นิพนธ์ต้นฉบับ

คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของมะนาวไม่รู้โห่

นพดล หงษ์สุวรรณ[*‡], ดวงกมล ศักดิ์เลิศสกุล[†]

[*]สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร จังหวัดสกลนคร 47160
[†]ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

[‡]ผู้ผิดชอบบทความ: *noptmc0550@gmail.com*

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ และคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของตัวอย่างผลอ่อนและผลแก่มะนาวไม่รู้โห่ (*Carissa carandas* L.) ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนเปลือกและเนื้อกับส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ด มีตัวอย่างทั้งหมด 4 ส่วน ได้แก่ (1) ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง): PP (W/R), (2) ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง): PS (W/R), (3) ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PP (Dm) และ (4) ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PS (Dm) การทดลองใช้วิธี proximate analysis เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 2 ระยะ และใช้เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338 เป็นตัวแทนเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของผลสดมะนาวไม่รู้โห่ ผลการศึกษาด้านคุณค่าทางโภชนาการ พบปริมาณโปรตีนและเส้นใยใน PS (W/R) มากที่สุด ร้อยละ 28.48 ± 0.32 และ 14.14 ± 0.46 ตามลำดับ ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตพบใน PP (Dm) มากที่สุด ร้อยละ 12.30 ± 0.29 และ 51.14 ± 0.78 ตามลำดับ การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกพบว่าในสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของ PP (W/R) และส่วนของ PP (Dm) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4.5 มีค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 สูงที่สุดที่เวลา 48 ชั่วโมง คือ 0.071 และ 0.094 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อที่เพิ่มมากขึ้น การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ามะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 2 ระยะ มีศักยภาพที่สามารถเป็นแหล่งอาหารทางเลือกเพิ่มเติม และสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ จากธรรมชาติที่ใช้ดูแลสุขภาพอีกทางเลือกหนึ่ง

คำสำคัญ : มะนาวไม่รู้โห่, *Carissa carandas* L., คุณค่าทางโภชนาการ, พรีไบโอติก

Received date 16/02/18, Revised date 17/12/18; Accepted date 07/02/19

Nutritional Values and Prebiotic Properties of *Ma-Now-Mai-Roo-Hoo* Fruits

Noppadol Hongsuwan[*,‡], **Duangkamon Sakloetsakun**[†]

[*]*Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus, Sakon Nakhon 47160, Thailand.*

[†]*Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand.*

[‡]***Corresponding author:*** *noptmc0550@gmail.com*

Abstract

This study aimed to investigate the primary chemical compositions, nutritional values, and prebiotic properties of both unripe and ripe *ma-now-mai-roo-hoo* fruits (*Carissa carandas* L.). The parts of the fruit used were (1) pulp + peel of unripe: PP (W/R), (2) seed coat + seed of unripe: PS (W/R), (3) pulp + peel of ripe: PP (Dm) and (4) seed coat + seed of ripe: PS (Dm). The nutritional value of *ma-now-mai-roo-hoo* fruits was studied by proximate analysis. *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338 was used to study prebiotic activities. The results show that protein and fiber in PS (W/R) exhibited the highest values; 28.48 ± 0.32% and 14.14 ± 0.46%, respectively. Fat and carbohydrates showed the highest values in PP (Dm); 12.30 ± 0.29% and 51.14 ± 0.78%, respectively. In the prebiotic experiment, it was observed that the medium containing PP (W/R) and PP (Dm) in the concentration of 4.5 exhibited the highest turbidity of *L. acidophilus* TISTR 1338 (0.071 and 0.094, respectively) after 48 hours of the incubation period, indicating an increase in the growth rate of the bacteria. This study shows that both the unripe and ripe fruits of *ma-now-mai-roo-hoo* have the potential to be an alternative source of food and can be developed as a natural alternative to health care products.

Key words: *ma-now-mai-roo-hoo*, *Carissa carandas* L., nutritional values, prebiotic

บทนำ

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกกำลังเป็นที่สนใจเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมสร้างสุขภาพของมนุษย์[1] พรีไบโอติกเป็นสารอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยในส่วนบนของระบบทางเดินอาหารมักพบในผักหรือผลไม้ที่มีเส้นใยอาหารสูง[2-4] ผลไม้ของไทยมีหลายรสชาติ โดยพบว่ารสเปรี้ยวและรสฝาดมักมีคุณค่าทางโภชนาการสูง[5] มะนาวไม่รู้โห่ (*Carissa carandas* L.) เป็นพืชวงศ์ Apocynaceae ชื่อสามัญคือ Karanda, Carunda และ Christ's thorn เป็นผลไม้พื้นเมืองชนิดหนึ่งที่ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี แต่ไม่เป็นที่นิยมในการรับประทานและเพาะปลูกในประเทศไทยเนื่องจากไม่รู้จักการนำไปใช้ประโยชน์ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าในระบบการแพทย์อายุรเวทของอินเดีย มีการนำเนื้อของผล เมล็ด และน้ำยาง ของมะนาวไม่รู้โห่มาใช้บรรเทาอาการประจำเดือนมาไม่ปกติ อาการคันจากการแพ้สิ่งต่าง ๆ ใช้รักษาโรคข้ออักเสบ รูมาตอยด์ เบื่ออาหาร อาหารไม่ย่อย จุกเสียด โรคตับ โรคม้าม โรคหัวใจ ภาวะตัวบวม ไข้ รากมีประโยชน์ใช้รักษาความผิดปกติของกระเพาะอาหาร พยาธิในลำไส้ แผลในโรคเบาหวาน และลดความดันโลหิต[6-7] อย่างไรก็ตามจากการทบทวน

