโนชนิดไม่จำเป็นได้ ดังนั้นกรดอะมิโนไทโรซีนจึง

เป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับผู้ที่เป็โรคฟีนิลคีโตนูเลีย (Michelle and Kathy, 2011) จากสารพฤกษเคมีในไหมข้าวโพดที่วิเคราะห์แยก พบเมซิน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Choi *et al.* (2014) พบเมซินในไหมข้าวโพด ซึ่งเมซินเป็นสารพีนอลิกที่สามารถยับยั้งและป้องกันการเกิดโรคสมองเสื่อม และยังช่วยลดน้ำตาลในเลือดอีกด้วย (Cha *et al.*, 2016) อีกทั้งยังพบโคลีน (Choline) อยู่อีกด้วย โดยโคลีน (Choline) คือสารประกอบชนิดหนึ่งคล้ายวิตามิน โดยส่วนใหญ่อยู่ในรูปของโคลีนอิสระ (Free choline) หรือ ฟอสฟาติดีลโคลีน (Phosphatidylcholine) สามารถละลายน้ำได้ มีบทบาทเป็นสารตั้งต้น (Precursor) ของ แอซิติลโคลีน (Acetylcholine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นให้เกิดความสนใจ การเรียนรู้ และความจำ การควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อ เป็นต้น นักวิจัยเชื่อว่าการรับประทานอาหารที่มีโคลีน (Choline) และ ฟอสฟาติดีลโคลีน (Phosphatidylcholine) ที่มากพอจะช่วยป้องกันภาวะสมองเสื่อม และพัฒนาทักษะความจำอีกด้วย (Ylilauri *et al.*, 2017) นอกจากนี้ ยังพบ เมไทโรซีน (Metyrosine) ซึ่ง เมไทโรซีน (Metyrosine) ใช้เพื่อป้องกันความดันโลหิตสูงก่อนและทันทีหลังการผ่าตัดเพื่อเอาเนื้องอก รวมทั้งใช้ในระยะเวลาในผู้ที่ไม่สามารถทำการผ่าตัดได้ ไม่ได้ใช้กับความดันโลหิตสูงชนิดอื่น โดยเมไทโรซีน (Metyrosine) ป้องกันไม่ให้เนื้องอกสร้างสารธรรมชาติบางชนิด (Catecholamines) ที่เพิ่มความดันโลหิตและทำให้หัวใจเต้นเร็วขึ้น ลดปริมาณของแคทีโคลามีน (Catecholamines) ช่วยลดความเสี่ยงของการโจมตีที่รุนแรงมากของความดันโลหิตสูง (วิกฤตความดันโลหิตสูง) ดังนั้นไหมข้าวโพดจึงมีประโยชน์ต่อร่างกาย และยังสามารถนำข้อมูลที่ได้มาประยุกต์ใช้ไหมข้าวโพดซึ่งเป็นส่วนที่เหลือใช้มาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ยา เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือส่วนผสมของอาหารที่มีประสิทธิภาพสูงได้

จากการศึกษาไหมข้าวโพดทับทิมสยาม พบว่า มีสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณสารพีนอลิกที่สูง ซึ่งสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหลายโรคโดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง(เช่น โรคอัลไซเมอร์) เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความเสื่อมสภาพของเซลล์ต่าง ๆ จึงช่วยลดความเสื่อมสภาพของร่างกาย ให้มีคงความอ่อนเยาว์ และมีอายุที่ยืนยาวมากขึ้น (ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์, 2548) นอกจากนี้ ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ ปราณี เลิศแก้ว และคณะ (2561) พบว่า สารสกัดจากข้าวโพดหวานสีแดงสายพันธุ์ราชินีทับทิมสยามมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และมีสารสำคัญที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยสารสกัดจากไหมข้าวโพด มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 76.984 ± 0.267 และเมื่อนำมาทดสอบหาสารประกอบพีนอลิกรวม พบว่า มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.130 ± 0.005 GAE

