รายงานการวิจัย

การดัดแปลงใยอาหารจากกากมันสำปะหลังเพื่อลดการดูดซึมโลหะหนัก โดยการประเมินการยับยั้งชีวภาพพร้อมใช้และการดูดซึมโลหะหนักในลำไส้ ด้วยวิธี *In vitro* Digestion/Caco-2 Model

Modification of Dietary Fiber from Cassava pulp for Reduction of Heavy Metal by Assessment of Their Heavy Metal Bioaccessibility Inhibition and Intestinal Uptake Using An *in vitro* Digestion/Caco-2 cell

นัฏฐา คเชนทร์ภักดี Natta Kachenpukdee

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับทุนสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณเงินแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2561

รายงานการวิจัย

การดัดแปลงใยอาหารจากกากมันสำปะหลังเพื่อลดการดูดซึมโลหะหนัก โดยการประเมินการยับยั้งชีวภาพพร้อมใช้และการดูดซึมโลหะหนักในลำไส้ ด้วยวิธี *In vitro* Digestion/Caco-2 Model

Modification of Dietary Fiber from Cassava pulp for Reduction of Heavy Metal by Assessment of Their Heavy Metal Bioaccessibility Inhibition and Intestinal Uptake Using An *in vitro* Digestion/Caco-2 cell

นัฏฐา คเชนทร์ภักดี Natta Kachenpukdee

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับทุนสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณเงินแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2561

การดัดแปลงใยอาหารจากกากมันสำปะหลังเพื่อลดการดูดซึมโลหะหนัก โดยการประเมินการยับยั้งชีวภาพพร้อมใช้และการดูดซึมโลหะหนักในลำไส้ ด้วยวิธี *In vitro* Digestion/Caco-2 Model

นัฏฐา คเชนทร์ภักดี[1]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการดัดแปลงใยอาหารจากกากมันสำปะหลังและผลต่อการยับยั้งชีวภาพพร้อมใช้ในโลหะหนัก การเตรียม MDF (ใยอาหารดัดแปลง) จากกากมันสำปะหลังเริ่มจากการแยกแป้งและโปรตีนด้วยเอนไซม์เพื่อเตรียมใยอาหารหยาบ (CDF) ด้วยแอลฟาอะมัยเลส 1% (w / v) อะมัยโลกลูโคซิเดส 0.1% (v / v) และ นิวเทรส 1% (v / v) จากนั้นดัดแปลง CDF ด้วย 4 วิธี ได้แก่ วิธีเอสเทอริฟิเคชั่น ฮาโลจีเนชั่น ออกซิเดชันและอีเทอริฟิเคชั่น ผลการทดลองพบว่าการดัดแปลง CDF สามารถปรับปรุงคุณสมบัติในการจับกับโลหะหนักได้ โดย MDF มีปริมาณ neutral detergent fiber (NDF) acid detergent fiber (ADF) acid detergent lignin (ADL) เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส โปรตีน ไขมัน ความชื้นและแป้งมากกว่าใน CDF นอกจากนี้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของ MDF มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการจับกับน้ำมัน ความสามารถในการละลายน้ำ ค่าการพองตัว และกลุ่มคาบอกซิลมากกว่า CDF

นอกจากนั้นศึกษาผลของ MDF จาก 4 วิธี ต่อชีวภาพพร้อมใช้ของโลหะหนัก 4 ชนิด ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม คอปเปอร์ และสังกะสี ด้วยแบบจำลองการย่อยอาหาร พบว่า MDF จากทุกวิธีสามารถลดชีวภาพพร้อมใช้ของตะกั่วได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้ MDF ปริมาณ 0-1000 mg ($p < 0.05$) โดยลดลง 25-80% ที่ 1000 mg ให้ผลดีที่สุด และ MDF จากวิธีอีเทอริฟิเคชั่นสามารถยับยั้งได้ดีกว่าวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทุกระดับของใยอาหารที่ใช้ จึงสรุปได้ว่า MDF ที่ได้จากการดัดแปลงด้วยวิธีอีเทอริฟิเคชั่นสามารถลดชีวภาพพร้อมใช้ของตะกั่ว และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารได้

คำสำคัญ: กากมันสำปะหลัง ใยอาหาร การดัดแปลงใยอาหาร ชีวภาพพร้อมใช้โลหะหนัก

[1] อาจารย์สาขาวิชาอุตสาหกรรมอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Modification of Dietary Fiber from Cassava pulp for Reduction of Heavy Metal by Assessment of Their Heavy Metal Bioaccessibility Inhibition and Intestinal Uptake Using An *in vitro* Digestion/Caco-2 cell

Natta kachenpukdee[1]

Abstract

The objectives of this study were to determine the optimal method to modify dietary fiber from cassava pulp and their effects on heavy metals bioaccessibility inhibition. The preparation MDF (modified dietary fiber) from cassava pulp was start by separation starch and protein from fiber by enzyme application to prepare crude dietary fiber (CDF) that could be gotten from enzymatic digestion condition of 0.1% of **α**-amylase (w/v), 0.1% of amyloglucosidase (v/v) and 1% of neutrase (v/v) and modified them with 4 methods such as esterification method, halogenation method, oxidation method and etherification method. The results showed that modification of CDF could be developed with improving properties for binding with heavy metal by the chemical composition of MDF shows more neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (ADL), cellulose, hemicelluloses protein, moisture, fat and starch than is contained in CDF. Furthermore, the functional properties of MDF show a greater water holding capacity, oil binding capacity, water solubility index, swelling capacity and COOH content than CDF.

