วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 28 (ฉบับที่ 2) พฤษภาคม – สิงหาคม พ.ศ. 2566
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 28 (No.2) May – August 2023 บทความวิจัย

คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากกระพังโหม (*Paederia foetida* L.) และการประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบในผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสด

The Antioxidant Properties of Skunk Vine (*Paederia foetida* L.) Crude Extracts and Its Application in Butter Cookie

ฐิติพร เทียรฆนิธิกูล[1] และ จิราภรณ์ นิคมทัศน์[2*]

Thitiphorn Thankhanithikun[1] and Jiraporn Nikomtat[2*]

[1]*สาขาการอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์*

[2]*สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์*

[1]*Food and Nutrition Program, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University*

[2]*Biology Program, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Rajabhat University*

Received : 23 March 2022

Revised : 15 November 2022

Accepted : 14 January 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสดและแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ศึกษาตำรับขนมคุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม ตรวจสอบแร่ธาตุและการต้านอนุมูลอิสระของคุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม และศึกษาอายุการเก็บรักษา การตรวจสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบกระพังโหมด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay (DPPH) และวิธี ABTS free radical scavenging assay (ABTS) พบว่าสารสกัดหยาบน้ำจากกระพังโหมแห้งมีประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบน้ำจากกระพังโหมสดเล็กน้อย การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบน้ำจากกระพังโหมมีปริมาณใกล้เคียงกับสารสกัดหยาบน้ำจากกระพังโหมแห้ง การประเมินคุณภาพประสาทสัมผัสในด้านลักษณะภายนอก (รูปร่าง) สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและการยอมรับโดยรวม พบว่าผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการและบุคคลทั่วไปให้การยอมรับผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก โดยผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการและบุคคลทั่วไปมีการยอมรับโดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 กับ ร้อยละ 1 และ 3 ปริมาณแคลเซียมและโพแทสเซียมในคุกกี้เนยสดปริมาณ 100 กรัม พบว่า คุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมมีแคลเซียมและโพแทสเซียมเพิ่มมากขึ้นปริมาณ 8.37 และ 2.10 มิลลิกรัมตามลำดับ นอกจากนี้คุกกี้เนยสดที่เสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมพบว่ามีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหมทั้งอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น พบว่าผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมสามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องไม่เกิน 10 วัน ขณะที่อุณหภูมิตู้เย็นสามารถเก็บไว้ได้มากกว่า 11 วัน งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบใบกระพังโหมมีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้สามารถนำมาต่อยอดเสริมในผลิตภัณฑ์ขนมอบได้

คำสำคัญ : สารสกัดหยาบ คุกกี้ ; กระพังโหม ; ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

The objectives of this paper were to investigate the antioxidant activities of the crude distilled water extracts of fresh and dried *Paederia foetida* L.(skunk vine) leaves, to develop butter cookie recipes with added skunk vine, and to determine minerals content, antioxidant activities of butter cookies with crude extract of skunk vine and their shelf life. The antioxidant activities of the aqueous crude extracts was determined through the DPPH free radical scavenging assay and the ABTS free radical scavenging assay (ABTS). It was found that the aqueous crude extract from the dried plant had higher antioxidant activity than that from the fresh counterpart. The total phenolic content analysis revealed that both had a comparable amount. According to the sensory evaluation in terms of appearance, color, smell, taste, texture and overall acceptance performed by Laboratory panels and untrained consumer, the butter cookies with 2% aqueous crude extract of skunk vine gained a high acceptability, however, at the 0.05 level, there was no statistically significant difference between the expert and consumer groups for recipes containing 1,2,3% crude extract. 100 g of butter cookies with skunk vine crude extract supplement was found to contain higher calcium and potassium by 8.37 and 2.10 mg, respectively. In addition, butter cookies supplemented with skunk vine crude extract was found to have antioxidant activity. The butter cookie with 2% aqueous crude extract of skunk vine's shelf life can be stored for up to 10 days at room temperature and for more than 11 days in a refrigerator. To our knowledge, this study is the first to demonstrate that skunk vine crude extract may be used as a supplement for baked goods.

Keywords : crude extract ; cookie ; *Paederia foetida ;* antioxidant

***Corresponding author. E-mail** : jnikomtat@uru.ac.th

บทนำ

กระพังโหม (*Paederia foetida* L.) จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae ชื่อสามัญ skunk vine (Khushbu, 2010) มีรายงานพฤกษศาสตร์พื้นบ้านการใช้ประโยชน์ของเผ่าขมุ โดยเชื่อว่าถ้านำเครือพังโหมผูกข้อมือและเป็นข้อเท้าของเด็กป้องกันสันนิบาตได้ ขณะที่เผ่าถิ่นใช้เครือตำรวมกับเหง้าไพลกินแก้ปวดท้องในเด็ก (Tangtragoon, 1998) ในประเทศอินเดีย นำกระพังโหมมาบรรเทาโรคเกาต์ ท้องเสีย บิด อาเจียนและบรรเทาอาการอักเสบ (Kumar *et al*., 2014) อีกทั้งสารสกัดจากใบกระพังโหมที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูเบาหวานใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน (Salehin *et al*., 2011) เมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง (Kanokporn *et al*., 2014) และมีรายงานการศึกษาปริมาณแร่ธาตุในใบกระพังโหมสด 100 กรัม พบปริมาณแร่ธาตุแคลเซียมและโพแทสเซียมสูงถึง 200.40±5.63 และ 844.39±17.62 มิลลิกรัม ตามลำดับ (Srianta *et al*., 2012)

ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อการบริโภคมีอยู่มากมายหลายประเภท ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเบเกอรี่ จัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้รับความนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายไปทั่วโลก โดยได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนกลายเป็นอาหารประจำมื้อเช้า กลางวัน เย็น และสามารถรับประทานอาหารร่วมกับชาได้อีกด้วย ทั้งนี้ประชากรในประเทศไทยมีชีวิตความเป็นอยู่แบบเร่งรีบมากขึ้น หันมาบริโภคผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ทดแทนการบริโภคอาหาร เนื่องจากต้องการประหยัดเวลาและลดขั้นตอนการจัดเตรียมที่ยุ่งยาก อีกทั้งอาจสืบเนื่องมาจากกระแสนิยมในการบริโภคผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่เพิ่มมากขึ้น จากนโยบายของรัฐบาลที่ต้องการให้ประเทศไทยเป็นครัวโลก ได้มีการพัฒนาเบเกอรี่คุณภาพดีเกิดขึ้นมากมายเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค (Museo *et al*., 2016) ในประเทศไทยยังมีการศึกษาการประยุกต์ใช้กระพังโหมในด้านอาหารไม่มากนัก การนำสารสกัดหยาบใบกระพังโหมเสริมในคุกกี้เนยสด จึงเป็นการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการในการเสริมสารสกัดหยาบของพืชในผลิตภัณฑ์และยังเป็นการใช้ประโยชน์จากพืชที่พบได้ในท้องถิ่นส่งผลให้เกิดการอนุรักษ์พืชในท้องถิ่นต่อไป การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1. ตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบ ใบกระพังโหมสดและแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่น 2. ศึกษาปริมาณการใช้ผงสารสกัดหยาบกระพังโหมในคุกกี้เนยสด 3. ตรวจสอบแร่ธาตุและการต้านอนุมูลอิสระของคุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม และ 4. ศึกษาอายุการเก็บรักษาของคุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม

วิธีดำเนินการวิจัย

<u>การสกัดสารสกัดหยาบจากพืช</u>

นำตัวอย่างกระพังโหมจากตำบลแม่พูล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ ในเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564 มาจัดทำพรรณไม้อัดแห้งเพื่อเป็นตัวอย่างพืชอ้างอิง (voucher specimen) เก็บไว้ที่หอพรรณไม้ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

นำใบกระพังโหมที่สมบูรณ์ไม่มีโรคจากยอดไม่เกิน 1 เมตร มาสกัดสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสดและแห้งด้วยวิธีการต้มในน้ำเดือด (Decoction) สกัดสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสดเตรียมโดยนำใบกระพังโหมสดมาล้างให้สะอาดและล้างน้ำสุดท้ายด้วยน้ำกลั่น ผึ่ง 1 ชั่วโมงให้พอแห้ง จากนั้นปั่นให้มีขนาดเล็กลงด้วยเครื่องปั่น ขณะที่ใบกระพังโหมแห้ง เตรียมโดยการนำกระพังโหม

สดมาล้างให้สะอาดจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักแห้งคงที่ นำใบกระพังโหมที่แห้งแล้วมาปั่นให้มีขนาดเล็กลงด้วยเครื่องปั่น นำใบกระพังโหมสด/แห้งใส่ถุงผ้าขาวบาง ต้มด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 10 นาที โดยใช้อัตราส่วนพืชต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1: 10 (w/v) เมื่อครบเวลานำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จากนั้นระเหิดตัวทำละลายอีกครั้งด้วยเครื่อง Lyophilizer (modified from Sopittummakhun and Rattanasinganchan, 2017) บันทึกสี กลิ่นที่พบของสารสกัดหยาบ ชั่งน้ำหนักและคำนวณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบ (% Yield Crude Extract)

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay

เตรียมสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) ความเข้มข้น 0.1 mM ใน methanol เก็บให้พ้นแสง เตรียมสารสกัดหยาบใบกระพังโหมโดยเจือจางสารสกัดด้วยตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 0-1,000 µg/mL จากนั้นเติมสารสกัดแต่ละความเข้มข้น เติมสารละลาย 0.1 mM DPPH ผสมสารละลายให้เข้ากัน บ่มในที่มืด วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วย spectrophotometer โดยใช้ methanol เป็น blank คำนวณหาประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระ (50% inhibitory concentration; IC_{50}) และคำนวณหาค่า gallic acid equivalent (GAE) antioxidant capacity เปรียบเทียบกับสารละลาย 3,4,5-trihydroxybenzoic acid (gallic acid) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 - 10 µg/mL (Formagio *et al*., 2014)

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS free radical scavenging assay

เตรียมสารละลาย 2,2′-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radical cation ($ABTS^{\bullet+}$) ความเข้มข้น 7 mM และสารละลาย potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ความเข้มข้น 2.45 mM ใน deionized water เติมสารละลายความเข้มข้น 2.45 mM $K_2S_2O_8$ ลงในสารละลาย 7 mM $ABTS^{\bullet+}$ ในอัตราส่วน 1:1 บ่มปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในที่มืด เตรียมสารสกัดหยาบใบกระพังโหมโดยเจือจางสารสกัดด้วยตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 0-10,000 µg/mL จากนั้นเติมสารสกัดแต่ละความเข้มข้นลงใน 96 -well microplate เติมสารละลาย ABTS reaction reagent บ่มปฏิริยาทดสอบในที่มืด วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยใช้ deionized water เป็น blank คำนวณหาประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระ (IC_{50}) และคำนวณหาค่า Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) เปรียบเทียบกับสารละลาย 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 - 1 mg/mL (Elfalleh *et al*., 2009)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compound content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay

เตรียมสารสกัดหยาบใบกระพังโหมโดยเจือจางสารสกัดด้วยตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เติมสารละลาย 50% v/v Folin-Ciocalteu's phenol reagent ใน distilled water จากนั้นเติม deionized water และเติม 95% ethanol ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วย vortex mixer บ่มปฏิกิริยาทดสอบในที่มืด เติมสารละลาย 5% w/v sodium carbonate (Na_2CO_3) ใน distilled water บ่มปฏิกิริยาทดสอบในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm ด้วย

spectrophotometer โดยใช้ methanol เป็น blank และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 - 100 µg/mL (Rabeta and Faraniza, 2013)

การวิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์ประเภทต่างๆ ด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

วิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์ประเภทต่างๆ ในสารสกัดหยาบกระพังโหมสดและแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ด้วยเครื่อง GC-MS (GC 7890B Agilent Technology และ MSD 5977B GC/MSD Agilent Technology) เทียบกับฐานข้อมูล NIST17