บรรณานุกรม



บรรณานุกรม

- กรมการค้าต่างประเทศ. (2562). สถิติการส่งออกสินค้ามาตรฐานข้าวโพดตามรายงานการส่งสินค้ามาตรฐาน ออกนอกราชอาณาจักร. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก <http://www.dft.go.th/thth/dftservice-data-statistic/cid/602>. 30 สิงหาคม 2563
- จำรูญ มณีวรรณ, มงคล ธิรบุญยานนท์, และกิตติพงษ์ ทิพยะ. 2553. การใช้โปรไบโอติกเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในแม่สุกรอ้อมท้องและแม่สุกรเลี้ยงลูก. [ออนไลน์]. สืบค้นจาก: <http://librae.mju.ac.th/government> (เข้าถึงเมื่อ 1 กันยายน 2563)
- นัยนา บุญทวีวัฒน์. ชิวเคมีทางโภชนาการ. กรุงเทพมหานคร: เจริญดีมั่นคงการพิมพ์; 2553.
- ปวีณธิดา เขียวสง่า. 2562. ผลงานวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวโพดด้วยการใช้ไมโครเวฟในขั้นตอน การทำแห้ง. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ปราณี เลิศแก้ว ชูติมา ศรโยธา วุฒิพันธ์ เทศคลัง และนรวรรณ บัวบุญ. 2561. การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใหม่ข้าวโพดหวานสีแดงสายพันธุ์ราชินีทับทิมสยาม. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 5 สถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร. 340-345
- พนารัตน์ มอญใต้. 2555 เรื่องนำรู้เกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่เป็นมิตร: โปรไบโอติก (Probiotics). วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ ปีที่ 60 189:13-15
- พาริยา กุลพิจิตร, อาณัติ นิตธิธรรมยง และสมเกียรติ โกศลวัฒน์. (2558). การสกัดใยอาหารจากใหม่ข้าวโพด และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร. หน้า 19-34. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. ราชชนทร์ ธิรพร. 2539. ข้าวโพด การผลิต การใช้ประโยชน์ การวิเคราะห์ปัญหาและการถ่ายทอด.
- ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์. (2548). การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นพันธุ์เขียว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 41(3/1)(ฉบับพิเศษ): 329-332.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับพิเศษ. 16 กุมภาพันธ์ 2529, เล่มที่ 103 ตอนที่ 23 พ.ศ. 2529, หน้า 16-17.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 273) พ.ศ. 2546 เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน (ฉบับที่ 2). ราชกิจจานุเบกษา. 16 กรกฎาคม 2546, เล่มที่ 121 ตอนพิเศษที่ 77ง พ.ศ. 2546, หน้า 10.

- อมร บุญสมบัติ. 2559. ผลของวิธีการคั่วต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในไหมข้าวโพดแห้งเพื่อการผลิตชา. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Adetuyi, F.O.; Ibrahim, T.A. Effect of fermentation time on the phenolic, flavonoid and vitamin C contents and antioxidant activities of okra (*Abelmoschus esculentus*) seeds. *Niger. Food J.* 2014, 32, 128–137
- Amadou, I.; Yong-Hui, S.; Sun, J.; Guo-Wei, L. Fermented soybean products: Some methods, antioxidants compound extraction and their scavenging activity. *Asian J. Biochem.* 2009 4, 68–76
- Badarinath, A.V., Mallikarjuna, R. K., Madhu, S. C. C., Ramkanth, S., Rajan T.V.S., Gnanaprakash, K. (2010). A review on In-vitro antioxidant methods: Comparisons, correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research.* 2(2):1276–85.
- Bamforth, C. W., & Ward, R. E. (Eds.). (2014). *The Oxford handbook of food fermentations.* Oxford, UK: Oxford University Press.
- Bhat, R., Suryanarayana, L. C., Chandrashekar, K. A., Krishnan, P., Kush, A., & Ravikumar, P. (2015). *Lactobacillus plantarum* mediated fermentation of *Psidium guajava* L. fruit extract. *Journal of Bioscience and Bioengineering,* 119, 430–432.
- Bomalaski, J.S., Holtsberg, F.W., Ensor, C.M., and Clark, M.A. (2002). Uricase formulated with polyethylene glycol (uricase-PEG 20): biochemical rationale and preclinical studies. *Journal of rheumatology,* 29(9), 1942 -1949.
- Casarotti, S. N., Borgonovi, T. F., Batista, C. L. F. M., & Penna, A. L. B. (2018). Guava, orange and passion fruit by-products: Characterization and its impacts on kinetics of acidification and properties of probiotic fermented products. *Lwt—food Science and Technology,* 98, 69–76.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.010>
- Caspi, D., Lubart, E., Graf, E., Habot, B., Yaron, M., and Segal, R. (2000). The effect of mini-dose aspirin on renal function and uric acid handling in elderly patients. *Arthritis & Rheumatism,* 43(1), 103-108.

