

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโอลิโกแซ็กคาไรด์จากบวบหอมโดยใช้วิธีปั่นผิวตอบสนองและประเมินคุณสมบัติพรีไบโอติก

ศุภยาฤทธิ์ ยศสระน้อย¹, กัญญาวิ หวานเมฆ², สุวภัทร กิตติบัญญัติกุล²,
ปิยะ เต็มวิริยะนุกุล², วรงค์ศิริ เข้มสวัสดิ์^{2*}

¹สาขาวิชาพืชวิทยาและโภชนาการเพื่ออาหารปลอดภัย สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม

²สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม

*Corresponding author email: Varongsiri.kem@mahidol.ac.th

ได้รับบทความ: 29 พฤศจิกายน 2567

ได้รับบทความแก้ไข: 12 มกราคม 2568

ยอมรับตีพิมพ์: 13 มกราคม 2568

บทคัดย่อ

บวบหอม (*Luffa aegyptica* หรือ *Luffa cylindrica* (L.) M. roem) เป็นพืชท้องถิ่นตระกูลแตงที่มีการบริโภคในประเทศไทย จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงถึงศักยภาพของสารสกัดจากบวบหอมในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ทดลอง งานวิจัยนี้จึงศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโอลิโกแซ็กคาไรด์จากบวบหอมด้วยน้ำร้อน เพื่อประเมินคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ 1) อุณหภูมิ (X_1) ที่ 50, 70 และ 90 องศาเซลเซียส 2) อัตราส่วนระหว่างบวบต่อน้ำ (X_2) ที่ 1:10, 1:20 และ 1:30 และ 3) ค่าพีเอช (X_3) ที่ 2, 5 และ 8 โดยใช้วิธีปั่นผิวตอบสนองแบบบล็อก-เบห์นเคน ผลการศึกษาพบว่า การเพิ่มอุณหภูมิและค่าพีเอชมีผลดีต่อผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ขณะที่อัตราส่วนระหว่างบวบต่อน้ำไม่มีผลต่อผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ สภาวะการสกัดที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสและพีเอช 8 เมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบคุณสมบัติพรีไบโอติกพบว่า สารสกัดบวบหอมที่ผ่านการย่อยในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารถึงลำไส้เล็กมีปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์คงเหลือร้อยละ 87.72 นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ (*Lactobacillus plantarum* 299V, *Lactobacillus casei* Shirota และ *Lactobacillus rhamnosus*

LGG) ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการเป็นพรีไบโอติกได้ดีเทียบเท่ากับพรีไบโอติกเชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตามการศึกษาถัดไปควรมุ่งเน้นการทำให้โอลิโกแซ็กคาไรด์บริสุทธิ์และศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดบวบหอมร่วมกับพรีไบโอติกเพิ่มเติม เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ

คำสำคัญ: การสกัด/ บวบหอม/ พรีไบโอติก/ โอลิโกแซ็กคาไรด์

Optimization of Oligosaccharide Extraction from Sponge Gourd Using Response Surface Methodology and Evaluation of Prebiotic Properties

Katayut Yotsanoi¹, Kanyawee Whanmek², Suwapat Kittibunchakul²,
Piya Temviriyankul², Varongsiri Kemsawasd^{2*}

¹Program in Toxicology and Nutrition for Food Safety, Institute of Nutrition,
Mahidol University, Nakhon Pathom

²Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom

*Corresponding author email: Varongsiri.kem@mahidol.ac.th

Received: 29 November 2024

Revised: 12 January 2025

Accepted: 13 January 2025

Abstract

Sponge gourd (*Luffa aegyptica* or *Luffa cylindrica* (L.) M. roem) is a local plant in the Cucurbitaceae family that is widely consumed in Thailand. A previous study demonstrated the potential of sponge gourd extracts in modulating gut microbiota in animal studies. This research aimed to determine the optimal conditions for extracting oligosaccharides from sponge gourd using hot water extraction to evaluate their prebiotic potential. Key extraction factors influencing oligosaccharide yield were examined, including 1) extraction temperature (X_1) at 50, 70, and 90 °C, 2) solid-to-liquid ratio (X_2) at 1:10, 1:20, and 1:30, and 3) pH (X_3) at levels 2, 5, and 8, using Response Surface Methodology (RSM) with a Box-Behnken design (BBD). Our findings showed that increased extraction temperature and pH significantly enhanced yield, while the solid-to-liquid ratio had no significant impact on the yield. The highest yield was achieved at 90 °C and pH 8. Under these conditions, extracts

were evaluated for prebiotic properties, assessing their tolerance in simulated gastrointestinal conditions and their impact on probiotic growth. Results demonstrated that the non-reducing sugars, representing oligosaccharides from sponge gourd, showed 87.72% resistance to digestive breakdown. Additionally, the extracts promoted the growth of three tested probiotic strains: *Lactobacillus plantarum* 299V, *Lactobacillus casei* Shirota, and *Lactobacillus rhamnosus* LGG. This highlights the potential of sponge gourd extract as an effective prebiotic, comparable to commercial alternatives. Future research should concentrate on purifying sponge gourd oligosaccharide extracts and exploring their functional properties in combination with probiotics to facilitate their development into health-enhancing food products.

Keywords: Extraction/ Sponge Gourd/ Prebiotics/ Oligosaccharides

บทนำ

พรีไบโอติก (Prebiotic) เป็นกลุ่มคาร์โบไฮเดรตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ที่ไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก โดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่จะย่อยสารเหล่านี้และผลิตกรดไขมันสายสั้น (Short-chain fatty acids: SCFAs) ออกมา กรดไขมันสายสั้นนี้จะมีบทบาทต่อสุขภาพของลำไส้เป็นอย่างมาก [1] พรีไบโอติกสามารถพบได้ในผักและผลไม้หลากหลายชนิด เช่น หัวหอม ชิโครี หน่อไม้ฝรั่ง [2] โดยมีกลุ่มพรีไบโอติกที่ได้รับการวิจัยอย่างกว้างขวาง ได้แก่ ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Fructo-oligosaccharides : FOS), กาแลคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Galacto-oligosaccharides : GOS) และอินูลิน (Inulin) [3] โดยปัจจุบันมีการศึกษาให้เห็นถึงประโยชน์ของพรีไบโอติกที่มีผลต่อสุขภาพ เช่น ช่วยลดความเสี่ยงและระยะเวลาของอาการท้องเสีย บรรเทาอาการอึดเสบ ป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ ลดความเสี่ยงต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด ป้องกันโรคอ้วน ช่วยเพิ่มความรู้จักอิมและลดน้ำหนัก [4-5] นอกจากนี้ มีการศึกษาที่รวมพรีไบโอติกเข้ากับ โพรไบโอติก เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือการทำงานของจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมสุขภาพอย่างจำเพาะเจาะจง โดยใช้คำว่า "ซินไบโอติก" ที่บ่งบอกถึงการทำงานร่วมกัน [6]

โอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharide) เป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่ประกอบด้วย โมเลกุลโมโนแซ็กคาไรด์ (Monosaccharide) ที่น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเรียงต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (Glycosidic bond) เป็นสายยาวตั้งแต่ 2-10 โมเลกุล [7] จัดเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ที่มีขั้ว หากทำการสกัดจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำหรือแอลกอฮอล์ เพื่อให้สารทั้งสองชนิดมีสมบัติเหมือนกันตามหลัก Like dissolves like เพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีขั้วเป็นแรงไดโพล-ไดโพล (Dipole - Dipole) ซึ่งจะไม่ละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว น้ำจึงเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์เนื่องจากมีขั้วที่แข็งแรง ไม่เป็นพิษ ไม่เป็นอันตราย ปลอดภัย และซึมผ่านเนื้อเยื่อพืชได้ดี ดังนั้นการสกัดด้วยน้ำร้อนจึงเป็นวิธีดั้งเดิมในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อพัฒนาปรับปรุงผลผลิตจากการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์มากมาย เช่น การสกัดด้วยกรด-ด่าง การสกัดด้วยเอนไซม์ การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ หรือการสกัดด้วยความดัน เป็นต้น [8] วิธีการสกัดเหล่านี้ยังคงมีข้อจำกัด เช่น ความต้องการพลังงาน เครื่องมือที่มีต้นทุนสูง และความซับซ้อนในการประยุกต์ใช้ในระดับการผลิตเชิงอุตสาหกรรม

บวบหอม (*Luffa aegyptica* หรือ *Luffa cylindrica* (L.) M. roem) เป็นพืชอยู่ในวงศ์แตง (*Cucurbitaceae*) เช่นเดียวกับแตงกวา ฟักทอง ฟักข้าว แตงโม แตงไทย ฯลฯ ซึ่งจัดเป็นพรรณไม้เถาเลื้อย คนไทยนิยมนำผลอ่อนที่มีลักษณะเป็นทรงกระบอกสีเขียวมาปรุงประกอบอาหาร จากข้อมูลของสำนักโภชนาการ กรมอนามัย [9] ระบุว่า ในบวบหอม 100 กรัม มีใยอาหารอยู่ทั้งหมดร้อยละ 1.4 ซึ่งในร้อยละ 20 ของเส้นใยทั้งหมดเป็นเส้นใยละลายน้ำ นอกจากนี้ในบวบหอมยังมีสารพฤกษเคมีหลายชนิด เช่น ไตรเทอร์พีนอยด์ (Triterpene), สารซาโปนิน (Saponins), กรดโอเลอโนลิก (Oleanolic acid), แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ทั้งยังถูกใช้ในทางการแพทย์ที่ช่วยรักษาโรคท้องร่วง มีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ด้านการอักเสบ และการติดเชื้อไวรัส [10-12] จากการศึกษาประโยชน์ของบวบหอมพบว่า การบริโภคบวบหอมมีผลต่อจุลินทรีย์ในลำไส้โดยสามารถปรับปรุงความหลากหลายและความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของแบคทีเรียที่ผลิตกรดไขมันสายสั้น (SCFAs) เช่น แบคทีเรียในสกุล *Blautia* ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิต SCFAs นอกจากนี้ บวบหอมสามารถช่วยฟื้นฟูความสมบูรณ์ของเซลล์เยื่อผนังลำไส้ (Gut barrier) ที่ถูกทำลายจากการรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงและช่วยลดการอักเสบเรื้อรังที่เกี่ยวข้องกับโรคอ้วนและความผิดปกติทางเมตาบอลิซึมได้ [13] โดยคุณประโยชน์ของบวบหอมจากงานวิจัยดังกล่าว มีความสอดคล้องกับกลไกการทำงานของพรีไบโอติก แต่ทั้งนี้ยังไม่มีการศึกษาและทดสอบคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติกของบวบหอมที่ชัดเจน ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพื่อหาปริมาณผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์จากบวบหอมโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology: RSM) ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสกัดในตัวแปรที่หลากหลาย รวมถึงศึกษาศักยภาพในการเป็นพรีไบโอติก โดยทดสอบคุณสมบัติด้านการทนต่อการย่อยในระบบทางเดินอาหารและการสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์พรีไบโอติก (Probiotic) ในบวบหอมที่ทำการสกัดได้ ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก และเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกจากพืชในประเทศที่สามารถสร้างมูลค่าให้กับเศรษฐกิจท้องถิ่น ส่งเสริมความยั่งยืน รองรับอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพที่กำลังเติบโตอย่างต่อเนื่อง

วัสดุและวิธีการ

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดบวบหอมด้วยวิธีการใช้น้ำร้อน

1.1 การเตรียมตัวอย่างบวบหอม

บวบหอม (*Luffa cylindrica* (L.) M. Roem) ได้จากเกษตรกรอำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม โดยคัดเลือกผลอ่อนที่มีลักษณะเป็นทรงกระบอกสีเขียว มีลายสีเขียวเข้ม ความยาว 16–60 เซนติเมตร และอยู่ในสภาพสมบูรณ์ ผลไม่เหี่ยว ไม่มีตำหนิ หรือรอยชำรุด เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนมิถุนายน-สิงหาคม หากไม่สามารถดำเนินการทดลองได้ทันที ตัวอย่างที่เตรียมไว้จะถูกเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เตรียมตัวอย่างโดยนำบวบหอมมาล้างทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ปั่นให้ละเอียด ก่อนวิเคราะห์หาความชื้น

1.2 ออกแบบการทดลองโดยใช้ Box-Behnken Design (BBD)

BBD เป็นการออกแบบที่ช่วยลดจำนวนการทดลอง ขณะที่ยังคงได้ข้อมูลเพียงพอสำหรับสร้างแบบจำลอง โดยตัวแปรแบ่งเป็น 3 ระดับ ได้แก่ -1, 0 และ 1 และสำหรับการทดลองนี้จะใช้เวลาในสกัด 2 ชั่วโมง และเลือกใช้ตัวแปรเป็นอุณหภูมิที่ใช้สกัด (50, 70 และ 90 องศาเซลเซียส), อัตราส่วนระหว่างบวบต่อน้ำ (1:10, 1:20 และ 1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร) และค่าพีเอช (2, 5 และ 8) ตามลำดับ การกำหนดช่วงของตัวแปรต่าง ๆ อ้างอิงจากการศึกษาของ Wang et al. [14] โดยในงานวิจัยนี้ได้ปรับตัวแปรให้เหมาะสมกับตัวอย่างและวิธีการทดลองที่ใช้ เพื่อให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้

