



## วิทยานิพนธ์

ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้าน ข้าวกล้อง และ พืชตระกูลถั่ว

**Phytosterol Contents in Selected Thai Local Vegetables, Brown Rice  
and Legumes**

นางสาวพัทธอง สวัสดิเกียรติ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2549



## ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

สาขา

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

ภาควิชา

เรื่อง ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้าน ข้าวกล้องและพืชตระกูลถั่ว

Phytosterol Contents in Selected Thai Local Vegetables, Brown Rice and Legumes

นามผู้วิจัย นางสาวพัชทอง สวัสดิเกียรติ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนบูรณ์ สัจจอนันตกุล, Ph.D. )

กรรมการ

( อาจารย์ขรรณี จิรภาคย์กุล, Ph.D. )

กรรมการ

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนุวัตร แจ่มชัด, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนบูรณ์ สัจจอนันตกุล, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์วินัย อางคงหาญ, M.A. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ๐๔ เดือน เมษายน พ.ศ. ๒๕๔๙

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้าน ข้าวกล้อง และ พืชตระกูลถั่ว

Phytosterol Contents in Selected Thai Local Vegetables, Brown Rice and Legumes

โดย

นางสาวพัทธอง สวัสดิเกียรติ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

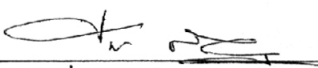
พ.ศ. 2549

ISBN 974 - 16 - 1449 - 7

พุดทอง สวัสดิเกียรติ 2549 : ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้าน ข้าวกล้อง และพืชตระกูล  
ถั่ว ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร  
ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ปรธานกรรมการที่ปรึกษา:  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนະบุลย์ สัจจานันตกุล, Ph.D. 123 หน้า  
ISBN 974-16-1449-7

ไฟโตสเตอรอล (phytosterol) เป็นสารประกอบไทรเทอพินที่สามารถลดระดับ LDL-  
คลอเรสเตอรอล โดยมีคุณสมบัติลดการดูดซึมคลอเรสเตอรอลในลำไส้เล็กของมนุษย์ การศึกษานี้มี  
วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอลสี่ชนิดคือ  $\beta$ -sitosterol campesterol stigmasterol และ  
stigmastanol ในผักพื้นบ้าน ได้แก่ ผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบยอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และ ผักบุ้ง  
แดง ข้าวกล้อง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105 ปทุมธานี 1 สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 2 และชัยนาท 1  
พืชตระกูลถั่ว ได้แก่ ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วแดงหลวง ถั่วลิสงและถั่วเคียว โดยทำการสกัด  
ไฟโตสเตอรอลด้วยการย่อยสลายด้วยกรดร่วมกับด่างเป็นเวลา 30 และ 60 นาทีตามลำดับ เพื่อแยก  
ไฟโตสเตอรอลจากไกลโคไซด์และเอสเทอร์ และวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลด้วยแคปิลารีคอลัมน์  
แก๊สโครมาโตกราฟี จากผลการศึกษาพบว่าผักพื้นบ้านมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  
 $\beta$ -sitosterol campesterol stigmasterol และ stigmastanol) 162.3-318.7 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง  
โดยพบว่าผักบุ้งแดงมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุด  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดที่พบมาก  
ที่สุดในผักแทบทุกชนิด แต่ผักชีฝรั่ง ผักโขมหนามและ ผักปลังขาวมี stigmasterol มากที่สุด โดยมีถึง  
ร้อยละ 42.0-100.0 ของไฟโตสเตอรอลรวม ซึ่งในผักชีฝรั่งพบ stigmasterol มากที่สุด โดยมีถึง 197.6  
มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้งและไม่พบไฟโตสเตอรอลอีก 3 ชนิด นอกจากนี้ในใบยอพบว่ามีปริมาณ  
stigmastanol สูงถึง 51.0 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง จากการศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอลในข้าว  
กล้อง 5 สายพันธุ์ พบว่าข้าวกล้องมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 35.4 -131.6 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนัก  
แห้ง ซึ่งข้าวกล้องพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุด และข้าวกล้องพันธุ์ขาวดอกมะลิ  
105 มีไฟโตสเตอรอลรวมต่ำสุด ซึ่งปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมของข้าวกล้องทั้ง 5 สายพันธุ์แตกต่างกัน  
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้อัตราส่วนระหว่าง  $\beta$ -sitosterol campesterol และ  
stigmasterol ของข้าวกล้องส่วนใหญ่คือ 3 : 1 : 1 แต่ในข้าวปทุมธานี 1 กลับต่างออกไปโดยมี  
อัตราส่วนคือ 2:1:1 สำหรับปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชตระกูลถั่วและถั่วเคียว พบว่ามีปริมาณ  
ไฟโตสเตอรอลรวมอยู่ระหว่าง 87.9-126.4 มิลลิกรัม/100กรัม น้ำหนักแห้ง โดยถั่วแดงหลวงมีปริมาณ  
ไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุด  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลที่พบมากที่สุด ในพืชตระกูลถั่วที่ศึกษา  
ยกเว้นถั่วดำที่พบ stigmasterol มากถึงร้อยละ 61.0 ของไฟโตสเตอรอลรวม นอกจากนี้ในถั่วเคียวยังพบ  
stigmastanol มากถึง 21.0 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง

พุดทอง สวัสดิเกียรติ  
ลายมือชื่อนิติ

  
ลายมือชื่อประธานกรรมการ

3 / 04 / 2549

Pattong Sawadikiat 2006 : Phytosterol Contents in Selected Thai Local Vegetables,  
Brown Rice and Legumes. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science,  
Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor  
Tanaboon Sajjaanantakul, Ph.D. 123 pages.  
ISBN 974-16-1449-7

Phytosterols are triterpenes that are known to have LDL-cholesterol lowering effects by inhibiting the absorption of cholesterol from the small intestine. The objective of this study was to quantify dietary phytosterols and phytostanol i.e.,  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, and stigmastanol in selected Thai local vegetables (Vinespinach, Indian leaf, Wild blite, Swamp morning glory, Betel leaf and False coriander), 5 cultivars of brown rice (Khao Dawk Mali 105, Pathumthani 1, Suphanburi 2, Suphanburi 1, and Chainat 1) and legumes (mung bean, black bean, red kidney bean, soybean, peanut and job's tear). Selected vegetables, brown rice and legume were acid hydrolyzed for 30 min and alkaline hydrolyzed for 60 min to liberate sterol from their glycosides and esters conjugates, respectively. A capillary column gas chromatography procedure was used for quantitative analysis. Total phytosterol contents (sum of  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, and stigmastanol) of local vegetables were 162.3-318.7 mg/100g dry basis. Highest total phytosterol content was found in Swamp morning glory.  $\beta$ -sitosterol was the dominant sterol in most vegetables. However, stigmasterol was the dominant phytosterol (42.0-100.0 % of total phytosterol content) in False coriander, Vinespinach and Wild blite which are not commonly found in most vegetables. Noteworthy, only stigmasterol was found in false coriander (197.6 mg/100g dry basis) whereas  $\beta$ -sitosterol, campesterol, and stigmastanol were absent. Furthermore, high content of stigmastanol was found in Indian leave (51.0 mg/100g dry basis). When 5 cultivars of brown rice were studied. Total phytosterol contents in brown rice ranged from 35.4 to 131.6 mg/100g dry basis. The highest content was found in Chainat1 and the lowest in Khao Dawk Mali 105. The total phytosterol contents were significantly difference ( $p < 0.05$ ) between rice cultivars. In addition, the ratio between  $\beta$ -sitosterol, campesterol and stigmasterol was 3:1:1 in most rice cultivars, whereas in Pathumthani 1 the ratio was 2:1:1. In legumes phytosterol contents range was 87.9 -126.4 mg/100g dry basis. The highest content was found in Red kidney bean.  $\beta$ -sitosterol was main sterol in most legumes except black bean, in which stigmasterol dominated (61.0% of total phytosterol content). Moreover, stigmastanol was high (21.0 mg/100g dry basis) in Job's tear.

Pattong Sawadikiat.

Student's signature

Tanaboon S.

