# สมบัติในการต้านอนุมูลอิสระการต้านเบาหวานและการเป็นสารพรีไบโอติกของข้าวและข้าวโพดไทย

# Antioxidant, Antidiabetic and Prebiotic Properties of Thai Brown Rices and Corns

**สุรีย์ นานาสมบัติ[1*] ปาริฉัตร พุตจอน[1] พรนภา เนตรจุฬารัตน์[1] และพัชรี อ่อนน้อม[1]**
**Suree Nanasombat[1*] Pharichat Putjon[1] Pondnapa Netchularrat[1] and Patcharee Onnorm[1]**

*Received: May 1, 2021; Revised: July 16, 2021; Accepted: July 21, 2021*

## บทคัดย่อ

ในการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากข้าวและข้าวโพดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอกทั้งหมด 6 ชนิด สารสกัดข้าวกล้องลืมผัวและข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่งอกมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดชนิดอื่น (ความสามารถในการรีดิวซ์ 0.66 - 1.17 มิลลิโมลเฟอรัสต่อกรัมสารสกัดโดยวิธี FRAP) สารสกัดข้าวกล้องลืมผัว ข้าวโพดข้าวเหนียวและข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่งอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 833.33 - 1,704.17 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดซึ่งสูงกว่าสารสกัดชนิดอื่น สารสกัดข้าวกล้องลืมผัวและข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสสูงกว่าสารสกัดชนิดอื่น สารสกัดข้าวกล้องแดงที่งอกมีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-กลูโคสิเดสสูงสุด สารสกัดข้าวกล้องสินเหล็กที่ไม่งอกและข้าวกล้องลืมผัวที่งอกมีสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยปริมาณสูงมาก (518.16 - 538.06 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด) จากนั้นได้คัดเลือกข้าวกล้องลืมผัวและข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มาผลิตเครื่องดื่มที่เติม *Lactobacillus acidophilus* การอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกชนิดนี้ในเครื่องดื่มข้าวกล้องลืมผัวที่งอกและเครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่งอกพบว่าสูงกว่าในเครื่องดื่มชนิดอื่นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เครื่องดื่มข้าวชนิดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดคือ เครื่องดื่มข้าวกล้องลืมผัวทั้งชนิดที่งอกและไม่งอก สำหรับกิจกรรมต้านเบาหวาน เครื่องดื่มข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ที่งอกมีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคซิเดสสูงสุด

**คำสำคัญ :** สารประกอบฟีนอลิก; สารพรีไบโอติก; สารต้านอนุมูลอิสระ; สารต้านเบาหวาน; พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย

[1] *คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง*
[1] *Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology*
[*] *Corresponding Author E - mail Address: suree.na@kmitl.ac.th*

## Abstract

Phytochemical properties of 6 germinated and non-germinated rice and corn extracts were studied. The extracts of non-germinated Leum-Pua rice and riceberry had stronger antioxidant activities with high reducing capacities of 0.66 - 1.17 mmol Fe(II)/g extract by FRAP assay. The extracts with higher total phenolic contents were non-germinated Leum-Pua rice, waxy corn and riceberry (833.33 - 1,704.17 mg GAE/g extract). Leum-Pua rice and riceberry extracts had higher α-amylase inhibitory activity. The extract of germinated red rice showed highest α-glucosidase inhibitory activity. The extracts with high amount of indigestible polysaccharide were non-germinated Sinlek rice and germinated Leum-Pua rice (518.16 - 538.06 mg/g extract). Then, Leum-Pua rice and riceberry were selected to use as raw material for production of probiotic drinks with *Lactobacillus acidophilus*. The survival of this probiotic bacterium in germinated Leum-Pua rice and non-germinated riceberry drinks was higher than those in other drinks during storage at 4 $^{o}$C for 14 days. The rice drinks with strongest antioxidant activity and highest phenolic content were both germinated and non-germinated Leum-Pua rice drinks. For antidiabetic activity, germinated riceberry drink had highest α-amylase and α-glucosidase inhibitory activities (10.31 % and 36.14 % inhibition, respectively).


**Keywords:** Phenolic Compounds; Prebiotics; Antioxidant; Antidiabetic; Indigestible Polysaccharide

## บทนำ

ข้าวเป็นอาหารหลักสำหรับประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของประชากรโลก ข้าวเป็นส่วนที่ได้จากเมล็ดของต้นข้าว (*Oryza sativa* L.) ซึ่งข้าวหลายชนิดมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ในข้าวแดง ข้าวดำ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวชนิดต่าง ๆ เหล่านี้ประกอบไปด้วย สารประกอบฟีนอลิก เช่น แอนโทไซยานินและสารอื่น ๆ ซึ่งมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ [1] - [3] โดยสารเหล่านี้เป็นสารพฤกษเคมีที่พบตามธรรมชาติในพืช โดยทั่วไปเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือสารที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคอ้วน ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และช่วยลดปฏิกิริยาการอักเสบ [4]

สารอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species หรือ ROS) ซึ่งได้แก่ Superoxide Anion, Hydrogen Peroxide, Peroxyl Radical, Peroxynitrite และ Singlet Oxygen เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นในร่างกายจากกิจกรรมเมแทบอลิกภายในเซลล์ตามปกติ รวมถึงปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ เช่น มลพิษทางอากาศ อนุมูลอิสระสามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของเซลล์ ส่งผลให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคมะเร็ง ความผิดปกติของระบบประสาท ไขมันอุดตันในเส้นเลือด ความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน ภาวะการหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน โรคปอดอักเสบเรื้อรังและโรคหอบหืด

ในร่างกายสิ่งมีชีวิตมีระบบต่อต้านอนุมูลอิสระซึ่งรวมถึง สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ สารต้านอนุมูลอิสระจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันอันตรายจาก ROS [5] โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะต่อต้าน ROS รวมถึงป้องกันสารชีวโมเลกุลอื่น ๆ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ลิพิด และสารอื่น ๆ [6] จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องรับประทานอาหารที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระสูง

โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus) ไม่ใช่โรคเพียงโรคเดียว แต่ยังเป็นกลุ่มของอาการแปรปรวนที่เป็นสาเหตุในการก่อให้เกิดโรค ซึ่งมีลักษณะคือ หลังจากรับประทานอาหารจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งเกิดจากการที่อินซูลินทำงานบกพร่องหรือมีการทำงานของอินซูลินที่ลดลง จึงทำให้เกิดความผิดปกติของเมแทบอลิซึมของกลูโคส ไขมันและโปรตีน ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ที่ส่งผลในระยะยาว โรคเบาหวานแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 Diabetes) เกิดจากการที่เบต้า-เซลล์ของตับอ่อน (Pancreatic Beta-Cell) ถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันตัวเอง ทำให้ไม่สามารถหลั่งอินซูลินได้เกือบทั้งหมด ผู้ป่วยเบาหวานชนิดนี้จึงจำเป็นต้องได้รับการฉีดอินซูลินเพื่อชดเชยการหลั่งอินซูลินในร่างกาย แต่การได้รับอินซูลินจากการฉีดก็ไม่สามารถที่จะเลียนแบบหน้าที่ปกติของเบต้า-เซลล์ได้ ซึ่งจะช่วยปรับอัตราการหลั่งอินซูลินตามความต้องการของร่างกาย การรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 1 คือ การควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสภาวะช็อกได้ และสภาวะน้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้นทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ เช่น ตาบอดและโรคไตวายเรื้อรัง ส่วนโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 Diabetes) เป็นโรคเบาหวานที่พบมากในผู้ป่วยส่วนใหญ่ (ประมาณร้อยละ 90 ของผู้ป่วยทั้งหมด) มีสาเหตุมาจากการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินร่วมกับภาวะบกพร่องของการหลั่งอินซูลิน [7] ซึ่งมีการใช้ยาสังเคราะห์หลายชนิดในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เช่น ซัลโฟนิลยูเรีย (Sulfonylurea) เป็นยาที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากเบต้า-เซลล์ของตับอ่อน ไบกวาไนด์ (Biguanide) เป็นยาที่ช่วยปรับปรุงความไวของเนื้อเยื่อต่ออินซูลินหรือช่วยลดภาวะดื้อต่ออินซูลินและอะคาร์โบส (Acarbose) เป็นยาที่ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อนและทำหน้าที่ในการย่อยแป้ง การกินยาอะคาร์โบสพร้อมอาหารจะช่วยให้การย่อยคาร์โบไฮเดรตล่าช้าลง [8] และอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดน้ำตาลในเลือด คือ การป้องกันการดูดซึมของคาร์โบไฮเดรตหลังจากรับประทานอาหาร พอลิแซ็กคาไรด์เป็นสารอาหารที่มีโครงสร้างซับซ้อนซึ่งจะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสไปเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ หลังจากนั้นจะถูกไฮโดรไลซ์ต่อไปเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสก่อนที่จะถูกดูดซึมในเอพิธิลเลียลเซลล์ในลำไส้ (Intestinal Epithelium) และเข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสจึงช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยจะยับยั้งเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์คาร์โบไฮเดรตจึงทำให้ชะลอการดูดซึมของกลูโคส [9] ซึ่งถ้าหากสามารถค้นพบธัญพืชที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านเบาหวานได้สูงก็น่าสนใจที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ นอกจากนี้ธัญพืชยังจัดเป็นสารพรีไบโอติก (Prebiotic) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในร่างกาย แต่จะมีกิจกรรมกับแบคทีเรียในลำไส้ที่ส่งผลดีต่อร่างกาย [10] เช่น Arabinoxylooligosaccharides ที่พบในรำข้าวสาลี [11] เป็นต้น ในปัจจุบันนักวิจัยด้านอาหารฟังชันนอล (Functional Food) ได้พัฒนาอาหารเสริมที่มีประสิทธิภาพต่อองค์ประกอบและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้หรือที่เรียกว่า แบคทีเรียโพรไบโอติก ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น ช่วยส่งเสริม

การย่อยน้ำตาลแลคโตส และยังช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้นจึงมีการนำสารพรีไบโอติกมาใช้ร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติก หรือที่เรียกกันว่า ซินไบโอติก (Synbiotic) เพื่อให้ส่งผลดีต่อร่างกาย [12] ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ก็เพื่อศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของข้าวและข้าวโพดของไทยและนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มธัญพืชโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพ

## วิธีดำเนินงานวิจัย

1. **ขั้นตอนวิธีการวิจัย**

1.1 **วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง**

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ข้าวเจ้าพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa* L. หรือ Riceberry) และพันธุ์สินเหล็ก ได้มาจากศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ข้าวเหนียวพันธุ์ลืมผัว (*Oryza sativa* var. Glutinosa) และข้าวเจ้าแดง (*Oryza sativa* L.) ข้าวโพดข้าวเหนียว (*Zea mays* ceratina) และข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม (*Zea mays* Linn.) ได้มาจากจังหวัดนครปฐม

1.2 **การเตรียมเมล็ดธัญพืชงอก**

วิธีการทำเมล็ดธัญพืชให้งอก ทำตามวิธีการของ [13] โดยดัดแปลงวิธีการเล็กน้อย ทำได้โดยการล้างเมล็ดข้าวให้สะอาดและแช่น้ำในอัตราส่วน 1:3 น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวางบนผ้าขาวบางที่เปียกและปล่อยให้งอกที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด

1.3 **การเตรียมสารสกัดจากธัญพืช**

การสกัดทำได้โดยชั่งตัวอย่างผงธัญพืชแห้ง 10 กรัม เติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่กรองได้ไประเหยเอาเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจนได้สารสกัดเข้มข้นและทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

2. **การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากธัญพืช**

2.1 **การหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ**

การหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากธัญพืช ทำด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay ตามวิธีการของ [14] ดังนี้ ทำการเตรียม FRAP Reagent โดยผสมสารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ (Acetate Buffer) pH 3.6 ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร กับสาร 2,4,6 tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้ FRAP Reagent จากนั้นปิเปต FRAP Reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติมสารสกัดธัญพืชที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) ส่วนแบลงค์ (Blank) จะใช้ FRAP Reagent ที่ไม่เติมตัวอย่าง และใช้สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.047 - 3.0 มิลลิโมลต่อลิตรเป็นสารละลายมาตรฐาน ทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารตัวอย่าง เขียนกราฟมาตรฐานของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล เพื่อใช้ในการคำนวณหาความเข้มข้นของ $Fe^{2+}$-TPTZ หรือความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing Capacity) ของสารตัวอย่าง รายงานผลในหน่วยมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด (mmol Fe(II)/g extract)

**2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทำตามวิธีการของ [15] ทำได้โดยปิเปตสารสกัดจากธัญพืชที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 3 มิลลิลิตร เติมสาร Folin Ciocalteu Reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาทีในที่มืด แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($Na_2CO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 15 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์ให้ได้ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 90 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสในที่มืด นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg Gallic Acid Equivalents (GAE)/g)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 10 - 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการข้างต้น ส่วนแบลงค์ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร จากนั้นเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง

**2.3 การศึกษาสมบัติการต้านเบาหวาน**

การศึกษาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของสารสกัดจากธัญพืช ทำการวิเคราะห์หากิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามวิธีการดังต่อไปนี้

2.3.1 การวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

การวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Alpha-Amylase Inhibition Assay) ทำตามวิธีการของ [16] ซึ่งดัดแปลงเล็กน้อย ทำได้โดยเตรียมสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (Starch Soluble, Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., India) ในน้ำกลั่น และนำมาให้ความร้อนเป็นเวลา 5 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วปิเปตสารละลายสตาร์ช 240 ไมโครลิตร ผสมกับตัวอย่างสารสกัดจากธัญพืช (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) หรือตัวควบคุมเชิงบวกอะคาร์โบส (Acarbose, Sigma, China) (เจือจางด้วยน้ำกลั่น) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 120 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

เติมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-Amylase from Porcine Pancreas, Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตรใน Tris-HCl Buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ (ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 6.9) ปริมาตร 240 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 3 นาที เติมสารสี 240 ไมโครลิตร (เตรียมโดยผสมโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรต ปริมาณ 12 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ปริมาตร 8 มิลลิลิตร และสาร 3,5-dinitrosalicylic acid ความเข้มข้น 96 มิลลิโมลาร์ (ชั่งสารนี้ 0.88 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 46 มิลลิลิตร โดยผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตรต่อปริมาตร [17]) นำสารผสมไปต้มเป็นเวลา 15 นาที แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารทำปฏิกิริยานี้มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงลบซึ่งใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 120 ไมโครลิตร แทนสารสกัดตัวอย่าง นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและตัวควบคุมเชิงลบมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-Amylase Inhibitory Activity) ดังสมการที่ (1)

$$\text{กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (ร้อยละ)} = (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}})/A_{\text{ควบคุม}} \times 100 \qquad (1)$$

เมื่อ

$A_{\text{ควบคุม}}$ = ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวควบคุม

$A_{\text{ตัวอย่าง}}$ = ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารตัวอย่าง