- Cha, J.H., Kim, S.R., Kang, H.J., Kim, M.H., Ha, A.W., Kim, W.K. (2016). Corn silk extract improves cholesterol metabolism in C57BL/6J mouse fed high-fat diets. *Nutrition Research and Practice*. 10(5) :501–506.
- Chen, I.H., Kuo, M.C., Hwang, S.J., Chang, J.M., and Chen, H.C. (2005). Allopurinol-induced severe hypersensitivity with acute renal failure. *Kaohsiung J Med Sci*, 21(5), 228-232.
- Chisti, Y. (2010). Solid substrate fermentations, enzyme production, food enrichment. In M. C. Flickinger (Ed.), *Encyclopedia of industrial biotechnology, bioprocess, bioseparation, and cell technology* (Vol. 7, pp. 4516–4534). New York, NY: Wiley.
- Choi, H.K. (2005). Diet, alcohol, and gout: how do we advise patients given recent developments. *Current Rheumatology Reports*, 7(3), 220-226.
- Choi, H.K., Atkinson, K., Karlson, E.W., Willett, W., and Curhan, G. (2004). Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. *N Engl J Med*, 350(11), 1093- 1103.
- Choi, H.K., Atkinson, K., Karlson, E.W., and Curhan, G. (2005). Obesity, weight change, hypertension, diuretic use, and risk of gout in men: the health professionals follow-up study. *Arch Intern Med*, 165(7), 742-748.
- Choi, H.K., and Curhan, G. (2007). Alcohol and gout. *The American Journal of Medicine*, 120(10), 1.
- Choi, H.K., Ford, E.S., Chaoyang, L., and Curhan, G. (2007). Prevalence of the metabolic syndrome in patients with gout: the third national health and nutrition examination survey. *Arthritis care and research*, 57(1), 109-115.
- Choi, D.J., Kim, S.L., Choi, J.W., Park, Y.I. (2014). Neuroprotective effects of corn silk maysin via inhibition of H₂O₂-induced apoptotic cell death in SK-N-MC cells. *Life Sciences*.109(1). 57–64.
- Choi, H. K., Mount, D.B., and Reginato, A.M. (2005). Pathogenesis of gout. *Annintern Med*, 143(7), 499-516.
- Cooper, N., Khosravan, R., Erdmann, C., Fiene, J., & Lee, J.W. (2006). Quantification of uric acid, xanthine and hypoxanthine in human serum by HPLC for