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้องมีผู้รายงานการศึกษาระหว่างการเปลี่ยนแปลงสีของผลมะนาวไม่รู้โห่ 5 ระยะ ประกอบด้วย ผลอ่อน ผลก่อนแก่ ผลแก่ ผลก่อนสุก และผลสุก พบว่าการเปลี่ยนแปลงสีของผลมะนาวไม่รู้โห่ มีผลต่อการสะสมน้ำตาล โปรตีน ปริมาณฟีนอลิก กรดอะมิโนอิสระและความหนาของผนังเซลล์ในผลมะนาวไม่รู้โห่ลดลง รวมถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แต่พบปริมาณแป้งสูง ในระยะผลสุก[8] และยังมีรายงานว่าไม่พบรายงานความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากใบมะนาวไม่รู้โห่ด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้นสูงสุด 2,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว[9] เช่นเดียวกับสารสกัดจากผลมะนาวไม่รู้โห่ด้วยเมทานอล เอทิลอะซิเตท อะซิโตน และสารสกัดที่ไม่ละลายในอะซิโตน ที่ไม่พบอาการผิดปกติที่ความเข้มข้นสูงสุด 5 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว[10] ซึ่งยังมีผู้ที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับมะนาวไม่รู้โห่ค่อนข้างน้อย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ และคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของผลมะนาวไม่รู้โห่ 2 ระยะ ได้แก่ ผลอ่อน และผลแก่ โดยศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ด้วยวิธี proximate analysis ของตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ และศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกจากค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงอัตราการเจริญเติบโตของปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้น

ระเบียบวิธีศึกษา

1. แหล่งที่มาของตัวอย่าง

ตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ (*Carissa carandas* L.) วงศ์ Apocynaceae ซึ่งได้รับการตรวจสอบจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้จาก ต.บ้านจ่า อ.บางระจัน จ.สิงห์บุรี โดยเก็บตัวอย่างมาล้างน้ำให้สะอาด นำไปผึ่งลมในที่ร่มให้แห้ง นำมาแยกระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง) สีที่เทียบได้ คือ White Group 155B/Red Group 46A กับระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม) สีที่เทียบได้คือ Purple Group N77A โดยเทียบกับรหัสสีมาตรฐาน Royal Horticultural Society Colour Charts (RHS Colour Charts) จากนั้นนำผลสดมะนาวไม่รู้โห่มาแยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนเปลือกและเนื้อ กับ ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ด ซึ่งจะได้ตัวอย่างทั้งหมด 4 ชนิด ดังแสดงด้านล่าง ก่อนเก็บในถุงพลาสติกและแช่ตู้เย็นที่ -20 องศาเซลเซียส

(1) ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง): PP (W/R)

(2) ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง): PS (W/R)

(3) ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PP (Dm)

(4) ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PS (Dm)

2. การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ

ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของมะนาวไม่รู้โห่ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ และเส้นใย ทดสอบด้วยวิธี proximate analysis[11]

3. ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก

ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกจากค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ซึ่งค่าความขุ่นที่เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นถึงอัตราการเจริญเติบโตของปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้น

3.1 การทดสอบการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก

นำเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. acidophilus* TISTR 1338 จากที่เก็บไว้สำหรับการทดลองมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน MRS broth ตามสูตรที่ 1 (ตารางที่ 1) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง การเจริญเติบโตของเชื้อวัดจากความขุ่นที่เพิ่มขึ้นด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรโดยวัดความขุ่นตั้งแต่เวลาที่ 0 ชั่วโมง จากนั้นวัดความขุ่นทุก ๆ 3 ชั่วโมง จนครบ 72 ชั่วโมง นำค่าความขุ่นที่เพิ่มขึ้น กับช่วงเวลาไปสร้างกราฟเพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก

3.2 การทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของตัวอย่างผลมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ส่วน

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตรที่ 2 (ตารางที่ 1) เพื่อเป็นอาหารสูตรควบคุม และเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 3-6 ซึ่งประกอบด้วยตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ส่วน (ตารางที่ 1) ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 4.5 โดยเทียบเคียงอัตราส่วนจากอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน MRS broth (สูตรที่ 1) นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 จากที่เก็บไว้สำหรับการทดลองมาเขี่ยลงให้อาหารแต่ละสูตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดการเจริญเติบโตของเชื้อจากค่าความขุ่น ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ตั้งแต่เวลาที่ 0 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าความขุ่นทุก ๆ 3 ชั่วโมง จนครบ 48 ชั่วโมง นำค่าความขุ่นที่เพิ่มขึ้น กับช่วงเวลาไปสร้างกราฟเพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก

ตารางที่ 1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338

สูตรอาหาร	1	2	3	4	5	6	inulin
Sample (g)	–	–	PP (W/R) 4.5	PS (W/R) 4.5	PP (Dm) 4.5	PS (Dm) 4.5	inulin 1%, 2%, 4.5%
Proteose peptone (g)	1.0	–	–	–	–	–	–
Dextrose (g)	2.0	–	–	–	–	–	–
Beef extract (g)	1.0	–	–	–	–	–	–
Yeast extract (g)	0.5	–	–	–	–	–	–
Tween 80 (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Ammonium citrate (g)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodium acetate (g)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Magnesium sulfate (g)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Manganese sulfate (g)	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
Dipotassium phosphate (g)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Agar (g)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Distilled water to (ml)	100	100	100	100	100	100	100

3.3 การทดสอบหาความเข้มข้นที่ทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้สูงสุด

เตรียมอาหารสูตรที่ 3-6 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2 และ 4.5 จากนั้นนำอาหารสูตรที่เตรียมได้ไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 จากที่เก็บไว้สำหรับการทดลองมาเขี่ยลงให้อาหารแต่ละสูตรนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง การเจริญเติบโตของเชื้อวัดจากความขุ่นด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยวัดค่าความขุ่นตั้งแต่เวลาที่ 0 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าความขุ่นทุก ๆ 3 ชั่วโมง จนครบ 48 ชั่วโมง นำค่าความขุ่นที่เพิ่มขึ้นกับช่วงเวลาไปสร้างกราฟเพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก

3.4 การทดสอบหาการเจริญเติบโตของเชื้อในผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

ใช้ผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งมีสารอินนูลิน (inulin) เป็นส่วนประกอบร้อยละ 99.45 โดยเตรียมความเข้มข้นที่ร้อยละ 1, 2, 4.5 จากนั้นนำอาหารที่ผสมผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 จากที่เก็บไว้สำหรับการทดลองมาเขี่ยลงให้อาหารแต่ละสูตรนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และวัดการเจริญเติบโตเช่นเดียวกัน

3.5 การหาอัตราการอยู่รอดของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338

การหาอัตราการอยู่รอดของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่พบว่ามีการเจริญเติบโต (ค่าความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น) ของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ทำโดยการตรวจนับจำนวนโคโลนีด้วยวิธีการ drop plate และใช้เชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 (สูตรมาตรฐาน) และสูตรที่ 2 เป็นอาหารสูตรควบคุม จากนั้นเจือจางอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่พบว่ามีการเจริญเติบโตของเชื้อ ให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 10 เท่าไปเรื่อย ๆ (ten-fold dilution) ทั้งหมด 6 ความเข้มข้น แล้วทำการหยดสารละลายแต่ละความเข้มข้นลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar จำนวน 2 หยด หยดละ 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำมาตรวจนับจำนวนโคโลนีในความเข้มข้นที่สามารถนับจำนวนได้

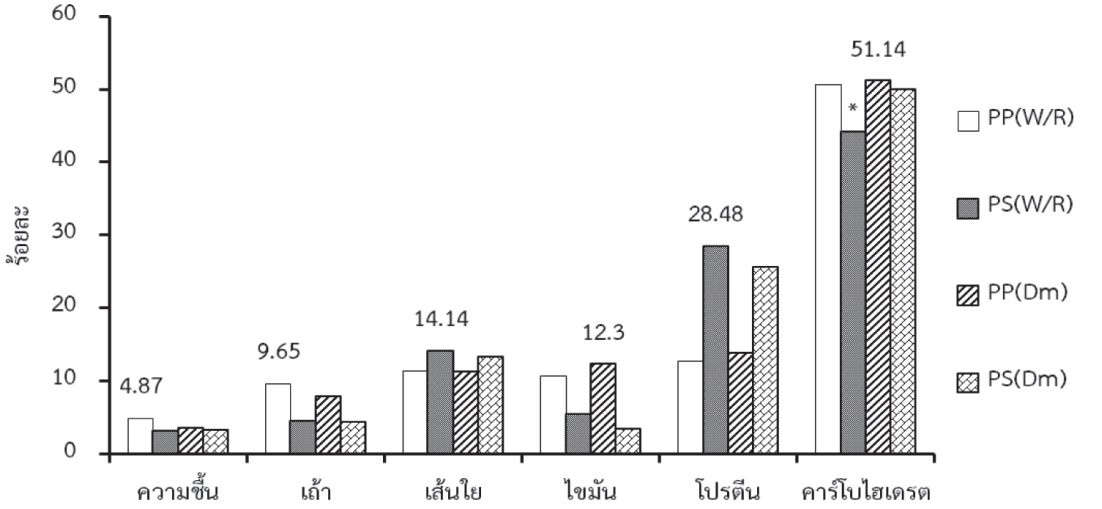
4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาแต่ละการศึกษา ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาหาค่าทางสถิติ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าความแปรปรวน และวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p-value ≤ 0.05) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistics Package for the Social Sciences (SPSS) version 17.0