2.3.2 การวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ในการวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (Alpha-Glucosidase Inhibition Assay) ต้องทำการเตรียมสารละลายเอนไซม์ Rat-Intestinal Acetone Powder ตามวิธีการของ [16] ซึ่งทำได้โดยชั่ง Rat-Intestinal Acetone Powder (Sigma-Aldrich, USA) ปริมาณ 0.5 กรัม นำมาผสมกับสารละลายเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปทำการ Sonication 15 ครั้ง ครั้งละ 30 วินาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลซียส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000xg เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วนใสที่ได้มาใช้เป็นสารละลายเอนไซม์ที่จะใช้ในการวิเคราะห์ ขั้นตอนการวิเคราะห์หากิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสทำตามวิธีการของ [18] โดยนำตัวอย่างสารสกัดที่เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 หรือตัวควบคุมเชิงบวก อะคาร์โบส (Acarbose, Sigma, China) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำกลั่นปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายเอนไซม์ Rat-Intestinal Acetone Powder ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (Calbiochem, Switzerland) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ที่ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 6.9) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV Visible Spectrophotometer, Shimadzu,

UV-1601, Australia) ตัวควบคุมเชิงลบใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร แทนสารสกัดตัวอย่าง นำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างและตัวควบคุมเชิงลบมาคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส ดังสมการที่ (2)

$$\text{กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (ร้อยละ)} = (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}})/A_{\text{ควบคุม}} \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ

$A_{\text{ควบคุม}}$ = ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวควบคุม

$A_{\text{ตัวอย่าง}}$ = ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารตัวอย่าง

**2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ทำตามวิธีการของ [19] ซึ่งทำได้โดยการปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) [20] ที่ค่า pH 1.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการปรับ pH ให้ได้ pH 7.0 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอร์มอล ทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ใน Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 6 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาด้วยการนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังการย่อยด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-Sulfuric Method) รายงานปริมาณสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดดังนี้

ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) = ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) – ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดที่เวลาเริ่มต้น (ชั่วโมงที่ 0) ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic Acid (DNS Method) ที่ดัดแปลงจากวิธีการของ [21] ทำได้โดยปิเปตสารสกัดจากธัญพืชความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Sigma-Aldrich, India) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงทันทีเพื่อหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการ

ดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (D-Glucose Anhydrous, Carlo Erba Reagent, France) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

2.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก ตามวิธีการของ [22] ทำได้โดยปิเปตสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ย่อยด้วยกรดและเอนไซม์แล้ว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (Panreac Quimica, EU) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็น 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นผสมสารละลายให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้อีก 20 นาที ในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

**3. การผลิตเครื่องดื่มธัญพืชโพรไบโอติก**

**3.1 การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus acidophilus***

การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรีย ทำได้โดยเขี่ยเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1034 ปริมาณ 1 ลูป ลงในอาหารเหลว MRS (deMan Rogosa Sharpe broth, Difco Laboratories, USA) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย แยกตะกอนเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้ง ทำการล้างเซลล์ 2 ครั้งด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาทำให้อยู่ในรูปสารแขวนลอยเซลล์ ปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 8 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ $10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตร)

**3.2 การเตรียมเครื่องดื่มธัญพืชโพรไบโอติก**

ในการทดลองนี้คัดเลือกธัญพืชจำนวน 2 พันธุ์ทั้งชนิดที่ผ่านการทำให้งอกและไม่ผ่านการทำให้งอกที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง และมีกิจกรรมการต้านเบาหวานที่ดีเพื่อนำมาพัฒนาเป็นเครื่องดื่มธัญพืชโพรไบโอติก

ขั้นแรกทำการเตรียมเมล็ดธัญพืช ในการเตรียมเมล็ดธัญพืชที่ไม่ผ่านการงอกได้นำเมล็ดธัญพืชแต่ละชนิดมา 250 กรัม ล้างน้ำให้สะอาด แล้วแช่น้ำในอัตราส่วนวัตถุดิบต่อน้ำ 1:3 น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นเวลา16 - 18 ชั่วโมง จากนั้นแกะเปลือกออกและนำมาผึ่งไว้ ส่วนการเตรียมเมล็ดธัญพืชที่ผ่านการงอก ขั้นต้นทำตามวิธีการเช่นเดียวกัน หลังจากแช่น้ำแล้วนำมาวางบนผ้าขาวบางที่เปียกตลอดเวลา ทิ้งไว้ให้งอกที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดธัญพืชทั้งสองประเภทมาปั่นให้ละเอียดโดยผสมน้ำอุ่นเล็กน้อย กรองด้วยผ้าข้าวบาง นำน้ำสะอาดที่ต้มจนเดือดเทใส่ปริมาตร 2 ลิตร ผสมกับวัตถุดิบให้เข้ากันแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 - 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที คนตลอดเวลา หลังจากนั้นเติมเกลือ 1/4 ช้อนโต๊ะ ยกลงทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำมาบรรจุขวดปลอดเชื้อและเติมกล้าเชื้อ *L. acidophilus* ในอัตราส่วนเชื้อต่อน้ำนมข้าว 1:30 มิลลิลิตรโดยปริมาตร

นำมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 7 และ 14 วันของการเก็บรักษา เพื่อนำไปวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดด้วยเทคนิคสไปรอลเพลต (Spiral Plate Technique) ด้วยเครื่องจ่ายตัวอย่างลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอัตโนมัติ (Spiral Plater, Autoplate 4000, Spiral Biotech, USA) ลงบนอาหาร MRS agar และวัดค่า pH ของน้ำนมข้าวด้วยเครื่องวัดพีเอช (Benchtop pH meter, Starter 3000, Ohaus, USA) ส่วนการตรวจหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มธัญพืชโพรไบโอติกทำได้ด้วยวิธี FRAP และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคสิเดสเฉพาะในตัวอย่างที่เก็บรักษาครบ 14 วัน ดังนี้

ก) การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มธัญพืชโพรไบโอติก ทำตามวิธีการ เช่นเดียวกับข้อ 2.1 แต่ใช้ตัวอย่างเครื่องดื่มที่เจือจาง 1:10 เท่าด้วยสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ในการวิเคราะห์ รายงานผลในหน่วยมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mmol Fe(II)/100 ml beverage)

ข) การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเครื่องดื่มธัญพืชโพรไบโอติก ทำตามวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.2 แต่ใช้ตัวอย่างเครื่องดื่มที่เจือจาง 1:10 เท่าด้วยสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ในการวิเคราะห์ รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตรของเครื่องดื่ม (mg gallic acid equivalents (GAE)/ 100 ml beverage)

ค) การศึกษาสมบัติการต้านโรคเบาหวาน

การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านโรคเบาหวานของเครื่องดื่ม ทำโดยการวิเคราะห์หากิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 และ 2.3.2 แต่ใช้ตัวอย่างเครื่องดื่มธัญพืชที่เจือจาง 1:10 เท่า ด้วยสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 รายงานผลในหน่วยร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส

ง) การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติทำได้โดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และ Duncan's Multiple Range Test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีตเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leqslant 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 20.0

## ผลการทดลองและวิจารณ์

1. **สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากธัญพืช**

สารสกัดจากข้าวกล้องลืมผัวและข้าวไรซ์เบอรี่ที่ไม่ผ่านการทำให้งอกมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงหรือมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าสารสกัดชนิดอื่น (1.17 และ 0.66 มิลลิโมลเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) ในการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส ($Fe^{2+}$-TPTZ) ซึ่งมีสีน้ำเงินนั้นเกิดจากอะตอมของเหล็กในสาร $Fe^{3+}$-TPTZ ถูกรีดิวซ์

ให้ได้เป็น $Fe^{2+}$-TPTZ นั่นหมายความว่า ถ้าความสามารถในการรีดิวซ์ยิ่งสูง กิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดก็จะยิ่งมาก ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง 2 อันดับแรกคือ ข้าวกล้องลืมผัวและข้าวโพดข้าวเหนียวที่ไม่ผ่านการทำให้งอก (1,704.17 และ 1,010.42 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากธัญพืชที่ไม่ผ่านการทำให้งอกกับชนิดที่ผ่านการทำให้งอก พบว่า สารสกัดจากข้าวกล้องและข้าวโพดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกเกือบทุกชนิดที่ทดสอบมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอกโดยเฉพาะข้าวกล้องลืมผัว ข้าวไรซ์เบอรี่และข้าวโพดข้าวเหนียว (ตารางที่ 1)

ในการศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคสิเดสของสารสกัดจากธัญพืช ผลปรากฏว่าสารสกัดจากธัญพืชที่นำมาทดลองทั้งหมดนั้นมีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในช่วงร้อยละ 4.37 - 26.12 (ตารางที่ 1) ข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่และข้าวกล้องลืมผัวมีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (ร้อยละ 24.55 - 26.12) ซึ่งสูงกว่ากิจกรรมของสารสกัดจากธัญพืชชนิดอื่น โดยเฉพาะข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ไม่งอกมีกิจกรรมดังกล่าวสูงที่สุด คือ ร้อยละ 26.12 ขณะที่สารสกัดจากข้าวกล้องแดงที่ผ่านการทำให้งอกมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดสสูงที่สุด (ร้อยละ 12.82) รองลงมานั้นเป็นข้าวกล้องลืมผัว ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมและข้าวกล้องสินเหล็กที่ผ่านการทำให้งอก (ร้อยละ 11.88 11.54 และ 10.44 ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดธัญพืชที่ไม่ผ่านการทำให้งอกกับชนิดที่ผ่านการทำให้งอก พบว่าส่วนใหญ่สารสกัดธัญพืชชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกมีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสูงกว่าชนิดที่ผ่านการทำให้งอก ในทางกลับกันสารสกัดธัญพืชที่ผ่านการทำให้งอกส่วนใหญ่มีกิจกรรมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก (ตารางที่ 1)

ในการศึกษาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดในสารสกัดจากธัญพืชที่ไม่ถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ หลังจากการย่อยแล้วยังคงมีสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่เหลืออยู่ในปริมาณสูงแสดงว่าสารสกัดชนิดนั้นมีความสามารถทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูง และมีสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่ดี ในบรรดาสารสกัดจากธัญพืชทั้งหมดที่นำมาทดสอบพบว่า สารสกัดธัญพืชชนิดที่มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูง 2 อันดับแรกคือ ข้าวกล้องสินเหล็กที่ไม่ผ่านการทำให้งอกและข้าวกล้องลืมผัวที่ผ่านการทำให้งอก (มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย 538.06 และ 518.16 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากธัญพืชชนิดที่ผ่านการทำให้งอกกับชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอกพบว่า ส่วนใหญ่ธัญพืชชนิดที่ผ่านการทำให้งอกที่มีปริมาณสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดที่ไม่ถูกย่อยสูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการทำให้งอก (ตารางที่ 2)

ข้าวเหนียวพันธุ์ลืมผัว เป็นข้าวที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดเป็นสีแดงและสีม่วงเข้ม การที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงอาจเป็นเพราะอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิกปริมาณมากซึ่งจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ แอนโทไซยานินและ แกมมาโอไรซานอล (Gamma Oryzanol) และยังอุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 รวมถึงธาตุอาหารอื่น ๆ ซึ่งสารเหล่านี้จะช่วยป้องกันโรคสมองเสื่อม ลดไขมันในเส้นเลือด ลดการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง และป้องกันโรคเบาหวาน [23] มีรายงานการพบสารแอนโทไซยานินในข้าวดำ โดย [24] พบว่าข้าวเหนียวลืมผัวมีแอนโทไซยานิน 46.56 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม มีสารต้านอนุมูลอิสระโดยรวม 833.77 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อข้าว 100 กรัม และยังอุดมไปด้วยวิตามิน วิตามินอี (แอลฟา-โทโคเฟอรอล) 16.83 มิลลิกรัมต่อข้าว 1 กิโลกรัม มีแร่ธาตุต่าง ๆ

หลายชนิด เช่น ธาตุเหล็ก แคลเซียม สังกะสี แมงกานีส แมกนีเซียม รวมทั้งกรดไขมันโอเมก้า 3 โอเมก้า 6 และกรดไขมันโอเมก้า 9 ในปริมาณ 33.94 1,160.08 และ1,146.41 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม ตามลำดับ

สารสกัดข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง [25] ได้กล่าวว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่มีสารจับอนุมูลอิสระ เช่น ควิโนโลน (Quinolone) แอลคาลอยด์ วิตามินอี ไฟเตท แกมมาโอไรซานอล พอลิฟีนอลและแอนโทไซยานินในปริมาณที่สูง โดยพบว่าข้าวดำพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่มีเบต้า-แคโรทีน 63.3 ไมโครกรัม พอลิฟีนอล 752.1 มิลลิกรัม และแอนโทไซยานิน 250.36 มิลลิกรัมต่อข้าว 100 กรัม โดยพบสารเหล่านี้มากในส่วนของ pericarp และยังรายงานว่า รำข้าวเจ้าหอมนิลและรำข้าวไรซ์เบอร์รี่มีสารต้านอนุมูลอิสระปริมาณสูง ข้าวยิ่งมีสีม่วงเข้มมากขึ้นเท่าใดจะยิ่งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่สูงมากขึ้นเท่านั้น [3] ได้รายงานการตรวจพบสารแอนโทไซยานินชนิดหลักถึง 2 ชนิด ได้แก่ cyaniding-3-glucoside (ร้อยละ 10.3) และ peonidin-3-glucoside (ร้อยละ 6.2) ในสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วยเมทานอล

**ตารางที่ 1** กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านเบาหวานในสารสกัดจากธัญพืช

| สารสกัดจากธัญพืช | | Anti-oxidant activity FRAP assay (mmol Fe (II)/g extract)$^z$ ± SD | Diabetes inhibition α-amylase Inhibition (%)$^z$ ± SD | Diabetes inhibition α-glucosidase inhibition (%)$^z$ ± SD | Total Phenolic content (mgGAE/g extract)$^z$±SD |
|---|---|---|---|---|---|
| ข้าวกล้องลืมผัว | - งอก | 0.29±0.001$^e$ | 24.55±0.20$^c$ | 11.88±0.24$^{cd}$ | 516.67±3.61$^c$ |
| | - ไม่งอก | 1.17±0.005$^f$ | 26.02±0.20$^d$ | 3.03±0.27$^a$ | 1,704.17±3.61$^f$ |
| ข้าวกล้องไรซ์เบอรี่ | - งอก | 0.44±0.004$^f$ | 25.29±0.28$^c$ | 4.40±0.10$^a$ | 656.25±6.25$^b$ |
| | - ไม่งอก | 0.66±0.007$^e$ | 26.12±0.18$^d$ | 4.69±0.22$^a$ | 833.33±3.61$^c$ |
| ข้าวกล้องแดง | - งอก | 0.28±0.003$^d$ | 10.65±0.23$^b$ | 12.82±2.32$^c$ | 385.42±3.61$^b$ |
| | - ไม่งอก | 0.32±0.002$^c$ | 8.29±0.45$^a$ | 9.21±0.44$^d$ | 372.92±3.61$^b$ |
| ข้าวกล้องสินเหล็ก | - งอก | 0.20±0.005$^a$ | 19.39±0.19$^c$ | 10.44±0.17$^c$ | 343.75±0.00$^{ab}$ |
| | - ไม่งอก | 0.29±0.002$^b$ | 9.43±1.18$^b$ | 7.88±0.22$^d$ | 129.17±3.61$^a$ |
| ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม | - งอก | 0.19±0.002$^a$ | 4.37±1.16$^a$ | 11.54±0.22$^{cd}$ | 335.42±3.61$^a$ |
| | - ไม่งอก | 0.18±0.003$^a$ | 9.86±0.16$^b$ | 9.07±0.48$^d$ | 304.17±3.61$^b$ |
| ข้าวโพดข้าวเหนียว | - งอก | 0.25±0.002$^c$ | 11.24±0.37$^c$ | 8.50±0.41$^a$ | 837.50±0.00$^d$ |
| | - ไม่งอก | 0.46±0.002$^d$ | 11.29±0.42$^c$ | 4.41±0.23$^b$ | 1,010.42±3.61$^e$ |
| BHT | | 0.117±0.003$^g$ | - | - | - |
| Acarbose | | - | 54.78±0.24$^e$ | 54.89±0.29$^e$ | - |