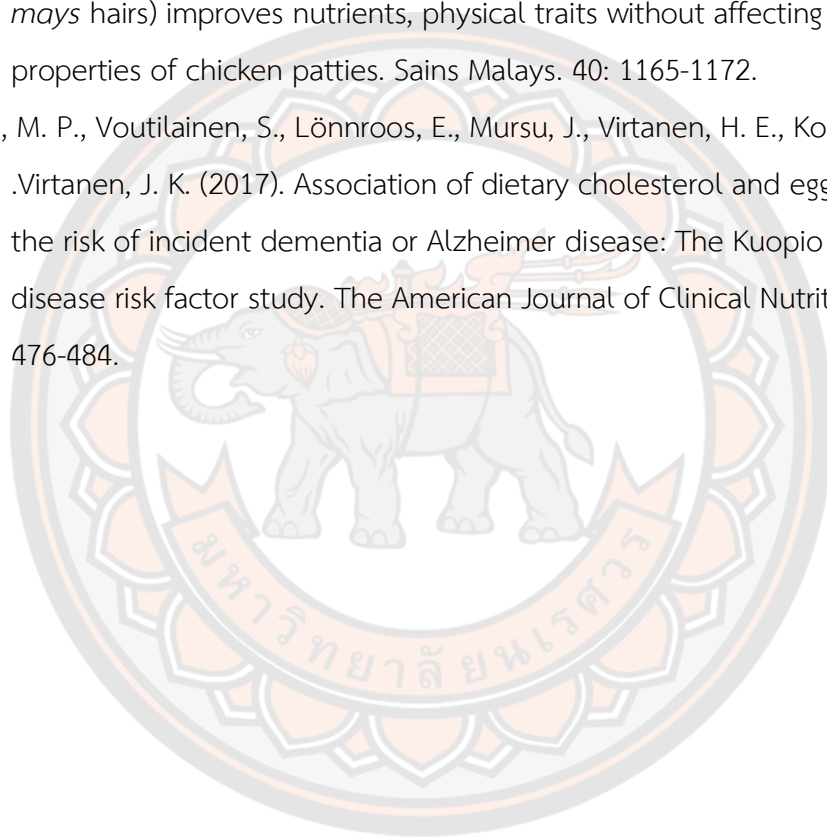
- pharmacodynamics studies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 837(1-2), 1-10.
- Dan Xu, Yao Zhang, Kaixing Tang, Ying Hu, Xueming Xu and Michael G. Gänzle. Effect of Mixed Cultures of Yeast and Lactobacilli on the Quality of Wheat Sourdough Bread. *Food Microbiology*. Original Research Article. ISSN: 1664-302X , 2019
- Ebrahimzadeh, M.A., F. Pourmorad, and S. Hafezi. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turk. J. Biol.* 32: 43-49.
- Emmerson, B.T. (1996). The management of gout. *N Engl J Med*, 334(7), 445-451.
- Eman, A. A. 2011. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of Egyptian *Maydis stigma (Zea mays hairs)* rich of bioactive constituents. *J. Amer. Sci.* 7: 726-729.
- Enroth, C.E., B.T.; Okamoto, K.; Nishino, T.; Nishino, T.; Pai, E.F. (2000). Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: Structure-based mechanism of conversion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(-), 10723-10728.
- Faller, J., and Fox, I.H. (1982). Ethanol-induced hyperuricemia: evidence for increased urate production by activation of adenine nucleotide turnover. *N Engl J Med*, 307(26), 1598–1602.
- Fleet, G.H. (2007): Yeasts in foods and beverages: Impact on product quality and safety. *Current Opinion Biotechnol.*, 18, 170–175.
- Fields, M., Lewis, C.G., and Lure, M.D. (1996). Allopurinol an inhibitor of xanthine oxidase reduces uric acid levels and modifies the signs associated with copper deficiency in fed fructose. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(4), 595-600.
- Goswami, R. P., Jayaprakasha, G. K., Shetty, K., & Patil, B. S. (2018). *Lactobacillus plantarum* and natural fermentation-mediated biotransformation of flavor and aromatic compounds in horse gram sprouts. *Process Biochemistry*, 66, 7–18.
- Hammer, B., Link, A., Wagner, A., and Bohm, M. (2001). Hypersensitivity syndrome during therapy with allopurinol in asymptomatic hyperuricemia with a fatal outcome. *Dtsch Med Wochenschr*, 126(47), 1331-1334.

- Haq Nawaz, Saima Muzaffar, Momna Aslam and Shakeel Ahmad. 2018. Phytochemical Composition: Antioxidant Potential and Biological Activities of Corn. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.79648>
- Hasanudin, K., P. Hashim, and S. Mustafa. 2012. Corn silk (*Stigma Maydis*) in healthcare: A phytochemical and pharmacological review. *Molecules*.17: 9697-9715.
- Hashemi, S. M. B., Mousavi Khaneghah, A., Barba, F. J., Nemati, Z., Sohrabi Shokofti, S., & Alizadeh, F. (2017). Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Functional Foods*, 38, 409–414. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.040>
- Hu Q-L, Zhang L-J, Li Y-N, Ding Y-J, Li F-L. Purification and anti-fatigue activity of flavonoids from corn silk. *International Journal of Physical Sciences*. 2010;5:321-326
- Hu QL, Deng ZH. Protective effects of flavonoids from corn silk on oxidative stress induced by exhaustive exercise in mice. *African Journal of Biotechnology*. 2011;10:3163-3167
- Ichida, K., Amaya, Y., Okamoto, K., & Nishino, T. (2012). Mutations associated with functional disorder of xanthine oxidoreductase and hereditary xanthinuria in humans. *Int J Mol Sci*, 13(11), 15475-95.
- Ishibuchi, S., Morimoto, H., Oe, T., Ikebe, T., Inoue, H., Fukunari, A., et al. (2001). Synthesis and structure-activity relationships of 1-Phenylpyrazoles as xanthine oxidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 11(7), 879-882.
- Jerome, J.T., Varghese, M., Sankaran, B., Thomas, S., and Thirumagal, S.K. (2008). Tibialis anterior tendon rupture in gout-case report and literature review. *Foot Ankle Surg*, 14(3), 166-169.
- Jiang, T.W., Xu, J., Wang, X.M., Chen, X.S. and Qiu, Z.D. (2011) Screening of active ingredient of *Stigmata maydis* inhibiting xanthine oxidase and its effect. *Journal of Jilin University Medicine Edition*, 37(3): 433–436.