ผลการศึกษา

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนการเป็นการศึกษาองค์ประกอบด้านต่าง ๆ ของตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ ซึ่งประกอบไปด้วยความชื้น เถ้า เส้นใย ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต (ภาพที่ 1) ผลการวิเคราะห์พบว่า PP (W/R) มีปริมาณความชื้นและเถ้ามากที่สุด



ภาพที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ส่วน

หมายเหตุ 1. PP (W/R) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง)
2. PS (W/R) = ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง)
3. PP (Dm) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)
4. PS (Dm) = ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)
5. ตัวเลขที่แสดง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น * ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะ PS (W/R) เท่านั้น

ร้อยละ 4.87 ± 0.10 และ 9.65 ± 0.70 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ PS (W/R), PP (Dm) และ PS (Dm) ปริมาณโปรตีนและเส้นใย พบใน PS (W/R) มากที่สุดร้อยละ 28.48 ± 0.32 และ 14.14 ± 0.46 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ PP (W/R), PP (Dm) และ PS (Dm) แต่ปริมาณเส้นใยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ PS (Dm) นอกจากนี้ปริมาณไขมันและคาร์ไฮเดรตพบใน PP (Dm) มากที่สุด ร้อยละ 12.30 ± 0.29 และ 51.14 ± 0.78 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณไขมันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ PP (W/R), PS (W/R) และ PS (Dm) และปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉพาะ PS (W/R) เท่านั้น

2. การทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่

2.1 การทดสอบการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก

ศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เลี้ยงในอาหารมาตรฐาน MRS broth: สูตรที่ 1 โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 2×10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร (0.1 McFarland) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส วัดการเจริญเติบโตของเชื้อจากความขุ่น ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยวัดความขุ่นตั้งแต่เวลาที่ 0 ชั่วโมง จากนั้นวัดความขุ่นทุก ๆ 3 ชั่วโมง จนครบ 72 ชั่วโมง นำค่าความขุ่นที่ได้ไปสร้างกราฟเพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ภาพที่ 2 แสดง

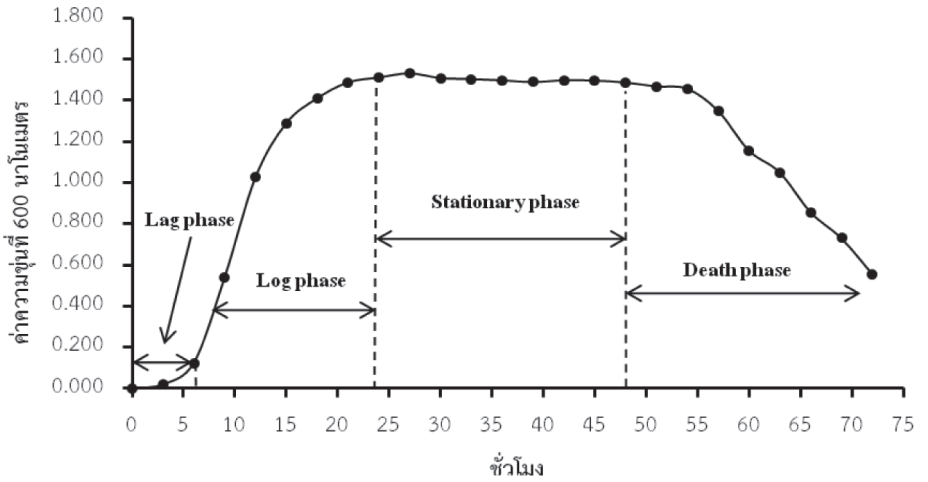
ให้เห็นว่าเมื่อระยะเวลาในการทดสอบเพิ่มขึ้น ค่าความขุ่นที่วัดได้เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งแสดงถึงการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์โดยในช่วงแรก (0-6 ชั่วโมงแรก) ของการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 จะจัดอยู่ในช่วงแล็กเฟส (lag phase) มีค่าความขุ่นที่ 0.123 จากค่าความขุ่นเริ่มต้นที่ 0.000 ในชั่วโมงที่ 7-24 ซึ่งในระยะนี้จัดอยู่ในช่วงล็อกเฟส (log phase) มีค่าความขุ่นอยู่ในช่วง 0.123-1.510 และเข้าสู่ช่วงสเตชันนารีเฟส (stationary phase) ในช่วงชั่วโมงที่ 24-48 มีค่าความขุ่นอยู่ในช่วง 1.510-1.486 หลังจากนั้นจะเข้าสู่ช่วงเดทเฟส (death phase) โดยช่วงเดทเฟส (death phase) นี้จะเริ่มหลังจากชั่วโมงที่ 48 เป็นต้นไป (ภาพที่ 2)