$^z$ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถวที่อยู่ในคอลัมเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ในการทดลองนี้สารสกัดจากข้าวกล้องลืมผัวมีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคสิเดสได้ค่อนข้างดี ข้าวเหนียวลืมผัวเป็นข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีดำ ไวต่อช่วงแสง อายุสั้น เก็บเกี่ยวประมาณกลางเดือนตุลาคม ลักษณะทรงกอตั้ง ต้นแข็งไม่ล้มง่าย รวงค่อนข้างแน่น เมื่อระยะน้ำนม กลีบดอกเปลี่ยนสีเป็นแถบสีม่วงบนพื้นสีเขียวอ่อน ต่อมาเมื่อเข้าระยะแป้งแข็ง สีกลีบดอกจะเปลี่ยนเป็นสีฟางแถบม่วงดำ และเมื่อเข้าระยะสุกแก่ สีเปลือกเมล็ดเปลี่ยนเป็นสีฟางแถบดำหรือสีฟาง [26] สารสีม่วงแดงจนถึงสีดำที่พบในบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดของข้าวเหนียวดำหรือข้าวก่ำนั้นเป็นรงควัตถุที่เกิดจากการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ในต้นข้าว ซึ่งแบ่งออกได้เป็นแอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิน [27] นอกจากนี้ [28] ได้รายงานว่าสารแอนโทไซยานินจากสารสกัด purple rice มีผลช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นโรคเบาหวานได้ สารแอนโทไซยานินมีประโยชน์ต่อร่างกายเป็นอย่างมาก [29] ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารแอนโทไซยานิน 9 ชนิดในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจาก pancreatic β-cell ของหนู พบว่า delphinidin-3-glucoside และ cyanidin-3-galactoside เป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการกระตุ้นการหลั่งอินซูลินที่ระดับน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้น 4 และ 10 มิลลิโมลาร์ ดังนั้นการรับประทานข้าวเหนียวลืมผัวซึ่งมีสารแอนโทไซยานินสูงอาจช่วยต้านเบาหวานได้

**ตารางที่ 2** ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารสกัดจากข้าวและข้าวโพด

| ชนิดจากธัญพืช | | Reducing sugar (mg/g extract)$^{z}$ ± SD | Total sugar (mg/g extract)$^{z}$ ± SD | Indigestible polysaccharide (mg / g extract)$^{z}$ ± SD |
|---|---|---|---|---|
| ข้าวกล้องลืมผัว | - งอก | 270.41±7.23$^{e}$ | 788.57±2.30$^{f}$ | 518.16±6.24$^{e}$ |
| | - ไม่งอก | 299.52±5.72$^{d}$ | 715.84±1.83$^{e}$ | 416.32±5.51$^{d}$ |
| ข้าวกล้องไรซ์เบอรี่ | - งอก | 137.91±1.69$^{b}$ | 372.44±1.70$^{b}$ | 234.53±0.50$^{c}$ |
| | - ไม่งอก | 69.16±1.91$^{c}$ | 234.90±2.21$^{c}$ | 165.74±3.62$^{b}$ |
| ข้าวกล้องแดง | - งอก | 73.33±0.74$^{a}$ | 312.32±1.55$^{a}$ | 238.99±1.53$^{c}$ |
| | - ไม่งอก | 59.58±2.45$^{b}$ | 192.37±0.53$^{b}$ | 132.80±2.93$^{a}$ |
| ข้าวกล้องสินเหล็ก | - งอก | 230.17±3.64$^{c}$ | 437.83±1.44$^{c}$ | 207.66±4.73$^{b}$ |
| | - ไม่งอก | 45.53±2.44$^{a}$ | 583.58±4.02$^{d}$ | 538.06±5.63$^{e}$ |
| ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสม | - งอก | 328.21±2.53$^{f}$ | 697.65±4.83$^{e}$ | 369.45±2.34$^{d}$ |
| | - ไม่งอก | 381.07±0.38$^{g}$ | 553.08±1.61$^{c}$ | 172.02±1.36$^{b}$ |
| ข้าวโพดข้าวเหนียว | - งอก | 258.98±4.91$^{d}$ | 388.86±2.17$^{c}$ | 129.88±2.74$^{a}$ |
| | - ไม่งอก | 353.92±4.04$^{e}$ | 737.84±1.93$^{f}$ | 383.91±2.19$^{c}$ |

$^{z}$ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถวที่อยู่ในคอลัมเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สารสกัดจากข้าวกล้องสินเหล็กมีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-อะไมเลส และแอลฟา-กลูโคสิเดส ได้ค่อนข้างดีปานกลาง ข้าวสินเหล็กเป็นข้าวที่ผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิล (พันธุ์พ่อ) และข้าวขาวดอกมะลิ (พันธุ์แม่) มีธาตุเหล็กสูง (15 – 21 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ คือ ร้อยละ 58 นอกจากนี้ยังพบสารต้านอนุมูลอิสระชนิดที่สำคัญในปริมาณที่สูง ได้แก่ วิตามินอีปริมาณ 680 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมและแกมมา-โอไรซานอลปริมาณ 372 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม เป็นต้น ข้าวกล้องพันธุ์สินเหล็กเป็นข้าวที่มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำช่วยแก้ปัญหาโรคเบาหวานได้ ทำให้สภาวะการดื้อต่ออินซูลินลดลงและตับอ่อนมีประสิทธิภาพการทำงานที่ดีขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ค่าเฉลี่ยของไขมันไตรกลีเซอไรด์ลดลงอีกด้วย [30] ซึ่งในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวานนั้นสามารถทำได้โดยการควบคุมอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่จะทำให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ดังนั้นจึงควรรับประทานอาหารที่มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ และยังพบว่าข้าวกล้องมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำกว่าข้าวซ้อมมือและข้าวสวยซึ่งมีค่าเท่ากับ 55 64 และ 71 ตามลำดับ เนื่องจากในข้าวกล้องมีคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน การย่อยจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ทำให้สามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้ ส่วนข้าวขาวเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยว การย่อยจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงทำให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นกัน ส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลกับฮอร์โมนอินซูลิน ทำให้น้ำตาลเกิดการสะสมในเลือดมากขึ้น [31] ข้าวกล้องสินเหล็กมีใยอาหารที่อยู่ในรำข้าวสูงจึงช่วยชะลอการดูดซึมน้ำตาล ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นช้ากว่าการบริโภคข้าวชนิดอื่น ดังนั้นข้าวพันธุ์สินเหล็กจึงเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ส่งผลดีในระยะยาวสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานและผู้ที่ต้องการลดน้ำหนัก [30]

สารสกัดจากข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและเอนไซม์แอลฟา-กลูโคสิเดส ได้ดีเล็กน้อย [3] ได้กล่าวว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นข้าวดำสายพันธุ์ใหม่ของไทยที่ได้ถูกพัฒนาขึ้นมาเมื่อเร็ว ๆ นี้ โดยมีจุดประสงค์เพื่อให้ผู้บริโภคได้ประโยชน์ด้านโภชนาการที่เหมาะสม รวมทั้งเป็นอาหารเสริมสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคโลหิตจางและผู้ป่วยโรคเบาหวาน เพราะข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณธาตุเหล็กสูงและปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่ำ นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบสารสำคัญหลายชนิดในรำข้าว ได้แก่ เส้นใยอาหาร วิตามินอี วิตามินบีและสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด [32] โดย [33] ได้ศึกษาอาหารเสริมจากน้ำมันรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อสภาวะเครียดออกซิเดทีฟ (Oxidative Stress) ในหนูที่เป็นโรคเบาหวานและได้รับอาหารที่มีไขมันสูง สรุปได้ว่าสารอาหารจากน้ำมันรำข้าวไรซ์เบอร์รี่สามารถก่อให้เกิดผลดีต่อผู้ป่วยเบาหวานโดยการลดสภาวะเครียดออกซิเดทีฟและยังช่วยฟื้นฟูกลไกการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายให้ทำงานได้อย่างปกติ

