บทคัดย่อ

211652

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นการศึกษาปริมาณสารสกัดสำคัญ ฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในไวน์กระชายดำที่เตรียมโดยใช้สภาวะต่างๆ 9 สภาวะ และใช้น้ำมะขามเป็นส่วนผสมพื้นฐาน ได้แก่ ไวน์มะขามสภาวะควบคุม (C0), สภาวะเติมชิ้นเนื้อกระชายดำไปพร้อมกับการหมัก(C1), สภาวะเติมชิ้นเปลือกกระชายดำไปพร้อมกับการหมัก(C2), สภาวะเติมชิ้นเนื้อกระชายดำไม่ปอกเปลือกไปพร้อมกับการหมัก(C3), สภาวะเติมน้ำสกัดจากชิ้นเนื้อกระชายดำไปพร้อมกับการหมัก(C4), สภาวะเติมน้ำสกัดจากชิ้นเปลือกกระชายดำไปพร้อมกับการหมัก(C5), สภาวะเติมน้ำสกัดจากชิ้นกระชายดำไม่ปอกเปลือกไปพร้อมกับการหมัก(C6), สภาวะเติมชิ้นเนื้อกระชายดำไปพร้อมกับการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เติมชิ้นเนื้อกระชายดำลงไปบ่มกับไวน์มะขาม) (C7) และ สภาวะเติมชิ้นเปลือกกระชายดำไปพร้อมกับการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (เติมชิ้นเปลือกกระชายดำลงไปบ่มกับไวน์มะขาม) (C8) การติดตามการเปลี่ยนแปลงระหว่าง การหมักพบว่าค่าของแข็งที่ละลายได้ลดลงจาก 22 องศาบริกซ์เป็น 7.4-9.6 องศาบริกซ์, ค่าความเป็นกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 5 กรัมต่อลิตรเป็น 6.57–7.35 กรัมต่อลิตร, ค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 2.95–3.06 และได้ปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ระหว่าง 9.27-10.93 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

จากการทดลองการศึกษาฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธีการ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าไวน์กระชายดำสามารถแสดงฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้ โดยพบว่าไวน์ทุกสภาวะให้ผลสอดคล้องกันทั้งการทดสอบทั้ง 2 วิธี คือ การหมักไวน์กระชายดำโดยใช้ชิ้นเนื้อที่ปอกเปลือกจะให้ค่าสารแอนติออกซิแดนท์สูงกว่าชิ้นเนื้อที่ไม่ปอกเปลือก และที่ใช้ชิ้นเปลือกจะให้ค่าต่ำที่สุด ซึ่งจะเป็นไปในทำนองเดียวกันทั้งในกรณีที่ใช้ชิ้นกระชายดำหมักไปพร้อมกับช่วงเวลาการหมักไวน์ กรณีใช้น้ำสกัดกระชายดำไปพร้อมกับการหมัก หรือกรณีเติมชิ้นเนื้อไประหว่างการบ่มไวน์ และเมื่อระยะเวลาในการบ่มเพิ่มขึ้น ปริมาณสารแอนติออกซิแดนท์ไม่เพิ่มขึ้น และผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ก็มีแนวโน้มไปทิศทางเดียวกับการศึกษาฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้ง 2 วิธี ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในไวน์กระชายดำ

การวิเคราะห์สารฟลาโวนอยด์ จากไวน์กระชายดำทุกสภาวะที่บ่มเป็นเวลา 4 เดือน ไม่พบสารสกัดสำคัญในไวน์มะขามที่ใช้เป็นสภาวะควบคุม (C0) ส่วนไวน์ทุกสภาวะพบสารสกัดในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 7 ชนิด โดยปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่มีมากที่สุดในไวน์กระชายดำทุกสภาวะ คือ สาร 3,5,7,3′,4′-pentamethoxyflavone ส่วนสารฟลาโวนอยด์ที่มีปริมาณน้อยที่สุด คือ 5-hydroxy-3,7,3′,4′-tetramethoxyflavone สภาวะที่มีปริมาณ

สารฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด คือ C8 เท่ากับ 24.41 มิลลิกรัมต่อไวน์ 100 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นสภาวะที่ใช้เปลือกกระชายดำบ่มในไวน์มะขาม และสภาวะที่มีปริมาณสารสกัดรวมต่ำที่สุด คือ C1 เท่ากับ 9.59 มิลลิกรัมต่อไวน์ 100 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นสภาวะที่เติมเนื้อกระชายดำปอกเปลือกพร้อมการหมัก จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารฟลาโวนอยด์จะมีในสภาวะใช้ชิ้นเปลือกในการหมักมากกว่าสภาวะที่ใช้ชิ้นเนื้อกระชายดำ แต่เมื่อพิจารณาผลระหว่างการศึกษาฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันกับการวิเคราะห์สารสกัดสำคัญ พบว่าในสภาวะที่ใช้เปลือกจะมีสารแอนติออกซิแดนท์น้อยกว่าสภาวะที่ใช้เนื้อ สรุปได้ว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พบในไวน์กระชายดำน่าจะเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากสารฟลาโวนอยด์ทั้ง 7 ชนิดนี้

จากการวัดการเรืองแสงของอนุมูลอิสระของออกซิเจนที่เกิดขึ้น (Reactive Oxygen Species production) ในไวน์กระชายดำ พบว่าสารแอนติออกซิแดนท์ที่มีอยู่ในไวน์สามารถช่วยลดการเกิดเฟอริกไอออนในเมทฮีโมโกลบินได้ เซลล์เม็ดเลือดแดงที่บ่มด้วยไวน์กระชายดำในทุกสภาวะสามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจนได้ โดยสภาวะที่สามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจนได้มากที่สุด คือ C1 โดยมีค่า DCF fluorescence intensity ต่ำที่สุดเท่ากับ 355.23 absorbance unit (a.u.)

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของไวน์กระชายดำ โดยใช้จุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร 10 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *S. aureus* TISTR 038, *S. aureus* TISTR 746, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *S. typhimurium* TISTR 292, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* TISTR 073, *E. coli* W 3310, *E. coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และเชื้อราอีก 1 ชนิด *Candida albicans* TISTR 5779 จากผลการทดลองพบว่าไวน์กระชายดำทุกสภาวะแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียยกเว้นเชื้อรา แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับสภาวะควบคุม (C0) พบว่าขนาดของโซนใสที่ได้ใกล้เคียงกับสภาวะอื่นๆ ซึ่งการยับยั้งแบคทีเรียอาจเกิดจากความเป็นกรดในไวน์มากกว่า และปริมาณสารสกัดในไวน์กระชายดำอาจมีปริมาณน้อย จึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มได้จากสภาวะควบคุม

ผลการศึกษาสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการผลิตไวน์กระชายดำในระดับอุตสาหกรรม และได้ผลการทดสอบคุณภาพของไวน์สมุนไพรกระชายดำที่ช่วยเพิ่มความมั่นใจต่อผู้บริโภคไวน์สมุนไพรกระชายดำด้านสุขภาพอีกทางหนึ่งด้วย นอกจากนั้นข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ประกอบการ ในการนำไปใช้ประกอบการวางแผนการขาย เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของผลิตภัณฑ์

ABSTRACT

211652

This research was studied on concentration of important compounds, antioxidant activity and antibacterial activity from *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker in Krachai-Dum wine. Krachai-Dum wine fermentation was conducted with 9 different conditions (C0-C8) using tamarind juice as a base composition. First condition (C0) is control wine prepared by using tamarind juice without Krachai-Dum. The next tree conditions (C1-C3) were prepared by adding peeled, skin and unpeeled Krachai-Dum, respectively in tamarind juice before fermentation started. C4-C6 were prepared by using hot water extracts of peeled , skin and unpeeled Krachai-Dum, respectively to mix with tamarind juice before fermentation started. C7-C8 were prepared in the same way as C0 but peeled and skin Krachai-Dum were added in aging process (4°C) after fermentation process was finished. All fermentation conditions were adjusted to have 5 g/l total acidity and 22°Brix of total soluble solid. Throughout the fermentations, changes in total soluble solid, reducing sugar, total sugar, total acidity, pH, alcohol contents and yeast cells were monitored. The results after fermentation showed that total soluble solid, total sugar, total acidity, pH and ethanol concentration were ranging from 7.4-9.6 °Brix, 12.44-34.80 g/l, 6.57–7.35 g/l , 2.95–3.06 and 9.27-10.93% (v/v), respectively.