2.2 การทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ส่วน

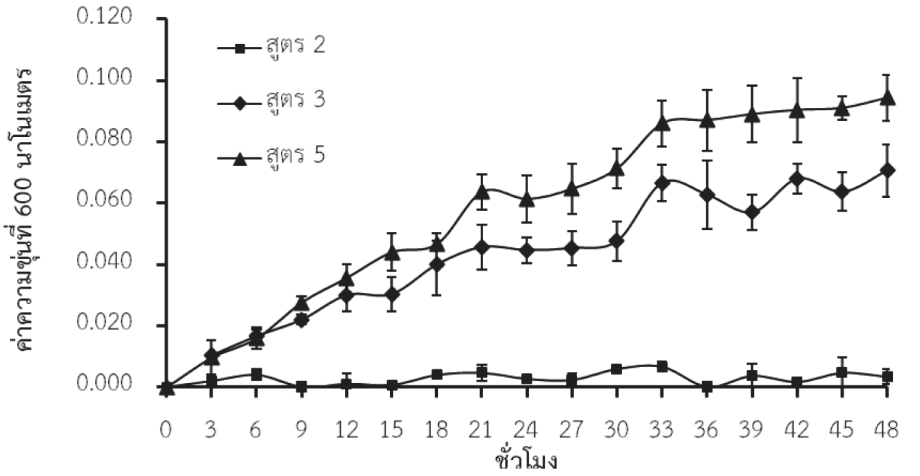
เมื่อนำค่าความขุ่นที่ได้ไปสร้างกราฟ เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกพบว่าค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เวลา 48 ชั่วโมง ของอาหารสูตรที่ 2-6 อยู่ที่ 0.003, 0.071, -0.216, 0.094, และ -0.033 ตามลำดับ สำหรับอาหารสูตรที่ 4 และสูตรที่ 6 ได้ค่าความขุ่นออกมาติดลบ หลังจากลบออกจากค่าความขุ่นเริ่มต้นซึ่งหมายถึง เชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ไม่สามารถเจริญเติบโตได้จึงสรุปได้ว่ามีเพียงอาหารสูตรที่ 3 และ 5 ที่มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก (ภาพที่ 3) ดังนั้นในการทดสอบหาความเข้มข้นที่ทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้สูงสุด จึงไม่ทำการทดสอบในอาหารสูตรที่ 2 และสูตรที่ 4

2.3 การทดสอบหาความเข้มข้นที่ทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้สูงสุด

การทดสอบหาความเข้มข้นที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกเจริญเติบโตของสูงสุดในอาหารสูตรที่ 3 และสูตรที่ 5 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, และ 4.5 โดยเทียบเคียงสัดส่วนกับอาหารมาตรฐาน MRS broth พบว่าค่าความขุ่นของเชื้อในอาหารสูตรที่ 3 ที่เวลา 48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, และ 4.5 อยู่ที่ 0.031, 0.032, 0.026 และ 0.071 ตามลำดับ สำหรับค่าความขุ่นของเชื้อในอาหารสูตรที่ 5 ที่เวลา 48



ภาพที่ 2 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ในอาหาร MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง



ภาพที่ 3 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ในอาหารแต่ละสูตรที่ 2, 3 และ 5

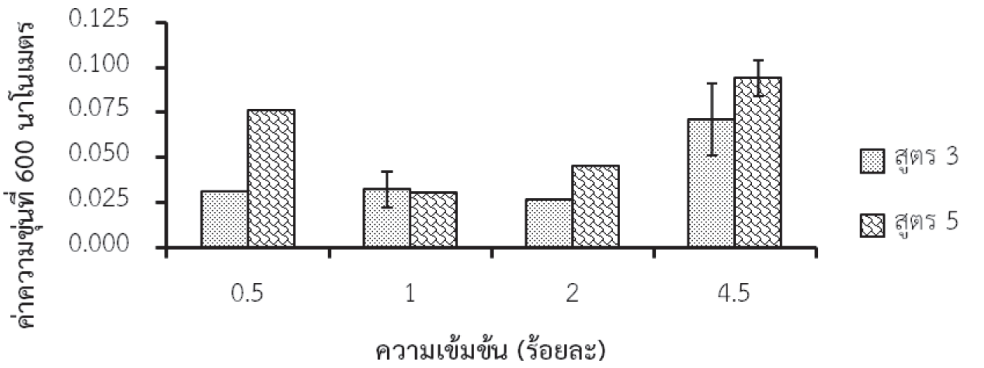
ชั่วโมง ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, และ 4.5 อยู่ที่ 0.076, 0.030, 0.045 และ 0.094 ตามลำดับ จากข้อมูลพบว่าค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ในอาหารสูตรที่ 3 และสูตรที่ 5 ไม่ได้มีการแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นเป็นการแปรผันที่คาดเดาไม่ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gustaw และคณะ ที่ศึกษาผลของพรีไบโอติกต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus thermophiles, Bifidobacterium bifidum* และ *L. acidophilus* ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยนำพรีไบโอติกที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 เติมลงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 21 วัน พบว่าความเข้มข้นของพรีไบโอติกที่ร้อยละ 1 และ 2 มีปริมาณเชื้อสูงกว่าที่ความเข้มข้นของพรีไบโอติกที่ร้อยละ 3[12]