ธัญพืชอุดมไปด้วยแหล่งของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน แร่ธาตุ เส้นใยอาหารและยังประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น การกระตุ้นการเจริญเติบโตของ Lactobacilli และ Bifidobacteria ในลำไส้ใหญ่ [34] โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่มีระดับการพอลิเมอไรซ์ (Degree of Polymerization) ตั้งแต่ 3 ถึง 10 พบได้ตามธรรมชาติในพืชที่ใช้เป็นอาหาร ซึ่งส่วนใหญ่พบในผัก ผลไม้ และธัญพืช เมื่อบริโภคโอลิโกแซ็กคาไรด์เข้าไปจะมีส่วนที่ไม่ถูกย่อย ซึ่งจะเป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น Bifidobacteria และ *Lactobacillus* [35] ในการรับประทานอาหารประเภทโพรไบโอติกให้ได้ประโยชน์ต่อสุขภาพ ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกนั้นควรมีจำนวนของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีชีวิตอย่างน้อย $10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรหรือต่อกรัมเมื่อถึงวันหมดอายุของผลิตภัณฑ์ตามที่มีคำแนะนำว่าปริมาณที่ให้ผลการรักษา (Therapeutic Dose) ต่ำสุด

ที่ควรได้รับต่อวันคือ $10^8$ - $10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร [36] และในการที่จำนวน *Lactobacillus acidophilus* ลดลงระหว่างการเก็บรักษานั้นอาจจะเกี่ยวข้องกับปริมาณออกซิเจน เนื่องจากการที่แบคทีเรียโพรไบโอติกเผชิญต่อสภาวะที่มีออกซิเจน เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้แบคทีเรียสูญเสียการรอดชีวิต [37] ออกซิเจนสามารถเข้าไปละลายในน้ำนมได้ง่าย ในการที่จะขจัดออกซิเจนออกจากน้ำนมโพรไบโอติกจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์พิเศษในการทำให้เกิดสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งออกซิเจนสามารถซึมผ่านภาชนะบรรจุเข้าสู่ผลิตภัณฑ์ได้ระหว่างการเก็บรักษา โดยออกซิเจนจะมีผลกระทบต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติก 3 ทาง คือ 1) เป็นพิษกับเซลล์โดยตรง ซึ่งแบคทีเรียโพรไบโอติกบางชนิดจะได้รับอันตรายได้ง่ายในสภาวะที่มีออกซิเจนจึงทำให้เซลล์ตาย 2) ในสภาวะที่มีออกซิเจนนั้นแบคทีเรียบางชนิดโดยเฉพาะ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จะสร้างเปอร์ออกไซด์ และ 3) อนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นจากสารประกอบนี้เป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติก [36] เคยมีรายงานถึงการเสริมฤทธิ์ของกรดกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการยับยั้งแบคทีเรียโพรไบโอติก นอกจากนี้ยังพบว่ามีอีกหลายปัจจัยที่จะส่งผลถึงการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก เช่น ส่วนผสมอาหาร ภาชนะที่ใช้บรรจุ และสภาวะในการเก็บรักษา เป็นต้น [37]

**2. สมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องดื่มจากธัญพืช**

จากผลการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากธัญพืชทั้งหมด ได้คัดเลือกข้าวลืมผัวและข้าวไรซ์เบอร์รี่มาผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติก เมื่อทำการเก็บรักษาจนครบ 14 วัน ผลปรากฏว่าเครื่องดื่มข้าวชนิดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด คือ เครื่องดื่มข้าวกล้องลืมผัวทั้งชนิดที่ผ่านและไม่ผ่านทำให้การงอก (ความสามารถในการรีดิวซ์ 0.20 และ 0.22 มิลลิโมลเฟอรัสต่อ 100 มิลลิลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 915.93 และ 812.22 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตร) ส่วนกิจกรรมการต้านเบาหวานของเครื่องดื่มข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการงอกมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคซิเดสสูงที่สุด (ร้อยละ 10.31 และ 36.14) (ตารางที่ 3)

**3. การศึกษาการอยู่รอดของ *Lactobacillus acidophilus* ในเครื่องดื่มข้าวโพรไบโอติก**

เครื่องดื่มข้าวโพรไบโอติกทุกชนิดที่เวลาเริ่มต้นของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าพีเอชใกล้เคียงกัน (pH 6.15 - 6.75) พบว่า หลังการเก็บรักษาครบ 7 วัน เครื่องดื่มข้าวส่วนใหญ่มีการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* น้อยกว่าร้อยละ 50 ยกเว้นเครื่องดื่มข้าวกล้องลืมผัวที่ผ่านการทำให้งอกมีการรอดชีวิตสูงกว่าร้อยละ 50 เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเครื่องดื่มข้าวกล้องทุกชนิดมีปริมาณการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* ลดลงสัมพันธ์กับค่าพีเอชที่ลดลง โดยที่เวลา 14 วันของการเก็บรักษาเครื่องดื่มข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการงอกมีค่าพีเอชลดลงต่ำสุดคือ 3.55 แต่มีปริมาณการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* อยู่ที่ร้อยละ 40.59 ซึ่งสูงกว่าเครื่องดื่มชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 4)

**ตารางที่ 3** กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านเบาหวานของเครื่องดื่มข้าวโพรไบโอติก

| ชนิดของเครื่องดื่มข้าว | | Antioxidant activity FRAP assay (mmol Fe (II)/ beverage)$^{z}$±SD | Diabetes inhibition α-amylase Inhibition (%)$^{z}$±SD | Diabetes inhibition α-glucosidase inhibition (%)$^{z}$±SD | Total Phenolic content (mgGAE/ 100 ml beverage)$^{z}$±SD |
|---|---|---|---|---|---|
| น้ำนมข้าวกล้องลืมผัว | - งอก | 0.20±0.004$^{a}$ | 2.05±0.10$^{a}$ | 29.69±0.07$^{a}$ | 915.93±3.21$^{a}$ |
| | - ไม่งอก | 0.22±0.001$^{b}$ | 2.36±0.11$^{b}$ | 24.95±0.10$^{b}$ | 812.22±5.56$^{b}$ |
| น้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอรี่ | - งอก | 0.03±0.001$^{a}$ | 10.31±0.19$^{a}$ | 36.14±0.04$^{a}$ | 452.96±3.21$^{a}$ |
| | - ไม่งอก | 0.14±0.002$^{b}$ | 3.60±0.20$^{b}$ | 26.07±0.16$^{b}$ | 652.96±3.21$^{b}$ |
| BHT | | 0.09±0.003$^{c}$ | - | - | - |
| Acarbose | | - | 71.92±0.24$^{c}$ | 57.59±0.12$^{c}$ | - |

$^{z}$ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถวที่อยู่ในคอลัมเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