- Johnson, R. J., Segal, M. S., Srinivas, T., Ejaz, A., Mu, W., Roncal, C., et al. (2005). Essential hypertension, progressive renal disease, and uric acid: a pathogenetic link. *J Am Soc Nephrol*, 16(7), 1909-1919.
- Kang, D.H., Nakagawa, Feng, L., Watanabe, S., Han, L., Mazzall, M., Truong, L. et al. (2002). A role for uric acid in the progression of renal disease. *LAmerican Soc Nephrol*, 13(12), 2888-2897.
- Krishnan, E., Baker, J.F., Furst, D.E., and Schumacher, H.R. (2006). Gout and the risk of acute myocardial infarction. *Arthritis Rheum*, 54(8), 2688-2696.
- Krishnan, E., Kwok, C.K., Schumacher, H.R., and Kuller, L. (2007). Hyperuricemia and incidence of hypertension among men without metabolic syndrome. *Hypertension*, 49(2), 298-303.
- Kwak, H.S.; Jeong, Y.; Kim, M. Effect of Yeast Fermentation of Green Coffee Beans on Antioxidant Activity and Consumer Acceptability. *J. Food Qual.* 2018, 2018, 5967130.
- Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. 2004;134:3479S-3485S
- Luis Luque, Stijn Oudenhoven, Roel Westerhof, Guus van Rossum, Franco Berruti, Sascha Kersten & Lars Rehm. 2016. Comparison of ethanol production from corn cobs and switchgrass following a pyrolysis-based biorefinery approach. *Biotechnology for Biofuels*. 9(1):242. DOI: 10.1186/s13068-016-0661-4
- Merry, R. S., Mark, G.P.S., and Fernando, Perez-Ruiz. (2007). PEG-uricase in the management of treatment-resistant gout and hyperuricemia. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(1), 59-68.
- Michelle M, Kathy AB. *Nutritional Sciences: From Fundamentals to Food*. 2nd ed. Belmont: Wadsworth Cengage Learning; 2011.
- Mikuls, T.R., Farra, J.T., Bilke, W.B., Fernandes, S., Schumacher Jr, H.R., and Saag, K.G. (2005). Gout epidemiology: results from the UK general practice research database, 1990–1999. *Ann Rheum Dis*, 64(2), 267-272.
- Nakamura, L.K. & Hartman, P.A. (1961): *Lactobacillus*: yeast interrelationships. *J. Bacteriol.*, 81, 519–523

- Navolanic, P.M., Pui, C.H., Larson, R.A., Bishop, M.R., Pearce, T.E., Cairo, M.S., Goldman, S.C., Jeha, S.C.,Shanholtz, C.B., et al. (2003). Elitek-rasburicase: an effective means to prevent and treat hyperuricemia associated with tumor lysis syndrome, a Meeting Report, Dallas, Texas, January 2002. *Leukemia*, 17(3), 499-514.
- Office of Agricultural Economics. 2000. Agricultural Statistics of Thailand, Production Year 2019. Document No. 1/2019 (in Thai).
- Oladeji, T. J. 2010. Fuel Characterization of Briquettes Produced from Corncob and Rice Husk Residues. *The Pacific Journal of Science and Technology*, (Vol. 1, pp. 101–107).
- Rainer Fiscal and Kristoffer Bryan V. Dandan. 2016. Development and Evaluation of Paper from Corn Husks (*Zea mays* L.) and Snake Plant Fibers (*Sansevieria zeylanica*). *International Journal of Science and Research (IJSR)*. 5(8):867-870. DOI: 10.21275/v5i8.3081601
- Ronenn Roubenoff, R., Klag, M.J., Mead, L.A., Liang, K.Y., Seidler, A.J., and Hochberg, M.C. (1991). Incidence and risk factors for gout in white men. *JAMA*, 266(21), 3004-3007.
- Sarepoua, E., R. Tangwongchai, B. Suriharn, and K. Lertrat. 2013. Relationships between photochemical and antioxidant activity in corn silk. *Int. Food Res. J.* 20: 2073-2079.
- Schlesinger, N., and Schumacher, H.R.J. (2001). Gout: can management be improved. *Current Opinion in Rheumatology*, 13(3), 240-244.
- Siriporn Umsook, Saowaluck Yammuen and Siwat Sangsritavong. 2019. Effect of *Lactobacillus plantarum* BCC 65951 inoculant on nutritive value of baby corn husk silage. *KHON KAEN AGR. J.* 47 SUPPL. 2 : (2019).
- Steenkamp, V. (2003) Phytomedicines for the prostate. *Fitoterapia*, 74(6): 545–552.
- Taylor, M.D., Palmer, G.C., and Callahan, A. S. (1984). Protective action by methylprednisolone, allopurinol and indomethacin against stroke-induced damage to adenylate cyclase in gerbil cerebral cortex. *Stroke*, 15(2), 329-335.

