

Thesis Title	Factors Affecting Antioxidant Capacity and Polyphenol Content of Lactic Acid Beverages Fermented with <i>Lactobacillus</i> spp. and <i>Phyllanthus emblica</i> Linn.
Author	Mr. Sartjin Peerajan
Degree	Master of Science (Pharmaceutical Sciences)
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Chaiyavat Chaiyasut Chairperson Prof. Dr. Maitree Suttajit Member

ABSTRACT

Lactic acid beverages fermented with *Lactobacillus* spp. and *Phyllanthus emblica* Linn. uses lactic acid bacteria as a starter. Nowadays, these products are widespread used as a healthy drink without any scientific support. The aim of this study is, therefore, to study the factors affecting antioxidant capacity and polyphenol content of such lactic acid fermented beverages (LAFB).

Seven most popular production processes and four control blanks were selected for this study. The treatments are different in the component (sugar or honey), the production process (solid state, submerge), the reduction of microorganisms in raw materials (potassium metabisulfite (KMS), pasteurization), and the starter (with and without *Lactobacillus casei* spp.). The samples were taken on different fermentation period. For ABTS and FRAP assay, result showed that the antioxidative capacity increased and reached the peak on the 15th day of fermentation and then decreased on the 20th day of fermentation. The antioxidative capacity increased again at 120th day of fermentation period and maintained at higher level than the non-fermentation. Total polyphenol amount had a high correlation with

antioxidative capacity using ABTS and FRAP assay ($R^2=0.9872, 0.9346$). Treatment using potassium metabisulfite (KMS) as a bactericidal, has the higher antioxidant capacity than treatment that did not use bactericidal and than treatment, which use heat as a bactericidal control process of raw material. The treatments, which comprised *L. casei* starter, have the higher antioxidant capacity (ABTS and FRAP assay) than the treatments without using *L. casei* starter.

Antioxidative capacities of 11 various honeys and sugars were studied. Raw cane-sugar showed strong antioxidative effects. It had significantly highest antioxidant capacity evaluated by ABTS assay and FRAP assay. For the chelating effect on ferrous assay, it was found that the chelating power of honey is higher than sugar. Organic acid in honey may play a vital role in chelating effect. However, all honeys in this study had higher antioxidant capacity than refined sugar. The same tendency of antioxidative capacity in LAFB using honey or raw cane-sugar as a component was also observed.

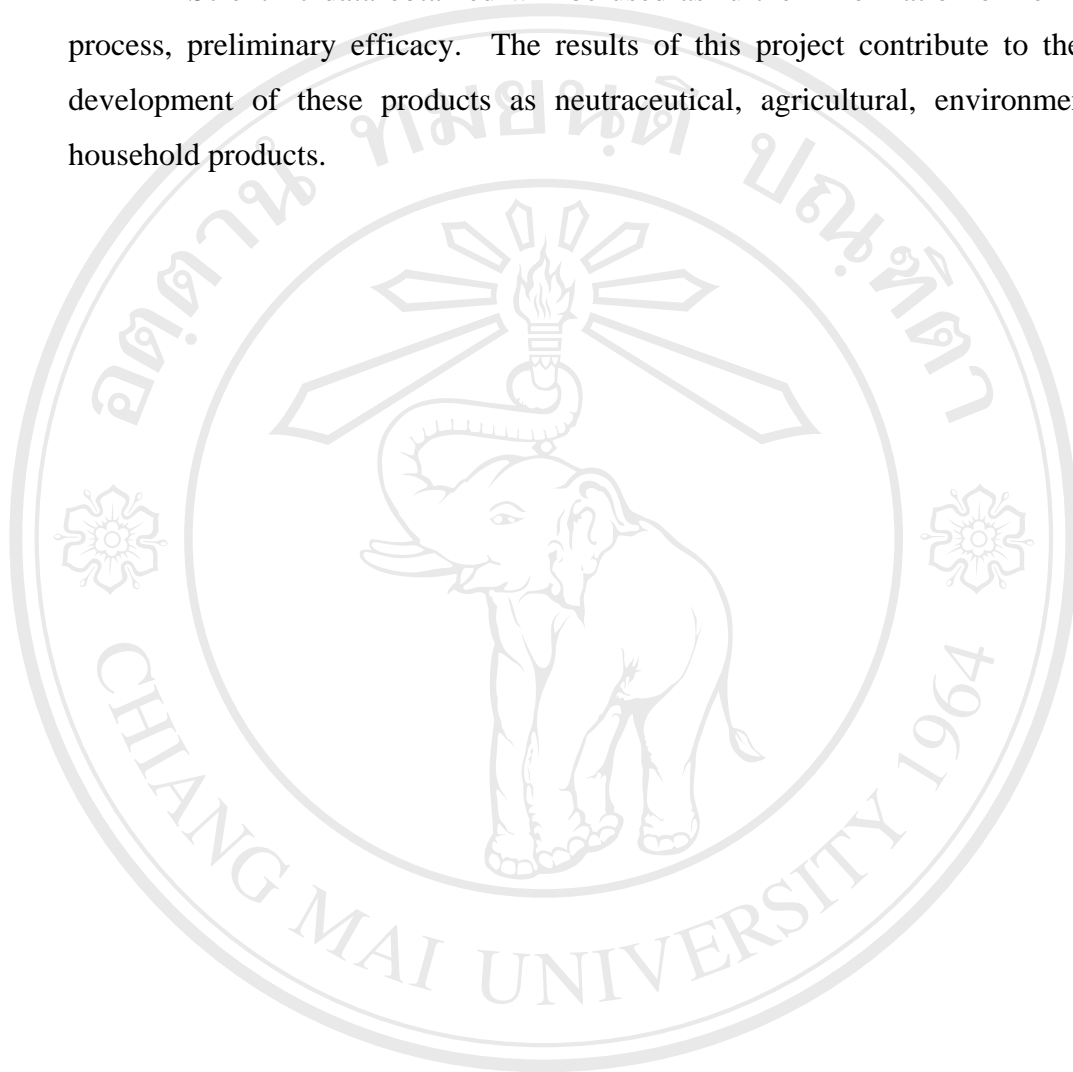
Total peroxidase and β -glucosidase enzyme could not be detected in this experiment. Hydrophilic antioxidant fraction, lipophilic antioxidant fraction, free phenolic fraction and bound phenolic fraction were isolated from LAFB. Hydrophilic antioxidant capacity and free phenolic antioxidant capacity represented the major contribution for antioxidative property of LAFB.