Thesis Advisor's signature

3 / 04 / 2006

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. ธนะบุญย์ สัจจานันตกุล ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ ข้อคิด และให้กำลังใจในทุกๆ เรื่อง ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ กราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. วรณีย์ จิรภาคย์กุล กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก และผศ. ดร. อนุวัตร แจ่มชัด กรรมการวิชาการ และดร. ปราโมทย์ ศิริโรจน์ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำปรึกษาและกรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่กรุณาอบรมสั่งสอนระหว่างการศึกษาและขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ให้คำปรึกษา และความช่วยเหลือในการทำวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณครอบครัว รศ. วรณศรี บุญรัตน์พันธุ์ รศ. วีรวรรณ ศีตีสาร์ คุณบุษบา สวัสดิ์เกียรติ และคุณอิสราวิทย์ เชาวน์พานิช ที่ส่งเสริมสนับสนุนและให้กำลังใจมาโดยตลอด ขอขอบคุณคุณสุเทพ อภินันท์จารุงศ์ คุณละอองดาว ว่องเอกลักษณ์ คุณวชิราภรณ์ หมั่นเพียร คุณสุหทัยา นำชัยสีวัฒนา คุณเขาวภา หล่อเจริญผล คุณศุภศิริ ศีตาน้อย และคุณพรเทพินทร์ สุขแสงประสิทธิ์ที่คอยให้ความช่วยเหลือ และให้คำแนะนำดีๆ และสุดท้ายขอขอบพระคุณพี่ๆ น้องๆ และเพื่อนๆ สำหรับคำแนะนำดีๆ ความช่วยเหลือที่มากล้น คำลงใจที่ดีเยี่ยมและความสนุกสนานตลอดเวลาของการศึกษา

พัทธอง สวัสดิ์เกียรติ

กุมภาพันธ์ 2549

## สารบัญ

|                                                                                 | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| สารบัญ.....                                                                     | (1)  |
| สารบัญตาราง.....                                                                | (3)  |
| สารบัญภาพ.....                                                                  | (8)  |
| คำนำ.....                                                                       | 1    |
| ตรวจเอกสาร .....                                                                | 2    |
| คุณสมบัติทางเคมีของไฟโตสเตอรอล.....                                             | 2    |
| การสังเคราะห์ไฟโตสเตอรอล.....                                                   | 7    |
| แหล่งที่พบไฟโตสเตอรอล.....                                                      | 8    |
| ไฟโตสเตอรอลและคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย.....                           | 15   |
| ผลของการบริโภคไฟโตสเตอรอลต่อวิตามินที่ละลายในไขมัน.....                         | 19   |
| การวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลเชิงปริมาณและคุณภาพ.....                                 | 20   |
| ผลของการแปรรูปด้วยความร้อนต่อไฟโตสเตอรอลในอาหาร.....                            | 29   |
| อุปกรณ์และวิธีการ.....                                                          | 32   |
| อุปกรณ์.....                                                                    | 32   |
| วิธีการ.....                                                                    | 35   |
| ผลและวิจารณ์.....                                                               | 43   |
| การศึกษาภาวะการย่อยสลายด้วยกรดและด่างที่เหมาะสมในการสกัดไฟโตสเตอรอล.....        | 43   |
| การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้านบางชนิด.....                          | 45   |
| การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในข้าวกล้อง 5 สายพันธุ์.....                       | 58   |
| การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชตระกูลถั่ว และถั่วเขียว.....                  | 67   |
| ผลของการให้ความร้อนต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชตระกูลถั่ว.....                     | 74   |
| ปริมาณไฟโตสเตอรอลที่ได้รับจากการบริโภคผักพื้นบ้านและข้าวกล้องต่อส่วนบริโภค..... | 77   |
| สรุป.....                                                                       | 81   |

## สารบัญ (ต่อ)

|                           | หน้า |
|---------------------------|------|
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง..... | 84   |
| ภาคผนวก.....              | 95   |
| ภาคผนวก ก.....            | 96   |
| ภาคผนวก ข.....            | 102  |
| ภาคผนวก ค.....            | 107  |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่                                                                                                                  | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 ไฟโตสเตอรอลในวัตถุดิบต่างๆ (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก).....                                                        | 10   |
| 2 ไฟโตสเตอรอลในวัตถุดิบต่างๆ (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง).....                                                         | 13   |
| 3 ไฟโตสเตอรอลในน้ำมันต่างๆ (มิลลิกรัม/100 กรัมไขมัน).....                                                                 | 14   |
| 4 วิธีการสกัดและวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอล .....                                                                                | 22   |
| 5 ปริมาณไฟโตสเตอรอลในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อยสลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาทีและค้างเป็นเวลา 30 และ 60 นาที..... | 44   |
| 6 ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบยอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง.....                                   | 46   |
| 7 ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบยอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (น้ำหนักเปียก).....                    | 56   |
| 8 ชนิดและคุณสมบัติประจำพันธุ์ข้าวของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....                                                          | 58   |
| 9 ปริมาณอมิโลสในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....                                                                              | 59   |
| 10 ปริมาณความชื้นและไขมันของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....                                                                  | 60   |
| 11 ผลการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลรวมของข้าวกล้องที่ใช้ในการทดลอง.....                                                          | 61   |
| 12 ปริมาณและสัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....                                                     | 63   |
| 13 ปริมาณความชื้นและไขมันในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย.....                                                                  | 67   |
| 14 การแบ่งกลุ่มพืชตระกูลถั่วและลูกเดือยตามปริมาณไขมัน.....                                                                | 68   |
| 15 ปริมาณไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย.....                                                             | 69   |
| 16 ปริมาณไฟโตสเตอรอลได้รับจากการบริโภคผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบชะพลู ผักชีฝรั่ง ผักบุ้งแดง และใบยอตามส่วนบริโภค/ วัน.....  | 79   |
| <br>                                                                                                                      |      |
| <b>ตารางผนวกที่</b>                                                                                                       |      |
| ก1 ปริมาณความชื้นในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบชะพลู ผักชีฝรั่ง ผักบุ้งแดง และใบยอ.....                                       | 101  |
| ข1 ผลของปริมาณจมูกข้าวกล้องที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่อปริมาณไฟโตสเตอรอล.....                                                  | 103  |

### สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางผนวกที่                                                                                                                                                        | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ข2 ผลการศึกษาสภาวะการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี.....                                                                                                  | 103  |
| ค1 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและต่าง<br>ต่อปริมาณ $\beta$ -sitosterol ในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้.....                               | 108  |
| ค2 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและต่าง<br>ต่อปริมาณ campesterol ในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้.....                                       | 108  |
| ค3 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและต่าง<br>ต่อปริมาณ stigmasterol ในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้.....                                      | 109  |
| ค4 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและต่าง<br>ต่อปริมาณ stigmastanol ในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้.....                                      | 109  |
| ค5 การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและต่าง<br>ต่อ ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้.....                                     | 110  |
| ค6 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ $\beta$ -sitosterol ในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อย<br>สลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาทีร่วมกับต่างเป็นเวลา 30 และ 60<br>นาที..... | 110  |
| ค7 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ campesterol ในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อย<br>สลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาทีร่วมกับต่างเป็นเวลา 30 และ 60<br>นาที.....         | 111  |
| ค8 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อย<br>สลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาทีร่วมกับต่างเป็นเวลา 30 และ 60<br>นาที.....        | 111  |
| ค9 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmastanol ในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการ<br>ย่อยสลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาทีร่วมกับต่างเป็นเวลา 30 และ<br>60 นาที.....        | 112  |

### สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางผนวกที่                                                                                                                                           | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ค10 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อยสลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาทีร่วมกับค่างเป็นเวลา 30 และ 60 นาที..... | 112  |
| ค11 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ $\beta$ -sitosterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง.....                                 | 112  |
| ค12 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ campesterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง.....                                         | 113  |
| ค13 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง.....                                        | 113  |
| ค14 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmastanol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง.....                                        | 113  |
| ค15 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง.....                                        | 114  |
| ค16 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ $\beta$ -sitosterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (น้ำหนักเปียก).....                  | 114  |
| ค17 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ campesterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (น้ำหนักเปียก).....                          | 114  |
| ค18 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (น้ำหนักเปียก).....                         | 115  |
| ค19 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmastanol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (น้ำหนักเปียก).....                         | 115  |
| ค20 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอบิชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (น้ำหนักเปียก).....                         | 115  |
| ค21 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณความชื้นของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....                                                                                  | 116  |
| ค22 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไขมันของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....                                                                                     | 116  |

### สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางผนวกที่                                                                                     | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ค23 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วน $\beta$ -sitosterol ในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....      | 116  |
| ค24 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วน campesterol ในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....              | 117  |
| ค25 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วน stigmasterol ในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....             | 117  |
| ค26 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วน stigmastanol ในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....             | 117  |
| ค27 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วนไฟโตสเตอรอลรวมในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....             | 118  |
| ค28 การวิเคราะห์ความถดถอยเชิงเส้นระหว่างปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในข้าวกล้อง.....       | 118  |
| ค29 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณความชื้นในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย.....                            | 118  |
| ค30 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไขมันในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย.....                               | 119  |
| ค31 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ $\beta$ -sitosterol ในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย.....              | 119  |
| ค32 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ campesterol ในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย.....                      | 119  |
| ค33 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย.....                     | 120  |
| ค34 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmastanol ในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย.....                     | 120  |
| ค35 การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย.....                     | 120  |
| ค36 การวิเคราะห์การถดถอยระหว่างปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย..... | 121  |
| ค37 การวิเคราะห์ทางสถิติผลของปริมาณจมูกข้าวกล้องที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม..... | 121  |