การศึกษาปริมาณการใช้ผงสารสกัดหยาบกระพังโหม

นำสูตรคุกกี้เนยสดมาตรฐานที่มีส่วนผสมของแป้งอเนกประสงค์ ผงฟู เนยสด น้ำตาลทราย ไข่ไก่ และเกลือป่นมาเสริมด้วยผงสารสกัดกระพังโหมที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ในปริมาณร้อยละ 1, 2 และ 3 ของน้ำหนักแป้ง ทำการประเมินการยอมรับลักษณะอาหารด้านคุณลักษณะ ลักษณะภายนอกสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส ความยอมรับโดยรวม ด้วยแบบทดสอบการยอมรับลักษณะอาหารทางประสาทสัมผัส 9 Point Hedonic Scaling Test (คะแนน 1 = ไม่ยอมรับมากที่สุด คะแนน 9 = ยอมรับมากที่สุด) โดยผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการ (Laboratory panels) จำนวน 5 คน และบุคคลทั่วไปที่มีสุขภาพดี ไม่มีอาการป่วย ปวดท้องหรือท้องเดิน ไม่มีประวัติการแพ้อาหาร อายุไม่ต่ำกว่า 20 ปี จำนวน 50 คน นำข้อมูลการประเมินทางประสาทสัมผัสมาคำนวณค่าร้อยละ (Percentage) ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) และวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

การตรวจสอบแร่ธาตุและการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์

ตรวจสอบปริมาณแคลเซียม (Ca) และโพแทสเซียม (K) ที่พบในคุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม โดยวิธี In – house method T9152 based on AOAC (2019)

ตรวจสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสด นำผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดที่เติมสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 และไม่เติมสารสกัดหยาบ มาตรวจสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH DPPH และ ABTS ด้วยวิธี In house method based on Spectrophotometer (สกัดด้วยเมทานอล 50% ในอัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10)

ตรวจสอบอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม

ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม (shelf life) นำผลิตภัณฑ์บรรจุลงในถุงแก้ว OPP ซีลปิดปากถุงให้สนิททำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิตู้เย็น 6 องศาเซลเซียส ทำการสุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบปริมาณน้ำในอาหาร (Water Activity) และคุณภาพผลิตภัณฑ์ขนมอบในส่วนของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม โดยใช้เกณฑ์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนคุกกี้ มผช. 118/2555 ทดสอบด้วยวิธี AW LAB และ BAM Online, 2002 (Chapter 3)

ผลการวิจัย

ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากพืช

ตัวอย่างกระพังโหมอ้างอิง (voucher specimen) เก็บไว้ที่หอพรรณไม้ สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ หมายเลขตัวอย่างพืชอ้างอิง QBG No.130047 สกัดสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสดและแห้งด้วยวิธีการต้ม ผลการสกัดสารจากพืชแสดงดังตารางที่ 1 พบว่า สารสกัดหยาบใบกระพังโหมแห้งมีร้อยละผลผลิตสูงกว่าสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสด 3 เท่า โดยลักษณะของสารสกัดหยาบทั้ง 2 ตัวอย่าง มีสีน้ำตาลเขียว และมีกลิ่นเฉพาะตัวของกระพังโหม

Table 1 Crude extracts obtained from skunk vine and its description

Sample	% Yield	Crude extract description
Fresh	5.86	Dark greenish brown and weak smell
Dry	16.94	Dark greenish brown and weak smell

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay

จากตารางที่ 2 พบว่าสารสารสกัดหยาบใบกระพังโหมแห้งมีประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay สูงกว่าสารสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสด โดยแสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.43 mg/mL และมีค่า GAE antioxidant capacity เท่ากับ 7.34 mg gallic acid/g extract ขณะที่สารสกัดหยาบใบกระพังโหมสด แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.44 mg/mL และมีค่า GAE antioxidant capacity เท่ากับ 7.14 mg gallic acid/g extract

Table 2 Antioxidant capacity of the distilled water crude extracts of fresh and dried skunk vine leaves by DPPH free radical scavenging assay

Crude extract	IC_{50} (mg/mL)*	GAE antioxidant capacity (mg gallic acid/g extract)
Fresh leaves	0.440	7.14
Dried leaves	0.428	7.34
Gallic acid solution	0.003142	-

*Calculated from interpolating the percentage of antioxidant capacity by the experiment 3 replications via GraphPad Prism

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS free radical scavenging assay

จากตารางที่ 3 สารสกัดหยาบใบกระพังโหมแห้งมีประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี ABTS free radical scavenging assay สูงกว่าสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสดเช่นเดียวกันกับการทดสอบฤทธิ์ในการสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay โดยแสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 2.11 mg/mL และมีค่า TEAC เท่ากับ 247.85 mg Trolox/g extract ขณะที่สารสกัดหยาบใบกระพังโหมสด แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 2.19 mg/mL และมีค่า TEAC เท่ากับ 238.92 mg Trolox/g extract

Table 3 Antioxidant capacity of the distilled water crude extracts of fresh and dried skunk vine leaves by ABTS free radical scavenging assay

Crude extract	IC_{50} (mg/mL)*	TEAC (mg Trolox/g extract)
Fresh leaves	2.194	238.92
Dried leaves	2.115	247.85
Trolox solution	0.524	-

*Calculated from interpolating the percentage of antioxidant capacity by the experiment 3 replications via GraphPad Prism

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compound content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay

จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสด แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 14.25 mg gallic acid/g extract ขณะที่สารสกัดหยาบใบกระพังโหมแห้ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 14.08 mg gallic acid/g extract (ตารางที่ 4)

Table 4 Total phenolic content of the distilled water crude extracts of fresh and dried skunk vine leaves by Folin-Ciocalteu assay

Crude extract	Total phenolic content (mg gallic acid/g extract)*
Fresh leaves	14.25 ± 0.24
Dried leaves	14.08 ± 1.04