Factors effecting the antioxidative capacity of LAFB are summarized as following:

1. Physical factor : Solubility of antioxidant compounds and fermentation time.
2. Chemical factor : Stability of antioxidant compounds such as vitamin C.
3. Biological factor : Peroxidase and β -glucosidase and organic acids derived from fermentation process.

The most recommended LAFB production process was treatment 6, which was fermentation of crushed *P. emblica*, water and raw cane-sugar using *L. casei* starter. Potassium metabisulfite (KMS) as a bactericidal was used before inoculation with *L. casei*. However, more data are necessary for the decision for consumption.

Scientific data obtained will be used as further information on fermentation process, preliminary efficacy. The results of this project contribute to the further development of these products as nutraceutical, agricultural, environmental and household products.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถเป็นสารต้านออกซิเดชัน และปริมาณโพลีฟีนอลของเครื่องดื่มกรดแลกติกที่หมักด้วยแลคโตบาซิลลัสและมะขามป้อม

ผู้เขียน

นายสารทจิน ภิระจันทร

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. ไชยวัฒน์ ไชยสุต
ศ.ดร. ไมตรี สุทธิจิตต์ประธานกรรมการ
กรรมการ

บทคัดย่อ

เครื่องดื่มกรดแลกติกที่หมักด้วยแลคโตบาซิลลัสและมะขามป้อม ได้จากการหมักผลมะขามป้อมด้วยจุลินทรีย์ *แลคโตบาซิลลัส* ปัจจุบันมีผู้นิยมใช้เป็นเครื่องดื่มสุขภาพกันมาก แต่ยังไม่มีการศึกษาในด้านคุณภาพ ดังนั้นผู้วิจัยจึงศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถเป็นสารต้านออกซิเดชันและปริมาณโพลีฟีนอลของเครื่องดื่มดังกล่าว

จากการจำลองการผลิตน้ำหมักชีวภาพตามสูตรที่คัดเลือกไว้ 7 สูตรการผลิต รวมทั้งกลุ่มควบคุม 4 กลุ่ม ประกอบไปด้วยสูตรการผลิตที่ใส่เชื้อเริ่มต้นกับไม่ใส่เชื้อเริ่มต้น สูตรที่ใช้น้ำตาลอ้อยหรือน้ำผึ้งเป็นสารเริ่มต้นช่วยการหมัก สูตรที่ลดปริมาณเชื้อในวัตถุดิบด้วย Potassium metabisulfite (KMS) สูตรที่ลดปริมาณเชื้อในวัตถุดิบด้วยความร้อน หรือสูตรที่ไม่ได้ลดปริมาณเชื้อในวัตถุดิบเริ่มต้น ทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมัก ณ เวลาต่างๆ พบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการประเมินด้วยวิธี ABTS และ FRAP ของผลิตภัณฑ์ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจากวันแรกของการหมัก และมีค่าสูงสุดในวันที่ 15 ของการหมัก แล้วมีฤทธิ์ลดลงในวันที่ 20 ของการหมัก มีฤทธิ์เพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 120 ของการหมัก น้ำหมักที่ผ่านกระบวนการหมักมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่าน้ำหมักที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก จากการศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลโดยรวมให้ผลการศึกษาไปในทางเดียวกันกับวิธี ABTS และ FRAP ด้วยค่าสหสัมพันธ์ที่สูง ($R^2=0.9872, 9346$) น้ำหมักที่ใช้น้ำตาลอ้อยในสูตร

ผลิตมีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันและโพลีฟีนอลที่สูงกว่าสูตรการผลิตที่ใช้น้ำผึ้ง แต่สูตรการผลิตที่ใช้น้ำผึ้งจะมีฤทธิ์ในการเข้าไปจับกับโลหะเฟอร์รัสได้สูงกว่า ส่วนกระบวนการผลิตที่ใช้ KMS ในการลดเชื่อมเป็นนก่อนกระบวนการหมักให้ฤทธิ์ด้านออกซิเดชันสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ใช้ความร้อนในการลดเชื่อมเป็นน หรือสูตรที่ไม่ได้ลดปริมาณเชื่อมเป็นนเริ่มต้น ส่วนกระบวนการผลิตที่เติมเชื้อ *แลคโตบาซิลลัส เคซิอี* เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นมีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS และ FRAP สูงกว่าสูตรการผลิตที่ไม่ได้เติมหัวเชื้อเริ่มต้น องค์ประกอบที่แตกต่างกันของน้ำหมักแต่ละสูตรได้น้ำผึ้งและน้ำตาล ส่งผลต่อฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ จากการศึกษา น้ำผึ้งและน้ำตาลจำนวน 11 ชนิดที่อาจใช้ผลิตน้ำหมัก พบว่าน้ำตาลอ้อยมีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS และ FRAP สูงสุด ขณะที่น้ำผึ้งมีฤทธิ์จับกับเฟอร์รัสได้สูงกว่า คาดว่าจากกรดอินทรีย์องค์ประกอบในน้ำผึ้ง นอกจากนี้ฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของน้ำผึ้งประเมินทั้ง 3 วิธีมีค่าสูงกว่าน้ำตาลทรายขาว ฤทธิ์ดังกล่าวเป็นไปได้ในทำนองเดียวกันในน้ำหมักที่ใช้น้ำตาลอ้อยหรือน้ำผึ้งเป็นองค์ประกอบ

จากการศึกษาเอนไซม์ ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase และ β -Glucosidase ในน้ำหมัก เมื่อทำการแยกน้ำหมักเป็นส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic part) ส่วนที่ชอบน้ำมัน (Lipophilic part) ส่วนที่เป็นสารโพลีฟีนอลอิสระ (Free phenolic fraction) และส่วนที่เป็นสารโพลีฟีนอลยึดเหนี่ยว (Bound phenolic fraction) พบว่าคุณสมบัติด้านออกซิเดชันของน้ำหมักส่วนใหญ่มาจากส่วนที่ชอบน้ำ และส่วนที่เป็นสารโพลีฟีนอล

ปัจจัยที่มีผลต่อฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของน้ำหมักชีวภาพ โดยสรุปได้แก่

1. ปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่การละลายของสารด้านออกซิเดชัน ระยะเวลาในการหมัก
2. ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ความคงตัวของสารด้านออกซิเดชัน
3. ปัจจัยทางชีวภาพ ได้แก่ เอนไซม์ กรดที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก

สูตรการผลิตที่ 6 คือการใช้น้ำตาล และผ่านการลดเชื่อมเป็นนในวัตถุดิบด้วย KMS และใช้เชื้อ *แลคโตบาซิลลัส เคซิอี* เป็นหัวเชื้อตั้งต้น เป็นสูตรที่แนะนำให้ผลิตเพื่อให้ได้ฤทธิ์ด้านออกซิเดชันสูงสุด แต่ทั้งนี้ถ้าต้องการผลิตเพื่อการบริโภคยังต้องมีข้อมูลอื่นประกอบ อาทิเช่น ปริมาณเชื่อมเป็นน ปริมาณเมธานอล เป็นต้น

ข้อมูลที่ได้เป็นพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำหมักชีวภาพให้มีคุณภาพ มาตรฐานสำหรับการบริโภค รวมไปถึงการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำหมักชีวภาพให้มีฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน เพื่อใช้ในการบริโภคและการใช้ภายนอก