1.3 สกัดบวบหอม ณ สภาวะต่าง ๆ

ทำการสกัดบวบหอม ณ สภาวะต่าง ๆ ตามที่ออกแบบไว้ในตารางที่ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาตกตะกอน ดัดแปลงจากวิธีการของ Chen et al. [15] โดยนำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,600 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำส่วนใสที่ได้มาตกตะกอนด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (C_2H_5OH) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 (โดยปริมาตร) ในอัตราส่วนของเอทิลแอลกอฮอล์ต่อปริมาตรตัวอย่างเท่ากับ 6:4 ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง จากนั้นทำการเก็บส่วนตะกอนที่ได้ แล้วนำไประเหิดแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dry) ชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้และคำนวณเป็นปริมาณร้อยละผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัด (%Yield) [16] ดังสมการที่ 1

$$\text{Yield (\%)} = \left(\frac{\text{น้ำหนักโพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \right) \times 100 \quad (1)$$

ตารางที่ 1 สภาวะการสกัด ณ จุดต่าง ๆ ที่ได้จากการออกแบบด้วย BBD

ชุดการทดลอง	อุณหภูมิ	อัตราส่วนบวบหอมต่อน้ำ	ค่าพีเอช
1	0	0	0
2	0	0	0
3	+1	+1	0
4	-1	0	-1
5	0	-1	-1
6	+1	-1	0
7	0	-1	+1
8	+1	0	+1
9	+1	0	-1
10	-1	0	+1
11	0	+1	+1
12	-1	+1	0
13	0	0	0
14	-1	-1	0
15	0	+1	-1

1.4) การสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อการทำนายผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัด

ใช้การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นแบบพหุนามเพื่อสร้างสมการขึ้นมาและประเมินปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรปัจจัยทั้งสามและสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่สามารถคำนวณความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรปัจจัยให้ออกมาในรูปแบบของสมการได้ ดังสมการที่ 2

$$\text{Yield (\%)} = \sum A_0 + \sum_{i=1}^3 A_i X_i + \sum_{i=1}^3 A_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=2}^3 A_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

เมื่อ A_0 A_i A_{ii} และ A_{ij} เป็นค่าสัมประสิทธิ์ของโมเดลทดลอง (Intercept), สัมประสิทธิ์ตัวแปรเส้นตรง (Linear), สัมประสิทธิ์ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร (Quadratic) และสัมประสิทธิ์เชิงเส้นโค้งของตัวแปร (Interaction Term) ตามลำดับ ขณะที่ X_i และ X_j เป็นตัวแปรอิสระ

2. ศึกษาความทนต่อการย่อยในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหาร

2.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมสารฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (FOS, Sigma-Aldrich, USA) และอินูลิน (Inulin, Glentham Life Sciences, UK) ซึ่งมีความบริสุทธิ์มากกว่าร้อยละ 90 (Chemical Purified grade) มาศึกษาเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ได้จากบวบหอม โดยเตรียมสารละลายทั้งสามชนิดอย่างละ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากันที่ร้อยละ 20 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

2.2 ทดสอบสภาวะการทนต่อการย่อยในกระเพาะอาหาร

ดัดแปลงวิธีจาก Wong et al. [17] โดยเติมสารละลายตัวอย่างสามชนิดที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายน้ำย่อยของกระเพาะอาหารจำลองปริมาตร 4 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย เปปซิน (p7000, Sigma-Aldrich, USA) ร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ปรับค่าพีเอชเป็น 3.0 ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พร้อมเขย่าในแนวนอนที่ 130 รอบต่อนาที เมื่อทำการบ่มเสร็จสิ้น ให้เก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร สำหรับการคำนวณหาปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์

2.3 ทดสอบสภาวะการทนต่อการย่อยในลำไส้เล็ก

นำสารละลายที่เหลือจากขั้นตอนการย่อยในกระเพาะอาหารปริมาตร 4 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ที่จำลองเป็นน้ำย่อยในลำไส้เล็กปริมาตร 4 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยเกลือน้ำดี (B3883, Sigma-Aldrich/USA) ร้อยละ 0.3 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ที่พีเอช 7.0 นำตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พร้อมเขย่าในแนวนอนที่ 130 รอบต่อนาที เมื่อทำการบ่มเสร็จสิ้น ให้เก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร สำหรับการคำนวณหาปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์

น้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ (Non-reducing sugar) คือน้ำตาลกลุ่มโอลิโกแซ็กคาไรด์ และโพลีแซ็กคาไรด์ โดยสามารถคำนวณได้ดังแสดงในสมการที่ 3 [18]

$$\text{ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์} = \text{น้ำตาลทั้งหมด} - \text{น้ำตาลรีดิวซ์} \quad (3)$$

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar)

ใช้วิธี Phenol-sulfuric acid [19] โดยนำสารละลายที่ได้จากสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหารในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายฟีนอล

ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่เตรียมจากฟีนอล (C_6H_5OH) 1 กรัม ต่อน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จึงเขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยเทียบผลที่ได้กับกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน y)

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar)

ใช้วิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) [20] โดยนำสารละลายที่ได้จากสถานะจำลองของระบบทางเดินอาหารปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ที่เตรียมจาก DNS 1 กรัม ใน 2 โมลต่อลิตร ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$) 3 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร โดยเมื่อผสมเข้ากันแล้วนำไปต้มในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นลงในหลอดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงในหลุม Microplate ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader โดยเทียบผลกับกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (แกน x) กับค่าการดูดกลืนแสง (แกน y)

3. การศึกษาการสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติก

3.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากน้ำตาล

สารสกัดที่ได้จากบวบหอมมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจัดเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) ดังนั้นจึงทำการเปรียบเทียบกับอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนอื่น ๆ จากฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์และอินูลินที่เป็นสารพรีไบโอติกที่มีความบริสุทธิ์ โดยกำหนดให้อาหารเลี้ยงเชื้อทุกชุดมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากัน 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ ได้ทำการทดลองควบคุมจำนวน 2 ชุด ได้แก่ ชุดควบคุมบวที่ใช้ น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และชุดควบคุมลบที่ใช้ น้ำกลั่นเป็นแหล่งอาหารที่ปราศจากแหล่งคาร์บอน