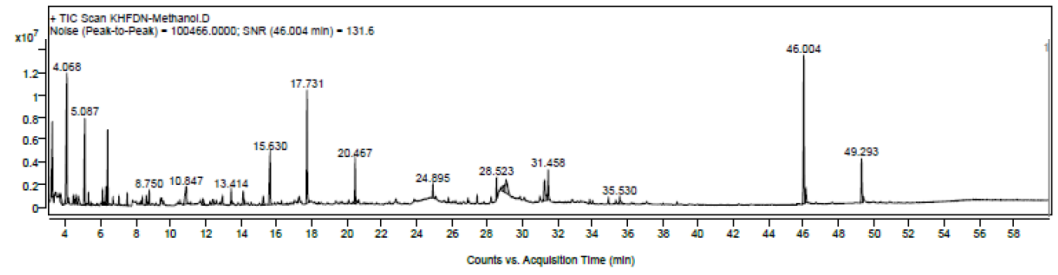
*mean ± standard deviation (n=3)

ผลการวิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

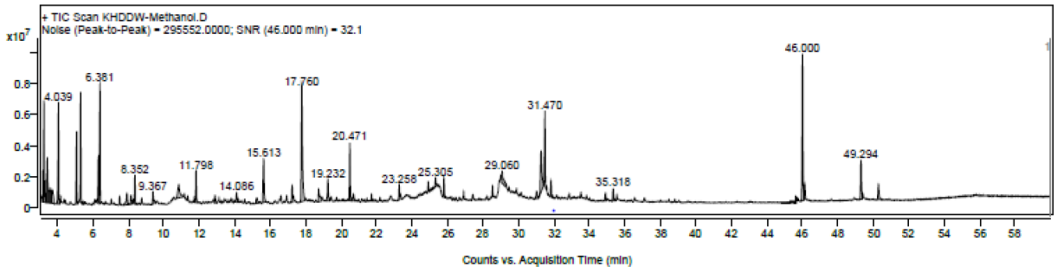
วิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์ในสารสกัดหยาบกระพังโหมสดและแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่นด้วยเครื่อง GC-MS พบสารประกอบอินทรีย์ในสารสกัดหยาบกระพังโหมสดทั้งหมด 19 สาร โดยสารที่มีคะแนนความใกล้เคียงกับฐานข้อมูล NIST17 อยู่ที่ร้อยละ 90 ขึ้นไปจำนวน 10 สาร นอกจากนี้ยังพบสารที่ไม่พบจากฐานข้อมูลจำนวน 4 สาร ขณะที่สารประกอบอินทรีย์ที่พบในสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งพบทั้งหมด 30 สาร โดยสารที่มีคะแนนความใกล้เคียงกับฐานข้อมูลร้อยละ 90 ขึ้นไปจำนวน 8 สาร สารที่ไม่พบจากฐานข้อมูลจำนวน 9 สาร โดยสารที่พบทั้ง 2 สารสกัดหยาบ ได้แก่ Propanoic acid, 2-oxo-methyl ester, 4-Cyclopentene-1,3-dione, 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- , Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1- (hydroxymethyl)ethyl ester และ Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1- (hydroxymethyl)ethyl ester (ตารางที่ 5) โครมาโตแกรมของสารที่พบในสารสกัดหยาบกระพังโหมสดและแห้งแสดงดังภาพที่ 1

ผลการศึกษาปริมาณการใช้ผงสารสกัดหยาบกระพังโหม

จากการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกระพังโหม พบว่า ผงแห้งของสารสกัดหยาบกระพังโหมจากใบกระพังโหมแห้งแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีกว่าผงแห้งของสารสกัดหยาบกระพังโหมจากใบกระพังโหมสด ดังนั้นผงแห้งของสารสกัดหยาบกระพังโหมจากใบกระพังโหมแห้งจึงถูกมาใช้เสริมในคุกกี้เนยสด ผลการศึกษาคุณภาพคุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบกระพังโหม 3 ระดับ (ร้อยละ 1, 2 และ 3) จากผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการ การประเมินคุณภาพประสาทสัมผัสในด้านลักษณะภายนอก (รูปร่าง) สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม พบว่าผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการ (Laboratory panels) ให้การยอมรับสูตร CK 05 (เสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมร้อยละ 2) มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก เมื่อพิจารณาในแต่ละด้านของคุณลักษณะ 6 ด้าน พบว่าลักษณะภายนอกมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.00±0.71 ด้านสีมีการยอมรับระดับปานกลาง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.40±0.89 ด้านกลิ่นมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.80±0.84 ด้านรสชาติมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.60±0.89 ด้านเนื้อสัมผัสมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.00±0.71 ด้านการยอมรับโดยรวมมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.60±0.89 (ตารางที่ 6)



(A)



(B)

Figure 1 GC-MS chromatogram of distilled water crude extracts of fresh (A) and dried (B) skunk vine leaves

Table 5 Compounds identified in distilled water crude extracts of fresh and dried skunk vine leaves in GC-MS

No.	Name of the compound	Molecular formula	Distilled water crude extracts (Score in database (%)*)	
			Fresh	Dry
1	Propanoic acid, 2-oxo-methyl ester	$C_4H_6O_3$	93.68	80.82
2	4-Cyclopentene-1,3-dione	$C_5H_4O_2$	92.74	92.18
3	Furaneol	$C_6H_8O_3$	-	92.71
4	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	$C_6H_8O_4$	97.11	96.00
5	3-Penten-2-one, 4-methyl-	$C_6H_{10}O$	-	92.88
6	2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	$C_6H_{12}O_2$	94.36	90.20
7	Benzofuran, 2,3-dihydro-	C_8H_8O	92.79	-
8	Phenol, 5-ethenyl-2-methoxy-	$C_9H_{10}O_2$	95.92	-
9	2-Methoxy-4-vinylphenol	$C_9H_{10}O_2$	-	94.73
10	4-(2,6,6-Trimethylcyclohexa-1,3-dienyl) but-3-en-2-one	$C_{13}H_{18}O$	93.68	-
11	n-Hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	91.22	-
12	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	$C_{19}H_{38}O_4$	98.67	95.64
13	Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	$C_{21}H_{42}O_4$	91.65	91.06

*NIST17 database

Determined by Central Laboratory of Science and Technology Park, Chiang Mai University, Thailand

Table 6 Sensory score of butter cookie supplemented with the distilled water crude extract of dried skunk vine leaves by Laboratory Panels