สรุปคือในอาหารสูตรที่ 3 และ 5 ทำให้เชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 มีการเจริญเติบโตสูงสุดที่ความเข้มข้นร้อยละ 4.5 (ภาพที่ 4)

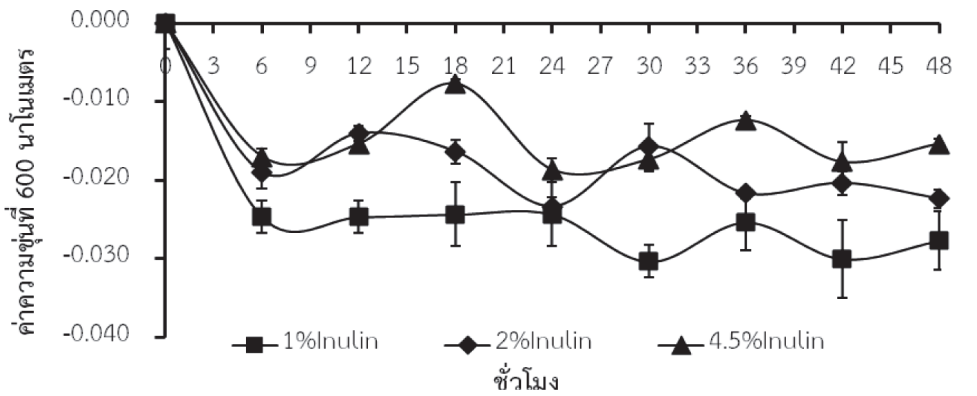
2.4 การทดสอบหาการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกที่วางจำหน่ายในท้องตลาด

การทดสอบหาค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ในสูตรอาหารที่ผสมผลิตภัณฑ์พรีไบโอติก (inulin) ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 4.5 ที่นำมาใช้ทดแทนส่วนของแหล่งไนโตรเจน และคาร์บอนในอาหารสูตรมาตรฐาน MRS broth พบว่าค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เวลา 48 ชั่วโมง ในสูตรอาหารทั้ง 3 สูตร อยู่ที่ -0.028, -0.022 และ -0.015 ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวสรุปได้ว่าสูตรที่ผสมอาหารผลิตภัณฑ์พรีไบโอติก (inulin) ที่วางจำหน่ายในท้องตลาด ไม่สามารถทำให้เชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 เจริญเติบโตได้ (ภาพที่ 5)

เมื่อเปรียบเทียบค่าความขุ่นเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เวลา 48 ชั่วโมงของอาหารสูตรที่ 3 และ 5 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4.5 ที่มีค่าความขุ่นของเชื้ออยู่ที่ 0.071 และ 0.094 ตามลำดับ กับค่าความขุ่นของเชื้อในสูตรอาหารที่ผสมผลิตภัณฑ์พรีไบโอติก (inulin) ที่วางจำหน่ายในท้องตลาด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 4.5 ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีค่า



ภาพที่ 4 การเปรียบเทียบค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เวลา 48 ชั่วโมง ในอาหารสูตรที่ 3 และ 5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพที่ 5 ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ในอาหารที่ผสมผลิตภัณฑ์พรีไบโอติก (inulin) ที่วางจำหน่ายในท้องตลาด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

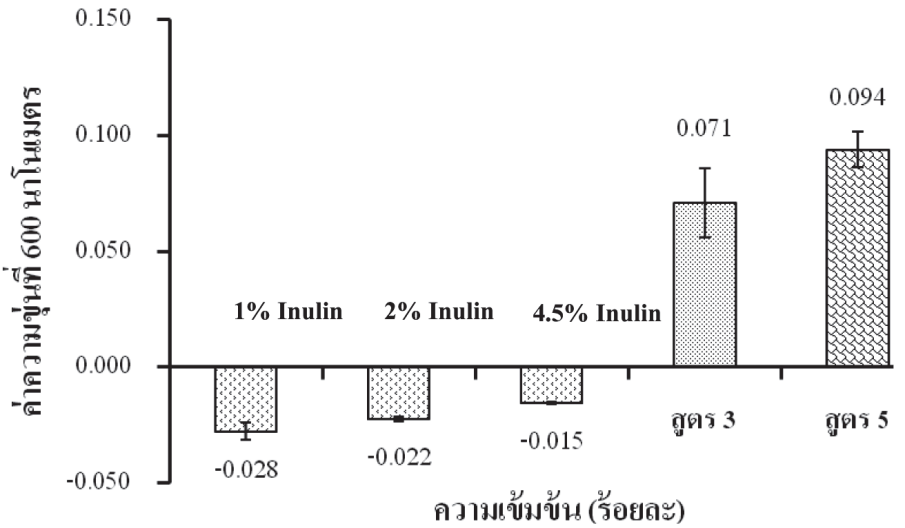
ความขุ่นของเชื้ออยู่ที่ -0.028, -0.022 และ -0.015 ตามลำดับ สรุปได้ว่าอาหารสูตรที่ 3 และ 5 สามารถทำให้เชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 เจริญเติบโตได้ดีกว่าสูตรอาหารที่ผสมผลิตภัณฑ์พรีไบโอติก (inulin) ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดในทุกความเข้มข้น (ภาพที่ 6)