- Vasanthakumari, R. 2012. Studies on polypropylene bio composite with corn husk waste. *International Journal of Scientific and Engineering Research*. 3(7) (pp. 562-564).
- Velazquez, D. V. O., Xavier, H. S., Batista, J. E. M., and De Castro-Chaves C. (2005). *Zea mays* L. extracts modify glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats. *Phytomedicine*. 12.363–369.
- Wan Rosli, W.I., A.R. Nurhanan, M.A. Solihah, and S. S.J. Mohsin. 2011. Cornsilk (*Zea mays* hairs) improves nutrients, physical traits without affecting sensory properties of chicken patties. *Sains Malays*. 40: 1165-1172.
- Ylilauri, M. P., Voutilainen, S., Lönnroos, E., Mursu, J., Virtanen, H. E., Koskinen, T. T., . . . Virtanen, J. K. (2017). Association of dietary cholesterol and egg intakes with the risk of incident dementia or Alzheimer disease: The Kuopio ischemic heart disease risk factor study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 105(2), 476-484.



ภาคผนวก การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. Potassium Phosphate Buffer pH 7.5 ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส
เตรียมโดยละลาย Potassium Phosphate (K_3PO_4) 2.653 g ในน้ำกลั่น 240 ml จากนั้นปรับ pH ด้วย HCl หรือ NaOH ให้มีค่าเท่ากับ 7.5 และปรับปริมาตรให้ได้ 250 ml

2. วิธีการเตรียม Xanthine 0.184 mM ปริมาตร 50 ml

$$\begin{aligned} \text{Xanthine} &= 152.11 \text{ g/mol} \\ 152.11 \times 0.184 \times 10^{-3} \text{ mM} &= 0.02798824 \text{ g} \\ \text{Solution 1000 ml มี Xanthine} &= 0.02798824 \text{ g} \\ \text{Solution 50 ml มี Xanthine} &= 50 \text{ ml} \times 0.02798824 \text{ g} / \\ &1000 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\text{ซึ่ง Xanthine} = 1.4 \text{ mg}$$

ดังนั้น ซึ่ง Xanthine มา 1.4 mg ปรับปริมาตรให้ได้ 50 ml

3. วิธีการเจือจางสารละลาย Xanthine ให้ได้ 0.06 mM ปริมาตร 100 ml

$$\begin{aligned} C_1V_1 &= C_2V_2 \\ V_1 &= 0.06 \text{ mM} \times 100 \text{ ml} / 0.184 \text{ mM} \end{aligned}$$

ปิเปตต์ สารละลาย Xanthine จาก Stock มา 32.61 ml และปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml

4. วิธีการเตรียม Allopurinol (272.22 $\mu\text{g/ml}$) หรือมีค่าเท่ากับ 2.0 mM

$$\text{ซึ่ง Allopurinol} = 6.8 \text{ mg}$$

$$\text{ละลายน้ำ} = 25 \text{ ml}$$

จะได้ 2.0 mM Stock standard solution of Allopurinol

$$\begin{aligned} C_1V_1 &= C_2V_2 \\ 272.22 \mu\text{g/ml} \times V_1 &= 10 \mu\text{g/ml} \times 25 \text{ ml} \\ V_1 &= 10 \mu\text{g/ml} \times 25 \text{ ml} / 272.22 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

ดังนั้น ปิเปตต์สารละลาย Allopurinol จาก Stock standard solution มา 0.92 ml และปรับปริมาตรให้ได้ 25 ml

5. วิธีเตรียม 0.2 units/ml ของเอนไซม์ xanthine oxidase

จาก Stock Xanthine oxidase คือ 40 units

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$V_1 = 0.2 \text{ units/ml} \times 1000 \mu\text{l} / 40 \text{ units}$$

ปิเปต xanthine oxidase จาก stock มา 5 μl ละลายใน Phosphate buffer (pH 7.5)

เย็น ปริมาตร 995 μl จากนั้นผสมให้เข้ากันแล้วแช่น้ำแข็งไว้จนกว่าจะใช้งาน