Product test	Crude extract concentration in butter cookie*		
	1% (CK 04)	2% (CK 05)	3% (CK 06)
Appearance[ns]	7.40±0.89	8.00±0.71	7.80±0.45
Colour[ns]	7.40±0.89	7.40±0.89	7.60±0.89
Smell[ns]	7.60±1.14	7.80±0.84	7.40±0.55
Taste[ns]	7.40±0.55	7.60±7.89	7.40±0.89
Texture[ns]	7.20±0.84	8.00±0.71	8.00±0.00
Acceptance[ns]	7.20±0.84	7.60±0.89	7.40±0.55

*Note : mean ± standard deviation (n=5)

ns (not significant) : values in the same row are not significantly difference using Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at p>0.05

ผลการศึกษาตำรับมาตรฐานของคุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม 3 ระดับ (ร้อยละ 1, 2 และ 3) จากบุคคลทั่วไป การประเมินคุณภาพประสาทสัมผัส ในด้านลักษณะภายนอก (รูปร่าง) สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม พบว่าบุคคลทั่วไป ให้การยอมรับตำรับ CK 05 (เสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมร้อยละ 2) มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก เมื่อพิจารณาในแต่ละด้านของคุณลักษณะ 6 ด้าน พบว่า ลักษณะภายนอกมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.82±1.06 ด้านสีมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.72±0.97 ด้านกลิ่นมีการยอมรับระดับปานกลาง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.50±1.22 ด้านรสชาติมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.56±1.36 ด้านเนื้อสัมผัสมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.60±1.11 ด้านการยอมรับโดยรวมมีการยอมรับระดับมาก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.76±1.00 (ตารางที่ 7)

การตรวจสอบแร่ธาตุและการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์

คุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดใบกระพังโหมร้อยละ 2 มีการยอมรับทั้งผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการ และบุคคลทั่วไปสูงสุด จึงถูกนำมาตรวจสอบปริมาณแร่ธาตุแคลเซียมและโพแทสเซียมที่พบปริมาณสูงในใบประพังโหม และคุกกี้เนยสดตำรับมาตรฐานไม่เสริมสารสกัดหยาบ ปริมาณ 100 กรัม ดังตารางที่ 8 แสดงให้เห็นว่าคุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหมมีปริมาณแคลเซียมและโพแทสเซียมเพิ่มมากขึ้นจากคุกกี้เนยสดตำรับมาตรฐานเท่ากับ 8.37 และ 2.10 มิลลิกรัม ตามลำดับ

Table 7 Sensory score of butter cookie supplemented with the distilled water crude extract of dried skunk vine leaves by general public

Product test	Crude extract concentration in butter cookie*		
	1% (CK 04)	2% (CK 05)	3% (CK 06)
Appearance[ns]	7.67±1.17	7.82±1.06	7.68±1.04
Colour[ns]	7.42±1.11	7.72±0.97	7.34±1.22
Smell[ns]	7.37±1.27	7.50±1.22	7.48±1.31
Taste[ns]	7.00±1.40	7.56±1.36	7.50±0.97
Texture[ns]	7.22±1.17	7.60±1.11	7.50±0.97
Acceptance[ns]	7.46±1.15	7.76±1.00	7.52±0.99

*Note : mean ± standard deviation (n=50)

ns (not significant) : values in the same row are not significantly difference using Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at p>0.05

Table 8 Nutritional composition of butter cookie which supplemented or non- supplemented with the distilled water crude extract of dried skunk vine leaves

Component	Nutritional composition (mg/100g)*	
	Supplemented with crude extract	Non-supplemented with crude extract
Calcium (Ca)	51.46	43.09
Potassium (K)	89.68	87.58

*Determined by National Food Institute, Thailand

นำผลิตภัณฑ์คุกกี้เสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมร้อยละ 2 และไม่เติมสารสกัดหยาบ มาตรวจสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ผลการตรวจสอบ แสดงดังตารางที่ 9 พบว่าสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งที่สกัดด้วยน้ำสามารถเพิ่มฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระในคุกกี้เนยสดเมื่อตรวจสอบด้วยวิธี DPPH พบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ 44.13 mg QE/100g DW สูงกว่าคุกกี้ที่ไม่เติมสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งที่สกัดด้วยน้ำฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ 34.76 mg QE/100g DW

Table 9 Antioxidant capacity of butter cookie which supplemented or non- supplemented with the distilled water crude extract of dried skunk vine leaves by DPPH และ ABTS assay

Antioxidant assay	Antioxidant capacity (mg QE/100g DW)*	
	Supplemented with 2% crude extract	Non-supplemented with crude extract
DPPH	44.13	34.76
ABTS	11.43	22.97

*Determined by Central Laboratory of Science and Technology Park, Chiang Mai University, Thailand

ผลการตรวจสอบอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ขนมอบเสริมกระพังโหม

ผลการตรวจสอบปริมาณน้ำในอาหาร (Water Activity) เท่ากับ 0.58 มีค่าความชื้นน้อยกว่า 0.60 (ร้อยละ 15) การตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์ขนมอบในส่วนของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยใช้เกณฑ์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช.118/2555 โดยจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม พบว่า ที่อุณหภูมิห้องวันที่ 0 ถึงวันที่ 10 คุกกี้เนยสดมีสีน้ำตาลอ่อน สีปกติไม่คล้ำ เนื้อสัมผัสกรอบร่วน จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ส่วนอุณหภูมิตู้เย็นวันที่ 6 ถึงวันที่ 11 คุกกี้เนยสดมีสีน้ำตาลอ่อน สีปกติไม่คล้ำ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (ตารางที่ 10)

Table 10 Quality of skunk vine butter cookie compared with Thai Industrial Standards Institute (TISI) standards

Storage day	Test	Result* (Unit)	TISI standards
Room Temperature			
5	Total microorganisms	nd	Total microorganisms $<1\times10^4$ cfu/g
10	Total microorganisms	nd	Total microorganisms $<1\times10^4$ cfu/g
Refrigerator Temperature			
6	Total microorganisms	nd	Total microorganisms $<1\times10^4$ cfu/g
11	Total microorganisms	nd	Total microorganisms $<1\times10^4$ cfu/g