Antioxidant activity of wine samples by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay and Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay showed similar results that the activity are higher in Krachai-Dum wine prepared by fermented peeled or unpeeled Krachai-Dum with tamarind juice than those prepared using Krachai-Dum extracts. Phenolic contents and antioxidant activity in all conditions under study were in the same direction. Results indicated that antioxidant activity was correlated with total phenolic content. C1 with the highest content of phenolic compounds showed the highest antioxidant activity, while C2 had the lowest content with lowest antioxidant activity. The results suggested that the phenolic compounds may play an important role in the antioxidant effect in Krachai-Dum wine.

Flavonoid contents of wine sample aging for 4 months were analyzed by HPLC. Seven flavonoids were detected in all conditions of Krachai-Dum wine except in the control as follows: 5-hydroxy-7-methoxyflavone, 5-hydroxy-3,7,3′,4′-tetramethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7,4′-trimethoxyflavone, 5,7,4′-trimethoxyflavone, 5-hydroxy-3,7-dimethoxyflavone, 3,5,7,3′,4′-pentamethoxyflavone and 5,7-dimethoxy flavone. Among these, 3,5,7,3′,4′-pentamethoxyflavone is the major component found in all samples and 5-hydroxy-3,7,3′,4′-tetramethoxyflavone was detected in lowest amount. The total flavonoid contents in these

samples ranged from 9.59 to 24.41 mg/100ml wine. The conditions that used Krachai-Dum skin showed higher flavonoid contents than those used peeled or unpeeled pieces. The highest total flavonoid contents (24.41 mg/100ml wine) was found in Krachai-Dum wine prepared by adding Krachai-Dum skin to tamarind wine in aging process (C8) for 4 months. In contrast to total phenolic content, the flavonoid contents in these wine samples do not correlate with antioxidant activity which may be due to the low amount of flavonoids in Krachai-Dum wines and other types of phenolic compounds are responsible for major antioxidation activity.

Reactive oxygen species production in Krachai-Dum wines were examined. The protective effect of wine against hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced oxidation was investigated in normal human erythrocytes (RBCs). RBCs, preincubated with amounts of wine and challenged with H_2O_2, were analyzed for reactive oxygen species (ROS). The results showed that antioxidant in wine can protected against oxidation by reduced reactive oxygen species on RBCs. C1 showed the lowest reactive oxygen species. DCF fluorescence intencity was 355.23 absorbance unit (a.u.). The highest of DCF fluorescence intensity (407.65 a.u.) was found in C6.

Antibacterial activity of food born pathogen bacteria and fungi were examined by agar-diffusion assay. The microorganism strains used in this study were *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *S. aureus* TISTR 038, *S. aureus* TISTR 746, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *S. typhimurium* TISTR 292, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* TISTR 073, *E. coli* W 3310, *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 and *Candida albicans* TISTR 5779. The results showed that all wine samples showed no growth inhibition on all tested bacteria but not fungi. Considering the inhibition zone diameter of wine samples, it was found that the clear zone of control (C0; tamarind wine) was very similar to those of other wine samples which could be implied that the antibacterial activities derived from the acidity in tamarind using as base composition. Moreover, the bioactive compounds in Krachai-Dum wines might present in very low concentration and was not enough to show the increasing of inhibition zone in high background of acidity of tamarind effect.

The results from this study could pave the way to produce Krachai-Dum wine in industrial level. These scientific data would encourage the consumer for the health promoting aspect and also be beneficial for market planning of wine making companies.