**ตารางที่ 4** การอยู่รอดของ *Lactobacillus acidophilus* และค่าความเป็นกรดด่างของเครื่องดื่มข้าวโพรไบโอติก

| ชนิดของธัญพืช | | ระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (วัน) 0 | 7 | 14 |
|---|---|---|---|---|
| **การรอดชีวิต (ร้อยละ)** | | | | |
| ข้าวกล้องลืมผัว | - งอก | 100±0.00$^{a}$ | 52.03±7.52$^{a}$ | 38.70±12.51$^{a}$ |
| | - ไม่งอก | 100±0.00$^{a}$ | 38.77±15.73$^{ab}$ | 25.87±11.43$^{ab}$ |
| ข้าวกล้องไรซ์เบอรี่ | - งอก | 100±0.00$^{a}$ | 33.90±9.83$^{ab}$ | 28.11±2.92$^{ab}$ |
| | - ไม่งอก | 100±0.00$^{a}$ | 45.40±6.36$^{ab}$ | 40.59±6.71$^{a}$ |
| **ค่าพีเอช** | | | | |
| ข้าวกล้องลืมผัว | - งอก | 6.15±0.07$^{b}$ | 4.56±0.23$^{c}$ | 3.69±0.32$^{d}$ |
| | - ไม่งอก | 6.44±0.25$^{ab}$ | 4.60±0.42b$^{c}$ | 3.76±0.43$^{d}$ |
| ข้าวกล้องไรซ์เบอรี่ | - งอก | 675±0.14$^{ab}$ | 5.18±0.11$^{b}$ | 4.61±0.24$^{c}$ |
| | - ไม่งอก | 6.40±0.24$^{ab}$ | 4.21±0.12$^{c}$ | 3.55±0.27$^{d}$ |

$^{a}$ ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ
ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถวที่อยู่ในคอลัมเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดลองครั้งนี้ การที่ *L. acidophilus* รอดชีวิตในเครื่องดื่มข้าวระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อาจเป็นเพราะในเครื่องดื่มข้าวที่ผลิตมีปริมาณสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ที่ค่อนข้างสูง ซึ่งสารนี้อาจมีส่วนช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ [38] ที่ได้ศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกในสารสกัดจากข้าวมอลต์ ข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70 วัน พบว่าสารสกัดจากธัญพืชมีผลต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* โดยเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้อยู่รอดได้ในสารสกัดจากข้าวมอลต์ดีกว่าในสารสกัดจากข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลี นอกจากนี้มีรายงานว่า สารสกัดจากธัญพืชสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากมนุษย์ ให้มีจำนวนในช่วง 8 และ 10 log CFU ต่อมิลลิลิตร [39] การที่แบคทีเรียโพรไบโอติกมีจำนวนลดลงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส [37] ได้กล่าวว่ามีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการอยู่รอดของโพรไบโอติก เช่น ส่วนประกอบของอาหาร ชนิดของวัสดุบรรจุภัณฑ์ สภาพแวดล้อมในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (อุณหภูมิการเก็บรักษา ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณออกซิเจนและการสัมผัสกับแสง) สำหรับเครื่องดื่มข้าวในการทดลองนี้คาดว่าปริมาณออกซิเจนและค่าพีเอชของเครื่องดื่มน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้ *L. acidophilus* มีจำนวนลดลง อย่างไรก็ตาม เครื่องดื่มธัญพืชที่ผลิตขึ้น หากผู้บริโภคดื่มน่าจะให้ผลดีต่อสุขภาพเนื่องจากมีจำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติกสูงถึง $10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากการรายงานของ [40] แบคทีเรียโพรไบโอติกมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย เช่น ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดอันตราย กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยในการย่อยและดูดซึมสารอาหารและแร่ธาตุต่าง ๆ รวมทั้งมีการสังเคราะห์วิตามิน

## สรุปผล

สารสกัดจากข้าวกล้องลืมผัวที่ไม่ผ่านการงอกมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และกิจกรรมการต้านเบาหวานสูงโดยเฉพาะการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส รองลงมาเป็นข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการงอก สารสกัดจากธัญพืชที่ผ่านการงอกมีกิจกรรมการยับยั้งแอลฟา-กลูโคซิเดสสูงกว่าชนิดที่ไม่ผ่านการงอกโดยเฉพาะข้าวกล้องแดงมีกิจกรรมนี้สูงที่สุด นอกจากนี้พบว่าข้าวกล้องสินเหล็กที่ไม่ผ่านการงอกและข้าวกล้องลืมผัวที่ผ่านการงอกมีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยสูงมาก เครื่องดื่มข้าวที่มีจำนวน *L. acidophilus* รอดชีวิตปริมาณสูงสุดหลังจากการเก็บรักษา 14 วันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้แก่ เครื่องดื่มข้าวกล้องลืมผัวที่ผ่านการงอกโดยมีปริมาณสูงถึง $5.20 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ถึงแม้ว่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตจะลดลงบ้างในระหว่างการเก็บรักษาแต่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดนี้ยังคงก็มีปริมาณเพียงพอที่จะทำให้เกิดผลดีต่อสุขภาพ

## References

[1] Gunaratne, A., Wu, K., Li, D., Bentota, A., Corke, H., and Cai, Y. -Z. (2013). Antioxidant Activity and Nutritional Quality of Traditional Red-Grained Rice Varieties Containing Proanthocyanidins. **Food Chemistry**. Vol. 138, Issue 2-3, pp. 1153-1161. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.129

[2] Zhang, H., Shao, Y., Bao, J., and Beta, T. (2015). Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Breeding Lines between the White and Black Rice. **Food Chemistry**. Vol. 172, pp. 630-639. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.118

[3] Leardkamolkarn, V., Thongthep, W., Suttiarporn, P., Kongkachuichai, R., Wongpornchai, S., and Wanavijitr, A. (2011). Chemopreventive Properties of the Bran Extracted from a Newly-Developed Thai rice: The *riceberry*. **Food Chemistry**. Vol. 125, Issue 3, pp. 978-985. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.09.093

[4] Xu, Z. (2012). Important Antioxidant Phytochemicals in Agricultural Food Products. **Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals**. Z. Xu, and L. R. Howard, eds. pp. 1-24. Singapore: Markono Print Media Pte Ltd.

[5] Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., and Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization Journal**. Vol. 5, Issue 1, pp. 9-19. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182439613

[6] Keshari, A. K., Verma, A. K., Kumar, T., and Srivastava, R. (2015). Oxidative Stress: A Review. **The lnternational Journal of Science & Technoledge**. Vol 3, Issue 7, pp. 155-162

[7] Taylor, S. I. (1999). Deconstructing Type 2 Diabetes. **Cell**. Vol. 97, Issue 1, pp. 9-12. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80709-6

[8] Frayn, K. N. (2013). **Metabolic Regulation a Human Perspective**. (3rd ed.) New Delhi: Wiley-Blackwell

[9] Ademiluyi, A. O. and Oboh, G. (2013). Soybean Phenolic-Rich Extracts Inhibit Key Enzymes Linked to Type 2 Diabetes (α-Amylase and α-Glucosidase) and Hypertension (Angiotensin I Converting Enzyme) *in vitro*. **Experimental and Toxicologic Pathology**. Vol. 65, Issue 3, pp. 305-309. DOI: 10.1016/j.etp.2011.09.005

[10] Vernazza, C. V., Rabiu, B. A., and Gibson, G. R. (2006). Human Colonic Microbiology and the Role of Dietary Intervention: Introduction to Prebiotics: **Prebiotcs Development & Application**. G. R. Gibson and R. A. Rastall, eds. pp. 1-28. New Delhi: Thomson press.