*nd (not detected) : Total microorganisms <10 cfu/g

Determined by Science and Technology Center, Uttaradit Rajabhat University, Thailand

วิจารณ์ผลการวิจัย

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบกระพังโหมที่สกัดด้วยน้ำกลั่นด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay (DPPH) และวิธี ABTS free radical scavenging assay (ABTS) พบว่าสารสกัดหยาบน้ำจากกระพังโหมแห้งมีประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบน้ำ โดยสารสกัดหยาบใบกระพังโหมแห้งมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH สูงกว่า 0.2 mg gallic acid/g extract และฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS สูงกว่า 8.9 mg Trolox/g extract ขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay พบว่าสารสกัดหยาบน้ำจากกระพังโหมสดแสดงปริมาณน้อยกว่าสารสกัดหยาบน้ำจากกระพังโหมแห้งเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในใบกระพังโหมสดยังมีน้ำอยู่ภายในเซลล์จึงทำให้เกิดการเจือจางของสารออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ทั้งนี้มีรายงานการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกระพังโหมสดในประเทศอินโดนีเซียที่ระเหิดน้ำออกด้วยเครื่อง freeze dryer ด้วยวิธี DPPH โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล แสดงค่า IC_{50} อยู่ที่ 4.53 mg/mL (Srianta *et al*., 2012) อย่างไรก็ตามใบกระพังโหมทั้งสดและแห้งยังคงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระถึงแม้ว่าจะผ่านการต้มด้วยความร้อน โดยความร้อนสามารถทำให้มีการสูญเสียปริมาณสารฟีโนลิคและสารต้านอนุมูลอิสระส่งผลให้กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 25-55 โดยเฉพาะวิตามินซีซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดที่สลายตัวได้ง่าย ถูกทำลายได้โดยออกซิเจนในอากาศ ความร้อนและด่าง (Termwong, 2008) เนื่องด้วยการสกัดสารสกัดหยาบใบกระพังโหมแห้งให้ร้อยละผลผลิตมากกว่าการสกัดจากใบกระพังโหมสดถึงประมาณ 3 เท่า ใบกระพังโหมแห้งจึงเหมาะที่จะนำมาสกัดสารสกัดหยาบและเสริมในผลิตภัณฑ์

การวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ในสารสกัดหยาบกระพังโหมสดและแห้งที่สกัดด้วยน้ำกลั่นด้วยเครื่อง GC-MS พบสารประกอบอินทรีย์ในสารสกัดหยาบกระพังโหมสดทั้งหมด 19 สาร โดยสารที่มีคะแนนความใกล้เคียงกับฐานข้อมูลร้อยละ 90 ขึ้นไปจำนวน 10 สาร ขณะที่สารประกอบอินทรีย์ที่พบในสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งพบทั้งหมด 30 สาร โดยสารที่มีคะแนนความใกล้เคียงกับฐานข้อมูลร้อยละ 90 ขึ้นไปจำนวน 8 สาร สารที่พบทั้ง 2 สารสกัดหยาบมีจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ Propanoic acid, 2-oxo-methyl ester, 4-Cyclopentene-1,3-dione, 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-, Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1- (hydroxymethyl) ethyl ester และ Octadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester ขณะที่สารที่พบเฉพาะสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งมี 3 ชนิด ได้แก่ Furaneol, 3-Penten-2-one, 4-methyl- และ 2-Methoxy-4-vinylphenol มีรายงานสารประกอบอินทรีย์หลักที่พบในต้นกระพังโหม ได้แก่ iridoid, glycosides, sitosterol, stigmasterol, alkaloids, carbohydrates, protein, amino acid และ volatile oil เฉพาะส่วนใบกระพังโหมสามารถพบสารประกอบอินทรีย์ ได้แก่ iridoid, glycosides, asperuloside, paederoside และ scandoside (sitosterol, stigmasterol, campesterol, ursolic acid, palmitic acid และ methyl mercaptan (Khushbu *et al*., 2010) ซึ่งมีรายงานว่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขึ้นกับปริมาณสารฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่ม Polyphenol, Flavonoids ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีนตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป จึงมีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาได้ (Jirum & Srihanam, 2011)

การศึกษาตำรับมาตรฐานของคุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหม 3 ระดับ การประเมินคุณภาพประสาทสัมผัสในด้านลักษณะภายนอก (รูปร่าง) สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม พบว่า ผู้ผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการและบุคคลทั่วไป ให้การยอมรับตำรับ CK 05 (เสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมที่สกัดจากกระพังโหมแห้งร้อยละ 2) มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก เมื่อพิจารณาในแต่ละด้านของคุณลักษณะ 6 ด้าน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการและกลุ่มบุคคลทั่วไป มีการยอมรับที่แตกต่างกันในด้านสีและด้านกลิ่นที่มีการยอมรับระดับปานกลาง เมื่อพิจารณาพบว่าคุกกี้เนยสดมีกลิ่นของกระพังโหมอ่อน ๆ เนื่องจากกระพังโหมมีน้ำมันหอมระเหย (Kumar *et al*., 2014) ทั้งนี้อาจจะเป็นการแสดงออกของสาร furaneol ที่พบในสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งที่สกัดด้วยน้ำ โดย Leffingwell (2004) รายงานว่า furaneol จะให้ลักษณะกลิ่นหวานของน้ำตาล ซึ่ง furaneol อาจเป็นสารที่ส่งเสริมให้มีกลิ่นอ่อน ๆ ในตัวอย่างได้ ส่วนลักษณะภายนอก, ด้านรสชาติ, ด้านเนื้อสัมผัสและด้านการยอมรับโดยรวมมีการยอมรับระดับมาก โดยคุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งร้อยละ 2 มีลักษณะปรากฏของคุกกี้เนยสดเปลือกนอกของผลิตภัณฑ์มีรูปทรงที่ดี มีรสชาติไม่หวานมาก เนื้อสัมผัสกรอบร่วน