3.2 การเพาะเชื้อจุลินทรีย์

นำหัวเชื้อ 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53013 (LGG) (Valio, Finland), *Lactobacillus plantarum* 299V (Next Foods Probi, Sweden), และ *Lactobacillus casei* Shirota (Yakult, Japan) ที่เป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่ผ่านการทดสอบทางวิทยาศาสตร์ หรือได้รับการรับรองจากหน่วยงานภาครัฐทั้งในประเทศและต่างประเทศ ซึ่งมีคุณสมบัติในการทนต่อสภาวะกรดและน้ำดี สามารถยึดเกาะกับผนังลำไส้ของมนุษย์ได้ดี โดยนำมาเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ กำหนดให้ความเข้มข้นเชื้อสุดท้ายเท่ากับ 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total plate count บนอาหารแข็ง MRS นับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ รายงานผลเป็นโคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml)

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การรายงานข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยข้อมูลใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) และ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มที่มีนัยสำคัญ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 18 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA), วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) และออกแบบการทดลอง Box-Behnken Design (BBD) ร่วมกับ Response Surface Methodology (RSM) โดยใช้โปรแกรม Design-Expert version 13 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA)

ผลการศึกษา

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดบวบหอมด้วยวิธีการใช้น้ำร้อน

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดบวบหอมด้วยวิธีการสกัดโดยใช้น้ำร้อนภายใต้การทดลองจริง (ตารางที่ 2) พบว่า สภาวะที่ให้ปริมาณผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์จากการสกัดบวบหอม (%Yield) มากที่สุด คือการสกัดด้วยอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1:20 ที่ค่าพีเอช 8.0 ทำให้ได้ผลผลิตออกมาดีที่สุดคิดเป็นร้อยละ 6.11

ตารางที่ 2 ปริมาณผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดบวบหอม

ชุดทดลอง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราส่วน บวบหอมต่อน้ำ	ค่าพีเอช	ร้อยละผลผลิตที่ได้ (%Yield)
1	70	20	5	0.69
2	70	20	5	0.45
3	90	30	5	4.42
4	50	20	2	1.04
5	70	10	2	0.37
6	90	10	5	4.50
7	70	10	8	1.26
8	90	20	8	6.11
9	90	20	2	3.13
10	50	20	8	1.14
11	70	30	8	1.44
12	50	30	5	0.82
13	70	20	5	0.57
14	50	10	5	0.84
15	70	30	2	1.34

จากการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นแบบพหุนามด้วยวิธีการพื้นผิวตอบสนอง (RSM) สำหรับการทำนายผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดของสารสกัดจากบวบหอม (ตารางที่ 3) พบว่าโมเดลมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9826 ซึ่งบ่งบอกว่าโมเดลนี้สามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลได้ถึงร้อยละ 98.26 โดยผลการวิเคราะห์พบว่า โมเดลดังกล่าวมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p\text{-value} = 0.0007$ ซึ่งบ่งชี้ว่าโมเดลนี้สามารถใช้อธิบายถึงความแปรปรวนของข้อมูลได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้นค่า Lack of Fit ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าโมเดลนี้เหมาะสมสำหรับการทำนายผลการสกัดสารบวบหอม ดังนั้น โมเดลนี้สามารถนำมาใช้ในการพยากรณ์การสกัดสารได้ โดยเฉพาะในการทำนายผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ของสารสกัดบวบหอมที่ระดับต่าง ๆ ของตัวแปรในการสกัด

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดลองที่สกัดจากบวบหอม

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	43.78	9	4.86	31.38	0.0007
A: Temp.	25.63	1	25.63	165.35	< 0.0001
B: Ratio	0.1378	1	0.1378	0.8890	0.3890
C: pH	2.07	1	2.07	13.36	0.0147
AB	0.0009	1	0.0009	0.0058	0.9422
AC	2.07	1	2.07	13.38	0.0146
BC	0.1560	1	0.1560	1.01	0.3618
A ²	13.52	1	13.52	87.23	0.0002
B ²	0.0960	1	0.0960	0.6193	0.4670
C ²	0.5089	1	0.5089	3.28	0.1298
Residual	0.7751	5	0.1550		
Lack of Fit	0.7463	3	0.2488	17.28	0.0552
Pure Error	0.0288	2	0.0144		
Cor Total	44.56	14			
Std. Dev.	0.3937		R ²		0.9826
Mean	1.87		Adjusted R ²		0.9513
C.V. %	21.00		Predicted R ²		0.7305
			Adeq Precision		17.4466

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย Analysis of variance (ANOVA) พบว่าอุณหภูมิ (A) และค่าพีเอช (C) มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ของสารสกัดจากบวบหอม โดยค่า $p < 0.05$ แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของทั้งสองปัจจัยนี้ต่อการเพิ่มปริมาณโอลิโกแซ็กคาไรด์จากการสกัดสารบวบหอม โดยอุณหภูมิ (A) มีค่า F-value สูงที่สุด (165.35) บ่งชี้ว่ามีอิทธิพลสูงสุดต่อผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ ขณะที่อัตราส่วนระหว่างบวบหอมต่อน้ำ (B) มีค่า $p > 0.05$ จึงไม่มีผลต่อการสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากนี้ ผลการทดลองยังพบว่า ความสัมพันธ์ของตัวแปรอุณหภูมิ (A²) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่าพีเอช (AC) มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อร้อยละ

ผลผลิต (%Yield) เช่นเดียวกัน เมื่ออุณหภูมิและค่าพีเอชอยู่ในระดับที่เหมาะสมร่วมกัน ซึ่งส่งผลทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพสูงสุด

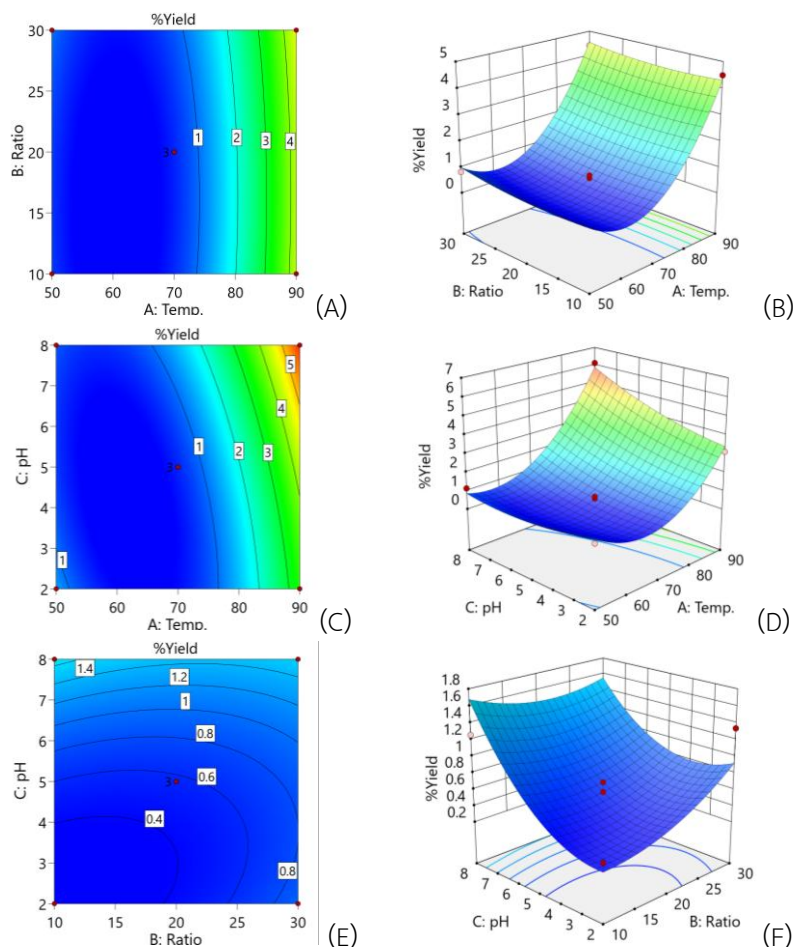
การวิเคราะห์ด้วยวิธี RSM สามารถทำนายค่าร้อยละผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดบวบหอมในสภาวะต่าง ๆ ได้จากแบบจำลองคณิตศาสตร์ ด้วยการวิเคราะห์ตัวแปรปัจจัยทั้งสามชนิด ณ สภาวะอื่น ๆ โดยใช้สมการถดถอยกำลังสอง (Second order regression analysis) ดังแสดงในสมการที่ 4

$$\begin{aligned} \%Yield = & +21.75094 - 0.638813A - 0.013208B - 0.951250C \\ & - 0.000075AB + 0.012000AC - 0.006583BC + 0.004784A^2 \\ & + 0.001613B^2 + 0.041250C^2 \end{aligned} \quad (4)$$

เมื่อ A = อุณหภูมิ, B = อัตราส่วนระหว่างบวบหอมต่อน้ำ และ C = ค่าพีเอช

ทั้งนี้ ข้อมูลที่ได้จากสมการที่ 4 สามารถนำมาคำนวณสภาวะต่าง ๆ ที่ไม่ได้ทำการทดลอง โดยนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนอง 3 มิติ (3D surface plot) เพื่ออธิบายแนวโน้มและทิศทางความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัด และแบบจำลองที่ได้สามารถระบุสภาวะที่เหมาะสมที่สุด (Optimal conditions) สำหรับการสกัดที่ให้ผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์สูงสุดได้ ดังภาพที่ 1

จากการวิเคราะห์กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนอง 2 มิติและ 3 มิติที่ได้จากสมการที่ 4 ที่ได้จากการออกแบบ BBD เพื่อตรวจสอบผลของตัวแปรอิสระต่อผลผลิตการสกัดบวบหอม (ภาพที่ 1) พบว่าปัจจัยหลักที่ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดบวบหอม ได้แก่ อุณหภูมิและค่าพีเอช โดยการสกัดที่อุณหภูมิสูงจะแสดงแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณผลผลิตได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 1A และ 1B) ในขณะที่อัตราส่วนของบวบหอมต่อน้ำ ไม่มีความแตกต่างกันมากในทุกช่วงอุณหภูมิ ส่วนปฏิสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่าพีเอชแสดงผลต่อปริมาณการสกัดในลักษณะที่เส้นคอนทัวร์และผิวหน้าของกราฟมีความชันที่ชัดเจนเมื่อค่าพีเอชอยู่ในระดับที่เหมาะสม ทำให้เห็นจุดที่ให้ค่าผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์สูงสุดตามระดับของอุณหภูมิและค่าพีเอช (ภาพที่ 1C และ 1D)



ภาพที่ 1 พื้นผิวตอบสนอง 2 มิติ และ 3 มิติแสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิกับอัตราส่วนของบวบหอมต่อน้ำ (A-B), อุณหภูมิกับค่าพีเอช (C-D) และอัตราส่วนบวบหอมต่อน้ำกับค่าพีเอช (E-F)

2. ผลความทนต่อการย่อยในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหาร

การศึกษาความทนต่อการย่อยในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหารเพื่อตรวจสอบปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ที่คงเหลือหลังการย่อยของฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ อินูลิน และสารสกัดจากบวบหอม ในระหว่างการย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กพบว่าปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ที่คงเหลือภายหลังการย่อยสารสกัดที่ได้จากบวบหอมมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดบวบหอมมีน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์เริ่มต้น 342.14 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง ก่อนลดลงเหลือ 314.10 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง หลังจาก

การย่อยที่กระเพาะอาหารและลดลงเหลือ 299.74 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง หลังการย่อยที่ลำไส้เล็ก ขณะที่อินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ มีปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์เริ่มต้น 919.92 และ 934.24 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ และมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการย่อยที่กระเพาะอาหาร โดยอินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ คงเหลือน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์อยู่ที่ 875.67 และ 874.28 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ในขณะที่หลังจากการย่อยที่ลำไส้เล็กพบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์คงเหลือปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์อยู่ที่ 881.80 และ 868.27 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4

เมื่อพิจารณาความทนต่อการย่อยพรีไบโอติกในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหารในรูปแบบร้อยละพบว่า สารสกัดบวบหอม อินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ หลังจากการย่อยในกระเพาะอาหาร มีน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์คงเหลือร้อยละ 91.90, 95.18 และ 93.63 ตามลำดับ และเมื่อทำการย่อยที่ลำไส้เล็กต่อเนื่องจากกระเพาะอาหาร พบว่า ในสารสกัดบวบหอม อินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ คงเหลือน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ หลังจากการย่อย คิดเป็นร้อยละ 87.72, 95.90 และ 93.00 ตามลำดับ

จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงการลดลงของปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ ภายหลังจากการย่อยในทั้งสองสภาวะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งชี้ให้เห็นถึงพฤติกรรมการย่อยและการดูดซึมของสารอาหารในระบบทางเดินอาหาร

ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ที่คงเหลือภายใต้สภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร

สภาวะจำลองการย่อย	ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์	
	(มิลลิกรัมต่อกรัม)	(ร้อยละ)
ก่อนย่อย		
สารสกัดจากบวบหอม	342.14 ± 6.38 ^a	-
อินูลิน	919.92 ± 17.88 ^a	-
ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์	934.24 ± 28.02 ^a	-
ในกระเพาะอาหาร		
สารสกัดจากบวบหอม	314.10 ± 38.47 ^b	91.90 ± 11.82
อินูลิน	875.67 ± 20.98 ^b	95.18 ± 0.88
ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์	874.28 ± 24.20 ^b	93.63 ± 2.89

สภาวะจำลองการย่อย	ปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์	
	(มิลลิกรัมต่อกรัม)	(ร้อยละ)
ในลำไส้เล็ก		
สารสกัดจากบวบหอม	299.74 ± 36.29 ^c	87.72 ± 11.35
อินูลิน	881.80 ± 11.41 ^b	95.90 ± 2.66
ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์	868.27 ± 31.78 ^b	93.00 ± 3.95

หมายเหตุ : นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

^{a b c} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรพิมพ์เล็กภาษาอังกฤษ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ของสารทดสอบเดียวกันในสภาวะที่แตกต่างกัน

3. ผลการศึกษาการสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติก

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในสภาวะไร้อากาศเป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง ได้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* 299V มีศักยภาพในการเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีอินูลินและสารสกัดจากบวบหอมเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเชื้อสูงสุดอยู่ที่ 9.40 และ 9.37 log CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งคาร์บอนอื่น ๆ ในขณะที่กลูโคสมีการเจริญเติบโตของเชื้ออยู่ที่ 9.30 log CFU/ml และ ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์มีการเจริญเติบโตของเชื้ออยู่ที่ 8.35 log CFU/ml ส่วนแหล่งคาร์บอนที่ทำให้เชื้อมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุดคือ น้ำ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 8.23 log CFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 5

ในกลุ่มของเชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* LGG พบว่า บวบหอมเป็นแหล่งคาร์บอนที่สนับสนุนการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้ออยู่ที่ 9.03 log CFU/ml ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตามด้วยอินูลินที่ 7.93 log CFU/ml ในขณะที่ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ กลูโคส และน้ำ ให้ผลการเจริญเติบโตน้อยที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 7.69 ถึง 7.63 log CFU/ml และไม่มีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เชื้อ *Lactobacillus casei* Shirota แสดงการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด เมื่อใช้บวบหอมเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตอยู่ที่ 8.92 log CFU/ml ในขณะที่กลูโคสและอินูลินมีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตที่รองลงมาอยู่ที่ 8.72 และ 8.14 log CFU/ml

ตามลำดับ ส่วนฟรุทโตโอลิโกแซ็กคาไรด์และน้ำให้ผลการเจริญเติบโตน้อยที่สุดที่ 7.96 และ 7.95 log CFU/ml ตามลำดับ

ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพในการใช้บวบหอมเป็นแหล่งอาหารที่มีประโยชน์สำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีความสำคัญต่อสุขภาพในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์

ตารางที่ 5 ผลการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก

แหล่งคาร์บอน	จำนวนโคโลนี (CFU/ml)		
	<i>L. plantarum</i> 299V	<i>L. rhamnosus</i> LGG	<i>L. casei</i> shirota
น้ำ	8.23 ± 0.06 ^d	7.63 ± 0.12 ^c	7.95 ± 0.06 ^d
ฟรุทโตโอลิโกแซ็กคาไรด์	8.35 ± 0.10 ^c	7.69 ± 0.12 ^c	7.96 ± 0.08 ^d
อินูลิน	9.40 ± 0.04 ^a	7.93 ± 0.14 ^b	8.14 ± 0.10 ^c
กลูโคส	9.30 ± 0.06 ^b	7.63 ± 0.14 ^c	8.72 ± 0.07 ^b
สารสกัดจากบวบหอม	9.37 ± 0.08 ^{ab}	9.03 ± 0.04 ^a	8.92 ± 0.09 ^a

หมายเหตุ : นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3)

^{a b c d} ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็ก แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของจำนวนภายในสายพันธุ์เดียวกัน

วิจารณ์

1. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดบวบหอมด้วยวิธีการใช้น้ำร้อน

จากภาพพื้นผิวตอบสนอง 3 มิติแสดงให้เห็นถึงผลกระทบร่วมของตัวแปรอิสระได้ชัดเจน โดยเฉพาะการผลของอุณหภูมิร่วมกับค่าพีเอช โดยปริมาณผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดบวบหอมสูงสุดเกิดขึ้นเมื่อปรับอุณหภูมิและค่าพีเอชให้อยู่ในช่วงสูงสุดของขอบเขตที่ศึกษา สำหรับอัตราส่วนระหว่างบวบหอมต่อน้ำพบว่า ปัจจัยอัตราส่วนดังกล่าวให้ผลต่อปริมาณผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดบวบหอมน้อยกว่าปัจจัยตัวอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ ANOVA ที่ชี้ให้เห็นว่าอัตราส่วนนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติอย่างชัดเจนต่อการสกัดบวบหอม ทั้งนี้การเพิ่มของอุณหภูมิให้สูงขึ้นทำให้ยิ่งได้ปริมาณผลผลิตของโอลิโกแซ็กคาไรด์สกัดเพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Kaushik et al. [21] ที่ศึกษาการสกัดเมล็ดของต้นปอป่า (Flaxseed gum) ด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน พบว่า

เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 30 เป็น 90 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ผลผลิตปริมาณของกัม เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2.1 เป็นร้อยละ 8.4 ของน้ำหนักเมล็ด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นช่วยเพิ่มปริมาณของกัมสามารถสกัดได้ และนอกเหนือจากการเพิ่มอุณหภูมิที่สูงขึ้นแล้ว การใช้ค่าพีเอชในระดับที่สูงก็สามารถช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตที่สูงขึ้นตามไปด้วย เนื่องจากค่าพีเอชที่สูงช่วยทำลายพันธะทางเคมีและโครงสร้างในเซลล์พืชที่ยึดจับโอลิโกแซ็กคาไรด์ ทำให้สารที่ต้องการสามารถถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น สอดคล้องกับการศึกษา Li et al. [22] ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติของผนังเซลล์ในข้าวโพด (*Zea mays* L.) กับประสิทธิภาพในการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ภายหลังผ่านกระบวนการเตรียมด้วยด่าง (Alkaline pre-treatment) พบว่าพีเอชที่สูงสามารถทำให้เกิดการย่อยสลายของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์พืช นอกจากนี้พันธะไฮโดรเจนและพันธะอื่น ๆ ที่ยึดจับโอลิโกแซ็กคาไรด์ไว้ในเซลล์พืชอาจถูกทำลายส่งผลให้โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ถูกยึดจับในโครงสร้างเซลล์สามารถหลุดออกมาได้ง่ายขึ้น และแม้ว่าอัตราส่วนบวบหอมต่อน้ำไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ในพีเอชที่สูง แต่ในช่วงพีเอชต่ำนั้น อัตราส่วนของบวบหอมต่อน้ำแสดงแนวโน้มของปริมาณร้อยละผลผลิตที่เพิ่มขึ้นได้เล็กน้อยด้วยอัตราส่วนบวบหอมต่อน้ำในปริมาณที่ใช้สารสกัดสูง แต่เนื่องจากการใช้อัตราส่วนในปริมาณมาก จำเป็นต้องใช้สารเคมีในการสกัดที่สูงตามไปด้วยส่งผลต่อค่าใช้จ่ายในการทดลองที่ไม่คุ้มทุนต่อผลผลิตที่ได้

2. ผลความทนต่อการย่อยในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหาร

จากการศึกษาการย่อยในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหารพบว่า สารสกัดจากบวบหอมคงเหลือน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์อยู่ที่ร้อยละ 87.72 ซึ่งมีปริมาณที่น้อยกว่าของ อินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่คงเหลือจากการย่อยที่ร้อยละ 95.90 และ 93.00 ตามลำดับ จากการศึกษาของ Hu et al. [23] พบว่า ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ Alpha-amylase, Saccharase และ Maltase จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์สามารถเคลื่อนตัวผ่านทางเดินอาหารส่วนบนไปทางเดินอาหารส่วนล่างได้โดยไม่ถูกย่อยหรือดูดซึม สอดคล้องกับการศึกษาของ Liang et al. [24] ที่ทำการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์ที่เตรียมจากสควอช (*Cucurbita moschata*) ซึ่งจัดเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกับบวบหอมพบว่า โพลีแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ไม่ย่อยสลายในระบบย่อยอาหาร แต่ขณะเดียวกันจะพบว่าโอลิโกแซ็กคาไรด์จากสารสกัดบวบหอมบางส่วนที่ถูกย่อยเป็น

น้ำตาลรีดิวซ์ในสภาวะจำลอง เนื่องจากภายใต้สภาวะที่เป็นกรดทำให้พันธะไกลโคซิดิกที่อยู่ในโครงสร้างเกิดการแตกตัวได้ง่าย ส่งผลให้มีการปล่อยโมโนเมอร์โอลิโกแซ็กคาไรด์บางส่วนออกมาจากโครงสร้างของโพลีแซ็กคาไรด์ เช่นเดียวกับ Losada et al. [25] ที่ระบุว่าค่า พีเอชในระบบย่อยอาหารเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้โพลีแซ็กคาไรด์สูญเสียมวลโมเลกุลไปในช่วงการย่อย จากการที่โครงสร้างถูกทำลาย

3. ผลการศึกษาการสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติก

จากการศึกษาผลของสารสกัดบวบหอมที่ได้จากการสกัดเทียบกับแหล่งคาร์บอนที่ได้มาจากฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ อินูลิน และกลูโคส พบว่า สารสกัดจากบวบหอมสามารถสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งสามสายพันธุ์ได้ และมีการเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเทียบกับกลูโคสที่เป็นอาหารมาตรฐาน สอดคล้องกับวิจัยของ Iliev [26] ที่ระบุว่า *Lactobacillus* บางกลุ่มสามารถใช้คาร์บอนจากไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Xylooligosaccharides; XOS) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีกว่ากลูโคสในบางกรณี เนื่องจากเป็นโพรไบโอติกที่สนับสนุนการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus plantarum* ในสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและการทำงานของระบบย่อยอาหารของแบคทีเรีย Pérez-Juárez et al. [27] ได้ทำการศึกษาในแตงโมที่จัดเป็นพืชวงศ์เดียวกันกับบวบหอมที่สามารถเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตได้ โดยนำแตงโมผสมกับเปลือกแตงโมเข้าด้วยกันเป็นสารตั้งต้นในการสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. rhamnosus* ซึ่งให้ผลได้ดีกว่า *L. paracasei* และ *L. brevis* เนื่องจากลักษณะของจุลินทรีย์ *L. rhamnosus* สามารถปรับปรุงเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของเมทริกซ์ที่ซับซ้อนได้ และส่งผลให้ชีวมวลของจุลินทรีย์และการสร้างกรดอินทรีย์เพิ่มขึ้น รวมถึงมีการศึกษาของ Molan et al. [28] ที่ศึกษาสารสกัดน้ำบลูเบอร์รี่ต่อความสามารถในการเป็นโพรไบโอติกพบว่า การเติมสารสกัดจากน้ำบลูเบอร์รี่ทำให้เชื้อ *L. rhamnosus* เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ Bilraheem et al. [29] ศึกษาสารสกัด Pectin hydrolysate (PEHs) จากเปลือกแตงโม *Cucumis melo* var. *saccharinus* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *L. casei* TISTR 390 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเวลา 24 และ 36 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง เมื่อใช้ Pectin enzyme hydrolysate (HPEH) จะยังมีผลต่อการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ Pectin ตัวอื่น ๆ

จากผลการศึกษาดังกล่าว แสดงถึงศักยภาพของสารสกัดจากบวบหอมในการเป็นพรีไบโอติกที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทุกชนิดที่ทดสอบได้ โดยเฉพาะในสายพันธุ์ของ *L. rhamnosus* LGG และ *L. casei* shirota ที่บวบหอมมีประสิทธิภาพสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับพรีไบโอติกทางเชิงพาณิชย์อย่างอินูลิน และ ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ โดยเชื้อโพรไบโอติกเหล่านี้จะมีผลประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านการเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันและการปรับสมดุลของลำไส้ต่อไป

สรุปผลการวิจัย

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดบวบหอมด้วยวิธีการใช้น้ำร้อนคือ การสกัดที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสและพีเอชที่ 8 โดยให้ผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดบวบหอมสูงถึงร้อยละ 6.11 และเมื่อนำสารสกัดบวบหอมที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติของพรีไบโอติกพบว่า สารสกัดจากบวบหอมมีความทนต่อการย่อยในสภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหาร โดยคงเหลือปริมาณน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวซ์ร้อยละ 87.72 ซึ่งใกล้เคียงกับพรีไบโอติกเชิงพาณิชย์อย่างเช่น ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์และอินูลิน นอกจากนี้สารสกัดจากบวบหอมยังสามารถสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ (*L. plantarum* 299V, *L. casei* Shirota และ *L. Rhamnosus* LGG) แสดงถึงศักยภาพของบวบหอมที่มีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่าพรีไบโอติกเชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตาม การศึกษาขั้นต่อไปควรมุ่งเน้นในการทำให้โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากบวบหอมบริสุทธิ์และศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากบวบหอมร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกเพิ่มเติม เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Portincasa P, Bonfrate L, Vacca M, De Angelis M, Farella I, Lanza E, et al. Gut Microbiota and Short Chain Fatty Acids: Implications in Glucose Homeostasis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1105.
2. Slavin J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients.* 2013;5(4):1417–35.
3. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, et al. Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods.* 2019;8(3):92.