2.5 การศึกษาอัตราการอยู่รอดของเชื้อ *L. acidophilus* ด้วยวิธี dilution plate count

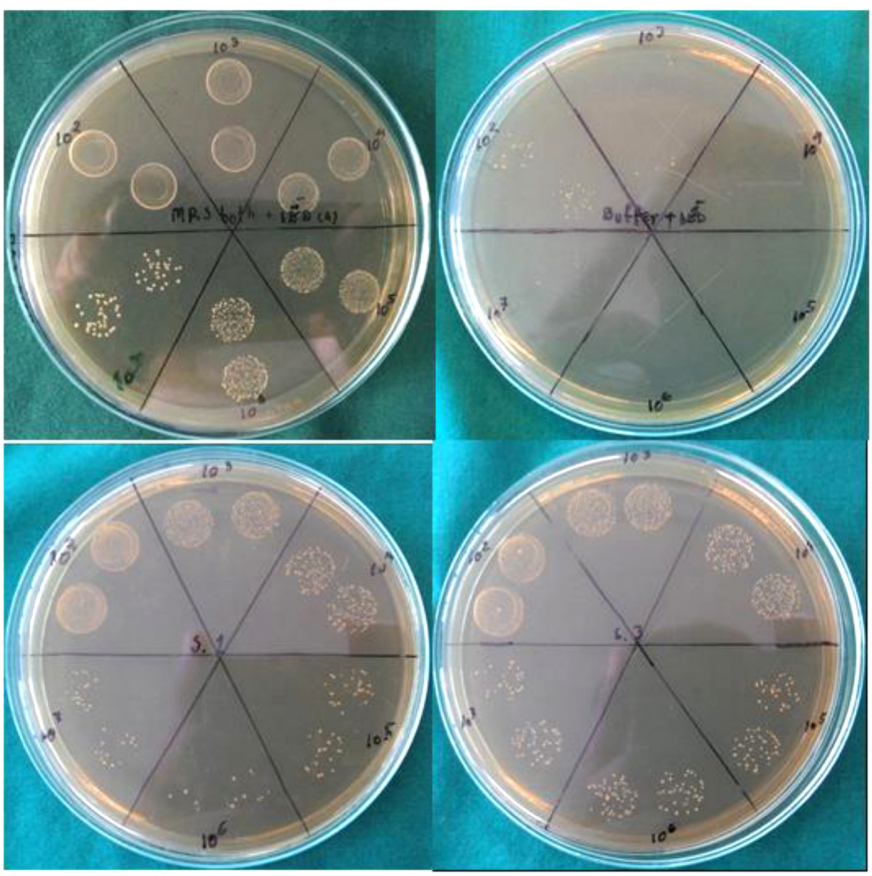
การศึกษาอัตราการอยู่รอดของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่ผ่านการเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 3 และ 5 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4.5 เพื่อเป็นการยืนยันผลการเจริญเติบโตของเชื้อที่วัดได้จากความขุ่นว่าสามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตรที่ 3 และ 5 ได้ มาตรวจสอบอัตราการอยู่รอดของเชื้อ ด้วยวิธี dilution plate count บนอาหารเหลวมาตรฐาน MRS agar (ภาพที่ 7)

พบว่าจำนวนโคโลนีในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรมาตรฐาน MRS broth (สูตรที่ 1) มีจำนวน 33 ± 1.41 x 10^9 โคโลนี/มิลลิลิตร สูตรที่ 2 มีจำนวน 22.5 ± 3.54 x 10^2 โคโลนี/มิลลิลิตร สูตรที่ 3 มีจำนวน 15.5 ± 2.12 x 10^9 โคโลนี/มิลลิลิตร และสูตรที่ 5 มีจำนวน 16 ± 1.41 x 10^9 โคโลนี/มิลลิลิตร จากจุดเริ่มต้นที่มีความหนาแน่นของเชื้อประมาณ 2 x 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร

สรุปได้ว่าอาหารสูตรที่ 3 และ 5 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4.5 มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกที่สามารถ



ภาพที่ 6 การเปรียบเทียบค่าความขุ่นของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เวลา 48 ชั่วโมง อาหารที่ผสมผลิตภัณฑ์พรีไบโอติก (inulin) กับอาหารสูตรที่ 3 และสูตรที่ 5



ภาพที่ 7 การตรวจนับอัตราการอยู่รอดด้วยวิธี dilution plate count ในอาหารสูตรต่าง ๆ

ทำให้เชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 เจริญเติบโตได้ และทำให้มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อเป็นครึ่งหนึ่งของอาหารมาตรฐาน MRS broth