จากรายงานของ Srianta *et al*. (2012) ตรวจสอบแร่ธาตุที่พบในใบกระพังโหมสด 100 กรัม พบปริมาณธาตุแคลเซียม (Ca) และโพแทสเซียม (K) ในปริมาณสูงกว่าแร่ธาตุอื่น ๆ เมื่อตรวจสอบปริมาณธาตุแคลเซียมและโพแทสเซียมในคุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบใบกระพังโหมแห้งร้อยละ 2 ปริมาณ 100 กรัม พบว่า คุกกี้เนยสดเสริมกระพังโหมมีแคลเซียมและโพแทสเซียมเพิ่มขึ้นจากตำรับที่ไม่เติมสารสกัดหยาบปริมาณ 8.37 และ 2.10 มิลลิกรัม ตามลำดับ คนไทยจำนวนไม่น้อยบริโภคแคลเซียมเพียงร้อยละ 30 ของความต้องการในแต่ละวันเท่านั้น ในวัยผู้ใหญ่ทั้งหญิงและชายได้รับแคลเซียมโดยเฉลี่ยเพียง 361 มิลลิกรัมต่อวัน น้อยกว่าปริมาณที่เหมาะสมที่กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดไว้ (Poungpun, 1999) นักเรียนในระดับสูงกว่าชั้นประถมศึกษาร้อยละ 98.1 ได้รับแคลเซียมไม่เพียงพอโดยได้รับแคลเซียมจากอาหารเฉลี่ยเพียง 187 มิลลิกรัมต่อคนต่อวัน หรือร้อยละ 15.6 ของปริมาณที่ควรได้รับ ปัญหาการขาดแคลเซียมในวัยรุ่นจะส่งผลต่อการสะสมมวลกระดูก ทำให้เกิดความผิดปกติของกระดูก ได้แก่ โรคกระดูกพรุน โรคกระดูกอ่อน เกิดตะคริวและความดันโลหิตสูงในอนาคต จึงควรมีการให้ความรู้เพื่อนำไปสู่การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ส่งเสริมการดูดซึมแคลเซียม ส่งเสริมการบริโภคอาหารเช้า บริโภคอาหารให้ครบ 5 หมู่ รวมทั้งแหล่งอาหารที่เป็นแหล่งของแคลเซียมให้มากขึ้นควบคู่กับการออกกำลังกาย (Phoowachinnapong *et al.,* 2017) ขณะที่โพแทสเซียมเป็นสารประจุบวกที่อยู่ในสารน้ำในเซลล์ร้อยละ 90-98 หรือประมาณ 140 มิลลิโมล/ลิตร และอยู่ในสารน้ำนอกเซลล์ร้อยละ 2 หรือประมาณ 4 มิลลิโมล/ลิตร ความเข้มข้นของโพแทสเซียมภายในเซลล์สูงกว่าภายนอกเซลล์ 20-23 เท่า การควบคุมการผ่านเข้าออกของโพแทสเซียมระหว่างภายนอกและภายในเซลล์ผ่านทาง Na+ -K+ -ATPase pump แต่การรักษาสมดุลของโพแทสเซียมในเลือดขึ้นกับอัตราการขับโพแทสเซียมออกทางไตซึ่งควบคุมโดยฮอร์โมนอัลโดสเตอโรน โพแทสเซียมทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการนำสัญญาณไฟฟ้า เช่น การส่งสัญญาณในระบบประสาท การทำงานของกล้ามเนื้อ เป็นต้น (Promdee, 2010)

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบกระพังโหม ด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้งที่เสริมในผลิตภัณฑ์สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ด้วยวิธี DPPH สูงกว่าคุกกี้ที่ไม่เติมสารสกัดหยาบกระพังโหมแห้ง โดยสามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมของสารต้านอนุมูลอิสระแก่ DPPH• แต่ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมไม่มีผลต่อการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูล ABTS+• ที่ถูกออกซิไดซ์ด้วย $K_2S_2O_8$ อาจเนื่องมาจากกระบวนการผลิตคุกกี้ เช่น อุณหภูมิในการอบส่งผลต่อความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS โดยมีรายงานว่าเมื่ออุณหภูมิการอบแห้งตัวอย่างพืชเพิ่มขึ้น จะทำให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมีค่าลดลง (Jansuna *et al*., 2020) ดังนั้นการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระแต่ละวิธี มีข้อแตกต่างในเรื่องของกลไกการทดสอบและกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีสมบัติแตกต่างกัน ทำให้มีผลการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรแต่ละวิธีมีผลการทดลองที่แตกต่างกันไป จึงต้องใช้การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระหลายวิธี (Halee & Rattanapun, 2017)

ผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดกระพังโหมแห้งสามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องไม่เกิน 10 วันและสามารถเก็บไว้ในอุณภูมิตู้เย็นได้มากกว่า 11 วัน พบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม โดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5-7 °C เป็นการยับยั้งการเน่าเสียและป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค (Somyapukdee & Kittiseribut, 2002) งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบใบกระพังโหมที่เป็นพืชในท้องถิ่นที่สามารถนำมาต่อยอดเพิ่มคุณค่าเสริมในผลิตภัณฑ์ขนมอบในปัจจุบันได้ อีกทั้งยังเป็นอีกหนึ่งประโยชน์ที่สนับสนุนการอนุรักษ์พืชท้องถิ่นของไทยที่มีภูมิปัญญาการใช้ประโยชน์มายาวนาน