4. Pokusaeva K, Fitzgerald GF, van Sinderen D. Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. *Genes Nutr.* 2011;6(3):285–306.
5. Buddington KK, Donahoo JB, Buddington RK. Dietary oligofructose and inulin protect mice from enteric and systemic pathogens and tumor inducers. *J Nutr.* 2002;132(3):472–7.
6. de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2008;111:1–66.
7. Ibrahim OO. Functional Oligosaccharide: Chemicals Structure, Manufacturing, Health Benefits, Applications and Regulations. *Food Chem Nanotechnol.* 2018;4(4):65–76.
8. Huang H, Huang G. Extraction, separation, modification, structural characterization, and antioxidant activity of plant polysaccharides. *Chem Biol Drug Des.* 2020;96(5):1209–22.
9. กลุ่มวิจัยอาหารเพื่อโภชนาการ สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. บวบหอม [อินเทอร์เน็ต]. 2561 ก.ย. 1 [เข้าถึงเมื่อ 2567 พ.ย. 27]. เข้าถึงได้จาก: <https://thaifcd.anamai.moph.go.th/nss/view.php?fid=04084>
10. Wu H, Zhao G, Gong H, Li J, Luo C, He X, et al. A high-quality sponge gourd(*Luffa cylindrica*) genome. *Hortic Res.* 2020;7(1):128.
11. Abdel-Salam IM, Awadein NE, Ashour M. Cytotoxicity of *Luffa cylindrica* (L.) M. Roem. extract against circulating cancer stem cells in hepatocellular carcinoma. *J Ethnopharmacol.* 2019;229:89–96.
12. S AS, Vellapandian C. Phytochemical Studies, Antioxidant Potential, and Identification of Bioactive Compounds Using GC-MS of the Ethanolic Extract of *Luffa cylindrica* (L.) Fruit. *Appl Biochem Biotechnol.* 2022;194(9):4018–32.
13. Zhang L, Shi M, Ji J, Hu X, Chen F. Gut microbiota determines the prevention effects of *Luffa cylindrica* (L.) Roem supplementation against obesity and associated metabolic disorders induced by high-fat diet. *Faseb j.* 2019;33(9):10339–52.
14. Wang B, Liu Q, Huang Y, Yuan Y, Ma Q, Du M, et al. Extraction of Polysaccharide from *Spirulina* and Evaluation of Its Activities. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018;2018:3425615.

15. Chen J, Liang R-h, Liu W, Li T, Liu C-m, Wu S-s, et al. Pectic-oligosaccharides prepared by dynamic high-pressure microfluidization and their in vitro fermentation properties. *Carbohydr Polym.* 2013;91(1):175–82.
16. Thirugnanasambandham K, Sivakumar V, Prakash Maran J. Process optimization and analysis of microwave assisted extraction of pectin from dragon fruit peel. *Carbohydr Polym.* 2014;112:622–6.
17. Wong Y-H, Tan C-P, Long K, Nyam K-L. In vitro simulated digestion on the biostability of *Hibiscus cannabinus* L. seed extract. *Czech J Food Sci.* 2014;32(2):177–81.
18. Lakho AB, Soomro AH, Hamed H. Effects of Pectin on the Reducing and Non-Reducing Sugar and Total Sugar Percentage of Date Jam. *IISTE.* 2017;7(3):84–7.
19. DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers Pt, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem.* 1956;28(3):350–6.
20. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem.* 1959;31(3):426–8.
21. Kaushik P, Dowling K, Adhikari R, Barrow CJ, Adhikari B. Effect of extraction temperature on composition, structure and functional properties of flaxseed gum. *Food Chem.* 2017;215:333–40.
22. Li M, Heckwolf M, Crowe JD, Williams DL, Magee TD, Kaeppler SM, et al. Cell-wall properties contributing to improved deconstruction by alkaline pre-treatment and enzymatic hydrolysis in diverse maize (*Zea mays* L.) lines. *J Exp Bot.* 2015;66(14):4305–15.
23. Hu JL, Nie SP, Min FF, Xie MY. Artificial simulated saliva, gastric and intestinal digestion of polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. *Carbohydr Polym.* 2013;92(2):1143–50.
24. Liang L, Liu G, Zhang F, Li Q, Linhardt RJ. Digestibility of squash polysaccharide under simulated salivary, gastric and intestinal conditions and its impact on short-chain fatty acid production in type-2 diabetic rats. *Carbohydr Polym.* 2020;235:115904.

25. Losada MA, Ollerros T. Towards a healthier diet for the colon: the influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. *Nutr Res.* 2002;22(1-2):71-84.
26. Iliev I, Vasileva T, Bivolarski V, Momchilova A, Ivanova I. Metabolic Profiling of Xylooligosaccharides by Lactobacilli. *Polymers.* 2020;12(10):2387.
27. Pérez-Juárez CM, García Ortiz JD, Flores-Gallegos AC, Herrera-Gonzalez SM, Cruz-Requena M, Sáenz-Galindo A, et al. Prebiotic potential of melon (*Cucumis melo* L.) and watermelon (*Citrullus lanatus*) shell flours. *Bioact Carbohydr Diet Fibre.* 2024;32:100428.
28. Molan AL, Lila M, Ravindran G. Blueberries: Genotype-dependent variation in antioxidant, free-radical scavenging, and prebiotic activities. In: Mendez-Vilas A, editor. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology.* Spain: Formatex Research Center; 2010. p. 427-434.
29. Bilraheem S, Srinuanpan S, Cheirsilp B, Upaichit A, Kawai F, Thumarat U. Optimization of pectin extraction from melon peel as a new source of pectin and pectin hydrolysate with prebiotic potential. *Foods.* 2024;13(16):2554.