อภิปรายผล

1. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าส่วนของตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ในระยะผลแก่ให้คุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่าในระยะผลอ่อนสอดคล้องกับการรายงานของ Patel และคณะ ที่ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยากับการเจริญเติบโตของผลของมะนาวไม่รู้โห่ที่พบปริมาณแป้งสูงสุดในผลสุกมะนาวไม่รู้โห่ แป้งและเส้นใยจัดเป็นสารอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตมีบางชนิดที่ไม่ถูกย่อยในส่วนบนของระบบทางเดินอาหาร[8] และมักพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกที่สามารถช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแลคติกในลำไส้ใหญ่ได้[2]

2. การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก

เป็นการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกเบื้องต้นของตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ โดยรูปแบบของการศึกษาเป็นการนำตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ไปทดแทนส่วนที่เป็นแหล่งของไนโตรเจน และคาร์บอนในสูตรอาหารมาตรฐาน MRS broth ซึ่งเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. acidophilus* TISTR 1338 จำเป็นต้องใช้ไนโตรเจนและคาร์บอนในการสังเคราะห์อาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งการเจริญเติบโตของเชื้อวัดจากค่าความขุ่นที่เพิ่มขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากผลการศึกษาพบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 3 และ 5 ที่มีตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง): PP (W/R) และส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PP (Dm) เข้าไปทดแทนที่ความเข้มข้นร้อยละ 4.5 มีค่าความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. acidophilus* TISTR 1338 ที่เวลา 48 ชั่วโมง อยู่ที่ 0.071 และ 0.094 ตามลำดับ

ข้อสรุป

การศึกษาด้านคุณค่าทางโภชนาการของตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ พบว่าส่วน PP (Dm) มีคุณค่าทางโภชนาการดีที่สุด โดยมีปริมาณเถ้า ร้อยละ 7.92 ± 0.20 ปริมาณเส้นใย ร้อยละ 11.23 ± 0.38 ปริมาณโปรตีน ร้อยละ 13.84 ± 0.37 ปริมาณไขมัน ร้อยละ 12.30 ± 0.29 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 51.14 ± 0.78 และให้ค่าพลังงานสูงสูด 370.67 ± 1.35 กิโลแคลลอรี ต่อ 100 กรัม ของส่วนที่กินได้ ซึ่งได้จากสารอาหาร 3 ชนิด คือ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต สำหรับด้านคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกพบว่าตัวอย่างผลสดส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง) และ ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม) มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก เนื่องจากทำให้เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกเจริญเติบโตได้ และมีอัตราการอยู่รอดของเชื้อเป็นครึ่งหนึ่งของอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน MRS broth

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์

References

1. Mahious A.S, Gatesoupe F.J, Hervi M, Metailler R, Ollevier F. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International. 2006;14(3):219-29.
2. Khow-ean U. Probiotics. Songklanagarind Medical Journal. 2006.;24(4):315-23. (in Thai)
3. Chaiyasut C, Sirilum S. Probiotics: Beneficial Microorganisms for Health. Journal of Bureau of Alternative Medicine. 2010;3(3):4-16. (in Thai)
4. Song SK, Beck BR, Kim D, Park J, Kim J, Kim HD, Ringù E. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. Fish & Shellfish Immunology. 2014;40(1):40-8.
5. Wetwitayaklung P, Charoenteeraboon J, Limmatvapirat C, Phaechamud T. Antioxidant Activities of Some Thai and Exotic Fruits Cultivated in Thailand. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2012;3(1):12-21.
6. Maheshwari R, Sharma A, Verma D. Phyto-therapeutic Significance of Karaunda. Bulletin of Environment Pharmacology and Life Sciences. 2012;1(12):34-6.
7. Sharma A, Tiwari R.K, Kaushik A, Tyagi L.K, Shankar K, Virmani T, Yadav S, Parvez N. Standardisation of *Carissa carandas* Linn: A drug used in indian system of medicine as per W.H.O. guidelines. Continental Journals Pharmaceutical Sciences. 2007;1;9-14.
8. Patel P.R, Rao T.V.R. Physiological changes in Karanda (*Carissa carandus* L.) fruit during growth and ripening. Nutrition and Food Science. 2013;43(2):128-36.
9. Garg V.K, Paliwal S.K, Sharma S. Analgesic and antipyretic activities of aqueous extract of leaves of *Carissa carandas* Linn. Pharmacologyonline. 2011;1(1):1109-19.
10. Itankar PR, Lokhande, SJ, Verma PR, Arora SK, Sahu RA, Patil AT. Antidiabetic potential of unripe *Carissa carandas* Linn. fruit extract. Journal Ethnopharmacology. 2011;135(2):430-3.
11. Horwitz W. Official Methods of Analysis of AOAC International. USA: Gaithersburg; 2000.
12. Gustaw W, Wiater M.K, Koziol J. The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. Acta scientiarum Polonorum, Technologia alimentaria. 2011;10(4):455-66.