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดหยาบด้วยน้ำจากใบกระพังโหมแห้งสามารถต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบใบกระพังโหมสด ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay (DPPH) และวิธี ABTS free radical scavenging assay (ABTS) จึงนำสารสกัดหยาบใบกระพังโหมแห้งมาเสริมในผลิตภัณฑ์คุกกี้เนยสด ผู้ทดสอบชิมในห้องปฏิบัติการ และบุคคลทั่วไปให้การยอมรับคุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบกระพังโหมที่ร้อยละ 2 สูงสุด มีการยอมรับอยู่ในระดับมาก คุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบใบกระพังโหมที่ร้อยละ 2 ปริมาณ 100 กรัม พบแร่ธาตุแคลเซียมและโพแทสเซียมเพิ่มมากขึ้นเท่ากับ 8.37 และ 2.10 มิลลิกรัม ตามลำดับ อีกทั้งยังพบการต้านอนุมูลอิสระในคุกกี้เนยสดเสริมสารสกัดหยาบใบกระพังโหม ด้วยวิธี DPPH ทั้งนี้สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้องไม่เกิน 10 วัน ขณะที่อุณหภูมิตู้เย็นสามารถเก็บไว้ได้มากกว่า 11 วัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ภายใต้แผนงานยุทธศาสตร์การวิจัยและพัฒนานวัตกรรม ในระบบวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 ที่สนับสนุนทุนวิจัย ผู้ให้ข้อมูลในพื้นที่ตำบลหัวดง อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ สาขาการอาหารและโภชนาการ และสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี อีกทั้งศูนย์ประสานงาน อพ.สธ.-มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ในการเอื้อเฟื้อสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Elfalleh, W., Nasri, N., Marzougui, N., Thabti, I., M'rabet, A., Yahya, Y., Lachiheb, B., Guasmi, F. & Ferchichi, A. (2009). Physico-chemical properties and DPPH-ABTS scavenging activity of some local pomegranate (*Punica granatum*) ecotypes. *International Journal* of *Food Sciences* and *Nutrition, 60,* 197-210.

Formagio, A.S.N., Volobuff, C.R.F., Santiago, M., Cardoso, C.A.L., Vieira, M.D.C. & Pereira, Z.V. (2014). Evaluation of antioxidant activity, total flavonoids, tannins and phenolic compounds in *Psychotria* leaf extracts. *Antioxidants*, *3*, 745-757.

Halee, A. and Rattanapun, B. (2017). Study of Antioxidant Efficacies of 15 Local Herbs. *KMUTT Research and Development Journal*, *40*(2), 283-293. (in Thai)

Jansuna, S., Charoensup, L., Jirakiattikul, Y. & Harakotr, B. (2020). Effects of Drying Temperatures and Times on Antioxidant Contents and Their Activities of *Centella asiatica* (L.) Urb. Leaves. *Thai Science and Technology Journal, 28*(12), 2261-2272. (in Thai)

Jirum, J. & Srihanam, P. (2011). Free Radical and Antioxidant: Source and Reaction Mechanisms. *Kalasin University Journal of Sciences Technology and Innovation*, *1*(1), 59-70. (in Thai)

Kanokporn, S., Supap, S., & Kantarat, J. (2014). Gastroprotective Effects and Antioxidant Activities of *Paederia pilifera* Hook.f. Root Extract. *Chiang Mai Journal of Science*, *41*(5.1), 1121–1131.

Khushbu, C., Anar, P., Mayuree, P., Carol, M., Roshni, S., & Subodh, A. (2010). *Paederia foetida* Linn. As a potential medicinal plant : A Review. *Journal of Pharmacy Research*, *3*(12), 3135-3137.

Kumar, V., Anwar, F., Ahmed, D., Verma, A., Ahmed, A., Damanhouri, A.Z., Mishra, V., Ramteke, W.P., Bhatt, P.C. & Mujeeb, M. (2014). *Paederia foetida* Linn. leaf extract: an antihyperlipidemic, antihyperglycaemic and antioxidant activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *14*(76), 1-16.

Leffingwell, J.C. (2004). Flavor-Base'2004. Flavor-Base Database, Version Date July 01, 2004.

Museo, S., Mahlee, S., Waekerjek, N., Daewosnung, A., Jehloh, H., Waeni, F. & Khaosung, W. (2016). The educational needs of consumers bakery in Tasap District Yala Provinces. The 1st National Conference. Ratchathani University. Ubonratchathani, Thailand. (in Thai)

Phansawan, B. (2013). Free radicals, Antioxidants and Antioxidant Activity Determination. *Thai Science and Technology Journal*, *21*(3), 275-286. (in Thai)

Phoowachinnapong, R., Lowirakorn, S. & Uttamavatin, P. (2017). Consumption Behavior of Calcium Rich Nutrient by Students of Faculty of Public Health, Khon Kaen University. *KKU Journal for Public Health Research, 10*(3), 23-31. (in Thai)

Poungpun, W. (1999). Calcium Consumption of Early Adolescent Students in Rural Area: A Case Study in Tasalaprachanusorn School, Manchakheree District, Khon Kaen Province. Master's thesis. Khon Kaen University. (in Thai)

Promdee, L. (2010). Pseudohyperkalaemia : causes and laboratory result validation. *Journal of Medical Technology and Physical Therapy, 22*(3), 208-217. (in Thai)

Rabeta, M.S. & Faraniza, R. (2013). Total phenolic content and ferric reducing antioxidant power of the leaves and fruits of *Garcinia atroviridis* and *Cynometra cauliflora*. *International Food Research Journal*, *20,* 1691-1696.

Salehin, K., Dilara, Z., Rajib, D., Dilruba, N., Shamima, A., Ahmed, R. & Mohammed, R. (2011). Antihyperglycemic Activity Studies with Methanol Extract of *Madhuca Indica* J.F. Gmel. Leaves and *Paederia Foetida* L. Stems in Mice*. Advances in Natural and Applied Sciences*, *5*(2), 122–126.

Somyapukdee, K. & Kittiseribut, S. (2002). Chilled Foods. E-Center for Food Safety: Faculty of Technology. Mahasarakham University. (in Thai)

Sopittummakhun, K & Rattanasinganchan, P. (2017). Extraction and determination of antioxidant activity in herbal plant. *Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal*, *3*(1), 86-94. (in Thai)

Srianta, I., Arisasmita, J.H., Patria, H.D. & Epriliati, I. (2012). Ethnobotany, nutritional composition and DPPH radical scavenging of leafy vegetables of wild *Paederia foetida* and *Erechtites hieracifolia. International Food Research Journal, 19*(1), 245-250.

Tangtragoon, T. (1998). Ethnobotany of the Khamu, Lawa and H'tin in Some Areas of Nan Province. Master's Thesis, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. (in Thai)

Termwong, N. (2008). Total of antioxidant, Phenolic compounds and Vitamin C in Vegetables and Medicinal Plants. *Advanced Science Journal*, *8*(1), 41-48. (in Thai)