In addition, to study the MDF (4 methods) affecting the 4 heavy metal such as lead cadmium copper and zinc, bioaccessibility was estimated by using *in vitro* digestion model. The result showed that MDF from all methods showed significantly reduced lead bioaccessibility in a dose dependent manner from 0-1000 mg of MDF ($p<0.05$). Lead bioaccessibility was decreased by 25-80%. MDF 1000 mg showed the strongest effect on heavy metal bioacessibility. A method comparison suggests that MDF from etherification method showed significantly more inhibition than other methods ($p<0.05$) for all the amounts used. In conclusion, this study suggests that MDF with etherification method could decrease lead bioaccessibility and could be applied in functional food and dietary supplement products.

Keyword: cassava pulp, dietary fiber, modification of fiber, bioaccessibility, heavy metal

---

[1] Department of Food Industry and Fishery product, Faculty of Science and fisheries Technology. Rajamamgala University of Technology Srivijaya, Sikao, Trang

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2561 เป็นงานวิจัยพื้นฐานเพื่อก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ในการประเมินความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ต่อไปในอนาคต ตลอดจนผลการวิจัยสามารถใช้เป็นแนวทางส่งเสริมให้มีการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อป้องกันการสะสมโลหะหนักในร่างกายโดยสามารถใช้ได้ในระยะยาว โดยไม่มีผลข้างเคียงที่ก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้ใช้

ขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่ได้ให้การสนับทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกด้วยดีตลอดมา ขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยในการวิจัยครั้งนี้ลุล่วงได้ด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและเพื่อนที่เป็นกำลังใจให้เสมอมา ประโยชน์อันดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงาน ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

นัฏฐา คเชนทร์ภักดี

สิงหาคม 2562

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
บทนำ	1
ตรวจเอกสาร	5
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ	10
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	15
สรุปผลการทดลอง	34
ข้อเสนอแนะ	35
เอกสารอ้างอิง	36
ภาพผนวก	41
ภาพผนวก ก	42

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1	คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของใยอาหาร (crude dietary fiber) จากกากมันสำปะหลัง	15
2	คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของใยอาหารดัดแปลง (modified dietary fiber) ที่ได้จากวิธีต่างๆ	16
3	คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของใยอาหาร (crude dietary fiber) จากกากมันสำปะหลัง	20
4	คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของใยอาหารดัดแปลง (modified dietary fiber) ที่ได้จากวิธีต่างๆ	21
5	ผลของชีวภาพพร้อมใช้ bioaccessibility ของตะกั่ว (lead, Pb) ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 2.1 ppb โดยใช้ใยอาหารที่ระดับ 0-1000 mg. (Control)	22
6	ผลของชีวภาพพร้อมใช้ bioaccessibility ของตะกั่ว (lead, Pb) ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 2.1 ppb โดยใช้ใยอาหารดัดแปลงด้วยวิธีต่างกัน 4 วิธี ที่ระดับ 0-1000 mg.	23
7	ผลของชีวภาพพร้อมใช้ bioaccessibility ของแคดเมี่ยม (Cadmium, Cd) ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 2.1 ppb โดยใช้ใยอาหารที่ระดับ 0-1000 mg. (Control)	24
8	ผลของชีวภาพพร้อมใช้ bioaccessibility ของแคดเมี่ยม (Cadmium, Cd) ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 0.03 ppb โดยใช้ใยอาหารดัดแปลงด้วยวิธีต่างกัน 4 วิธี ที่ระดับ 0-1000 mg.	25
9	ผลของชีวภาพพร้อมใช้ bioaccessibility ของคอปเปอร์ (Copper, Cu) ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 0.09 ppb โดยใช้ใยอาหารที่ระดับ 0-1000 mg. (Control)	26
10	ผลของชีวภาพพร้อมใช้ bioaccessibility ของคอปเปอร์ (Copper, Cu) ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 0.09 ppb โดยใช้ใยอาหารดัดแปลงด้วยวิธีต่างกัน 4 วิธี ที่ระดับ 0-1000 mg.	27
11	ผลของชีวภาพพร้อมใช้ bioaccessibility ของสังกะสี (Zinc, Zn) ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 0.015 ppb โดยใช้ใยอาหารที่ระดับ 0-1000 mg. (Control)	28

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
12	ผลของชีวภาพพร้อมใช้ bioaccessibility ของ ของสังกะสี (Zinc, Zn) ที่ระดับความเข้มข้นเริ่มต้น 0.015 ppb โดยใช้ใยอาหารดัดแปลงด้วยวิธีต่างกัน 4 วิธี ที่ระดับ 0-1000 mg.	29
13	การสะสมของโลหะหนักโดยในเซลล์ลำไส้มนุษย์ Caco-2 ที่บ่มเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37°C ด้วยการใช้ใยอาหารดัดแปลงด้วยวิธีที่ 4 ที่ระดับ 1,000 mg	32

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ภาพ Scanning electron micrographs (SEM) ของใยอาหารชนิดต่างๆ	18
2	ภาพใยอาหารชนิดต่างๆ	19