[11] Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M. and Hassan, F. A. (2013). Prebiotics as Functional Food: A Review. **Journal of Functional Foods**. Vol. 5, Issue 4, pp. 1542-1553. DOI: 10.1016/j.jff.2013.08.009

[12] Ziemer, C. J. and Gibson, G. R. (1998). An Overview of Probiotics, Prebiotics and Synbiotics in the Functional Food Concept: Perspectives and Future Strategies. **International Dairy Journal**. Vol. 8, Issue 5-6, pp. 473-479. DOI: 10.1016/S0958-6946(98)00071-5

[13] Pradeep, P. M. and Sreerama, Y. N. (2015). Impact of Processing on the Phenolic Profiles of Small Millets: Evaluation of their Antioxidant and Enzyme Inhibitory Properties Associated with Hyperglycemia. **Food Chemistry**. Vol. 169, pp. 455-463. DOI: 10.1016/j. foodchem.2014.08.010

[14] Lado, C., Then, M., Varga, I., Szöke, É., and Szentmihályi, K. (2004). Antioxidant Property of Volatile Oils Determined by the Ferric Reducing Ability. **Zeitschrift für Naturforschung C**. Vol. 59, Issue 5-6, pp. 354-358. DOI: 10.1515/znc-2004-5-611

[15] Zhou, Z., Chen, X., Zhang, M., and Blanchard, C. (2014). Phenolics, Flavonoids, Proanthocyanidin and Antioxidant Activity of Brown Rice with different Pericarp Colors following Storage. **Journal of Stored Products Research**. Vol. 59, pp. 120-125. DOI: 10.1016/j.jspr.2014.06.009

[16] Sancheti, S., Sancheti, S., and Seo, S. -Y. (2013). Antidiabetic and Antiacetylcholinesterase Effects of Ethyl Acetate Fraction of *Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne Fruits in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**. Vol. 65, Issue 1-2, pp. 55-60. DOI: 10.1016/j.etp.2011.05.010

[17] Loizzo, M. R., Saab, A. M., Tundis, R., Menichini, F., Bonesi, M., Piccolo, V., Statti, G. A., Cindio, B. D., Houghton, P. J., and Menichini, F. (2008). *In vitro* Inhibitory Activities of Plants Used in Lebanon Traditional Medicine against Angiotensin Converting Enzyme (ACE) and Digestive Enzymes Related to Diabetes. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 119, Issue 1, pp. 109-116. DOI: 10.1016/j.jep. 2008.06.003

[18] Kim, G. N., Shin, J. G., and Jang, H. D. (2009). Antioxidant and Antidiabetic Activity of *Dangyuja* (*Citrus grandis* Osbeck) Extract Treated with *Aspergillus saitoi*. **Food Chemistry**. Vol. 117, Issue 1, pp. 35-41. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.03.072

[19] Wichienchot, S., Thammarutwasik, P., Jongjareonrak, A., Chansuwan, W., Hmadhlu, P., Hongpattarakere, T., Itharat, A., and Ooraikul, B. (2011). Extraction and Analysis of Prebiotics from Selected Plants from Southern Thailand. **Songklanakarin Journal of Science and Technology (SJST)**. Vol. 33, Issue 5, pp. 517-523

[20] Korakli, M., Gänzle, M. G., and Vogel, R. F. (2002). Metabolism by Bifidobacteria and Lactic Acid Bacteria of Polysaccharides from Wheat and Rye, and Exopolysaccharides Produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. **Journal of Applied Microbiology**. Vol. 92, Issue 5, pp. 958-965. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2002.01607.x

[21] Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**. Vol. 31, Issue 3, pp. 426-428. DOI: 10.1021/ac60147a030

[22] Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**. Vol. 28, Issue 3, pp. 350-356. DOI: 10.1021/ac60111a017

[23] Manojai, K. (2014). Leum Pua Rice: Crispy, Seasoned Ready-to-Eat Rice. **Technology Chaoban**. Vol. 570, Issue 1, pp. 112-113. (In Thai)

[24] Noenplab, A., Na Lumpang Noenplab, A., Watjanaphum, P., and Suksuem, P. (2010). Leum Pua, a Glutinous Rice Variety: Genetic Conservation for Nutritional Value. **Proceedings of the 4th Tropical Sub-Tropical Crops Research Symposium**. July 22-23, 2010, Bangkok, Thailand. (In Thai)

[25] Chunvijitra, W. (2014). Riceberry. **Kasetsart Extension Journal**. Vol. 59, Issue 3, pp. 25-35. (In Thai)

[26] Klaltoon, P. (2012). Leum Pua Rice: High Nutritional Value and Outstanding Rice of Khao Kho District, Phetchabun Province. **Kasetthammachart**. Vol. 15, Issue 8, pp. 42-46. (In Thai)

[27] Banterng, P. (2008). Black Glutinous Rice. **Technology Chaoban**. Vol. 20, Issue 423, pp. 71-72. (In Thai)

[28] Chen, Y. -F., Shibu, M. A., Fan, M. -J., Chen, M. -C., Viswanadha, V. P., Lin, Y. -L., Lai, C. -H., Lin, K. -H., Ho, T. -J., Kuo, W. -W., and Huang, C. -Y. (2016). Purple Rice Anthocyanin Extract Protects Cardiac Function in STZ-Induced Diabetes Rat Hearts by Inhibiting Cardiac Hypertrophy and Fibrosis. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. Vol. 31, pp. 98-105. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2015.12.020

[29] Jayaprakasam, B., Vareed, S. K., Olson, L. K., and Nair, M. G. (2005). Insulin Secretion by Bioactive Anthocyanins and Anthocyanidins Present in Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Vol. 53, Issue 1, pp. 28-31. DOI: 10.1021/jf049018+

[30] Hengsawad, D. (2014). Antidiabetic Rice: Food of Your Choice. **Food Journal**. Vol. 44, Issue 2, pp. 15-18. (In Thai)

[31] Tungtrakul, P. (2008). Germinated Brown Rice with high GABA. **Kasetthammachart**. Vol. 11, Issue 12, pp. 33-37. (In Thai)

[32] Sinchaisri, P. (2008). Rice Bran and Rice Germ for Health and Beauty. **Science Journal**. Vol. 62, Issue 3, pp. 37-39. (In Thai)

[33] Posuwan, J., Prangthip, P., Leardkamolkan, V., Yamborisut, U., Surasiang, R., Charoensiri, R., and Kongkachuichai, R. (2013). Long-Term Supplementation of High Pigmented Rice Bran Oil (*Oryza sativa* L.) on Amelioration of Oxidative Stress and Histological Changes in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Fed a High Fat Diet; Riceberry Bran Oil. **Food Chemistry**. Vol. 138, Issue 1, pp. 501-508. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.09.144

[34] Shori, A. B. (2016). Influence of Food Matrix on the Viability of Probiotic Bacteria: A Review based on Dairy and Non-Dairy Beverages. **Food Bioscience**. Vol. 13, pp. 1-8. DOI: 10.1016/j. fbio.2015.11.001

[35] Mudgil, D. and Barak, S. (2013). Composition, Properties and Health Benefits of Indigestible Carbohydrate Polymers as Dietary Fiber: A Review. **International Journal of Biological Macromolecules**. Vol. 61, pp. 1-6. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044

[36] Tamime, A. Y., Saarela, M., Søndergaard, A. K., Mistry, V. V., and Shah, N. P. (2005). Production and Maintenance of Viability of Probiotic Microorganisms in Dairy Product. **Probiotic Dairy Product**. A. Y. Tamime, ed., pp. 39-72. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

[37] Tripathi, M. K. and Giri, S. K. (2014). Probiotic Functional Foods: Survival of Probiotics During Processing and Storage. **Journal of Functional Foods**. Vol. 9, pp. 225-241. DOI: 10.1016/j. jff.2014.04.030

[38] Charalampopoulos, D. and Pandiella, S. S. (2010). Survival of Human Derived *Lactobacillus plantarum* in Fermented Cereal Extracts during Refrigerated Storage. **LWT - Food Science and Technology**. Vol. 43, Issue 3, pp. 431-435. DOI: 10.1016/j.lwt.2009.09.006

[39] Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., and Hristozova, T. (2006). Development of a New Oat-based Probiotic Drink. **International Journal of Food Microbiology**. Vol. 112, Issue 1, pp. 75-80. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.05.015

[40] Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B. (1995). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. **The Journal of Nutrition**. Vol. 125, Issue 6, pp. 1401-1412. DOI: 10.1093/jn/125.6.1401