### สารบัญตาราง (ต่อ)

| ตารางผนวกที่                                                                                                                      | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ค38 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณโฟโตสเทรอรอลรวมในถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 60 นาที..... | 121  |
| ค39 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณโฟโตสเทรอรอลรวมในถั่วแดงที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 60 นาที.....    | 122  |
| ค40 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณโฟโตสเทรอรอลรวมในถั่วดำที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 60 นาที.....     | 122  |
| ค41 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณโฟโตสเทรอรอลรวมในถั่วเขียวที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 60 นาที.....  | 122  |

## สารบัญภาพ

| ภาพที่                                                                                                                                     | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1 โครงสร้างของคลอเรสเตอรอล ฟิตอสเตอรอล และฟิตอสตานอล .....                                                                                 | 3    |
| 2 การสังเคราะห์ C 27 4-desmethyl phytosterols .....                                                                                        | 5    |
| 3 โครงสร้างของ C 28 4-desmethyl phytosterols .....                                                                                         | 6    |
| 4 โครงสร้างของ C 29 4-desmethyl phytosterols.....                                                                                          | 6    |
| 5 การสังเคราะห์ฟิตอสเตอรอลและไทรเทอร์พีนชนิดอื่นๆ .....                                                                                    | 8    |
| 6 ผลของฟิตอสเตอรอลและฟิตอสตานอลต่อเมทาบอลิซึมของไขมันและ<br>ไลโปโปรตีน.....                                                                | 17   |
| 7 ฟิตอสเตอรอลและฟิตอสเตอรอลคอนจูเกต.....                                                                                                   | 27   |
| 8 กลไกการเกิด stigmasterol oxide .....                                                                                                     | 31   |
| 9 แผนผังการสกัดฟิตอสเตอรอลจากจมูกข้าวกล้อง.....                                                                                            | 36   |
| 10 แผนผังขั้นตอนการทำอนุพันธ์ฟิตอสเตอรอล.....                                                                                              | 37   |
| 11 ปริมาณฟิตอสเตอรอลรวมโดยน้ำหนักแห้งของผักพื้นบ้านบางชนิด<br>เปรียบเทียบกับผักจากการศึกษาของ Piironen <i>et al.</i> (2000).....           | 48   |
| 12 ฟิตอสเตอรอลรวมโดยน้ำหนักแห้งของผักพื้นบ้านเปรียบเทียบกับการศึกษา<br>ของ Dhanasettakorn (2002).....                                      | 50   |
| 13 สัดส่วนฟิตอสเตอรอลแต่ละชนิดในผักชีฝรั่ง.....                                                                                            | 51   |
| 14 สัดส่วนฟิตอสเตอรอลแต่ละชนิดในผักโขมหนาม.....                                                                                            | 51   |
| 15 สัดส่วนฟิตอสเตอรอลแต่ละชนิดในใบชะพลู.....                                                                                               | 52   |
| 16 สัดส่วนฟิตอสเตอรอลแต่ละชนิดในผักบุ้งแดง.....                                                                                            | 52   |
| 17 สัดส่วนฟิตอสเตอรอลแต่ละชนิดในยอดผักปลังขาว.....                                                                                         | 52   |
| 18 สัดส่วนฟิตอสเตอรอลแต่ละชนิดในใบยอ.....                                                                                                  | 52   |
| 19 สัดส่วนของฟิตอสเตอรอลแต่ละชนิดของดอกผักปลังขาว.....                                                                                     | 53   |
| 20 ปริมาณฟิตอสเตอรอลรวมโดยน้ำหนักเปียกของผักพื้นบ้านบางชนิดใน<br>ประเทศไทยเปรียบเทียบกับผักจากการศึกษาของ Normen <i>et al.</i> (1999)..... | 57   |

### สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่            |                                                                                                                                | หน้า |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 21                | โครมาโตแกรมของข้าวกล้องขาวดอกมะลิ 105.....                                                                                     | 62   |
| 22                | ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) และร้อยละไขมันในข้าวกล้อง..... | 64   |
| 23                | ปริมาณสัดส่วนของไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดต่อไฟโตสเตอรอลรวมของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์.....                                           | 66   |
| 24                | สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วเขียว.....                                                                                    | 70   |
| 25                | สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วแดงหลวง.....                                                                                  | 71   |
| 26                | สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วดำ.....                                                                                       | 71   |
| 27                | สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วเหลือง.....                                                                                   | 71   |
| 28                | สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วลิสง.....                                                                                     | 71   |
| 29                | สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในลูกเดี๋ย.....                                                                                     | 72   |
| 30                | ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมและไขมันในพืชตระกูลถั่ว.....                                                                               | 73   |
| 31                | ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อน.....                                                                     | 74   |
| 32                | ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วแดงที่ผ่านการให้ความร้อน.....                                                                        | 75   |
| 33                | ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเขียวที่ผ่านการให้ความร้อน.....                                                                      | 75   |
| 34                | ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วดำที่ผ่านการให้ความร้อน.....                                                                         | 76   |
| <b>ภาพผนวกที่</b> |                                                                                                                                |      |
| ก1                | กราฟมาตรฐานของไฟโตสเตอรอลมาตรฐาน.....                                                                                          | 100  |

## ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้าน ข้าวกล้อง และพืชตระกูลถั่ว

### Phytosterol Contents in Selected Thai Local Vegetables, Brown Rice and Legumes

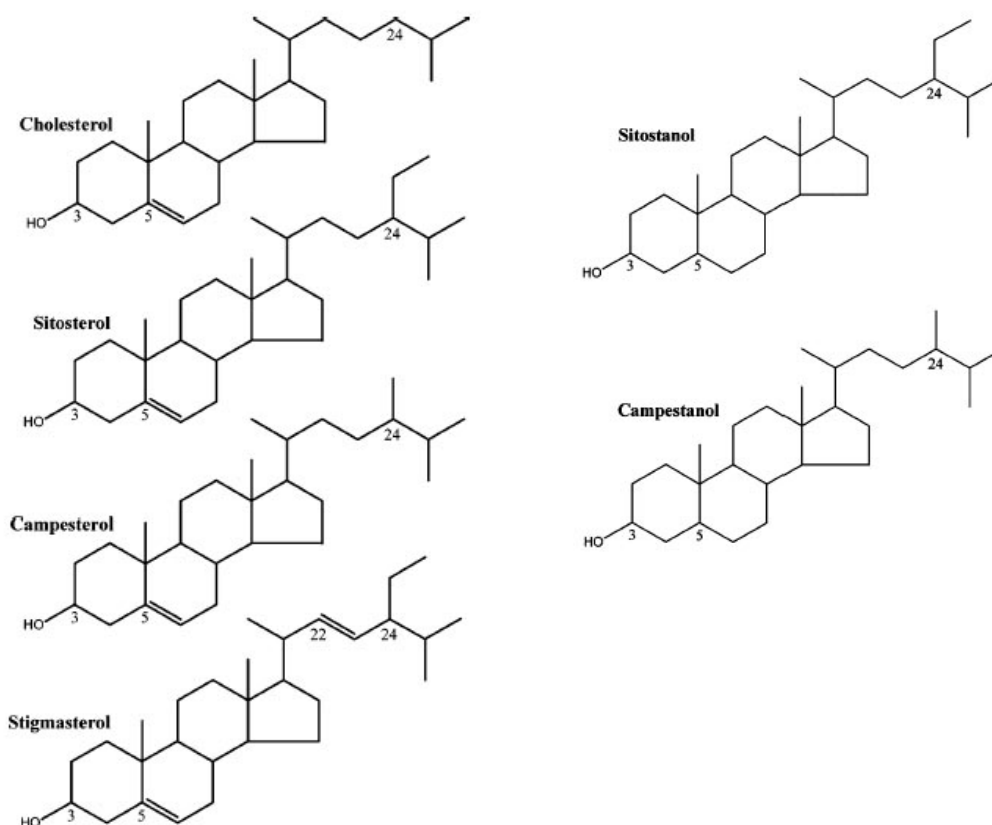
#### คำนำ

จากข้อมูลสถิติของสำนักงานสถิติแห่งชาติพบว่าในปี พ.ศ.2542-2547 โรคหัวใจเป็นหนึ่งในสาเหตุหลักของการเสียชีวิตของประชากรไทย (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, ม.ป.ป.) ซึ่งการมีระดับ LDL-คอเลสเตอรอลสูงเป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคดังกล่าว ปัจจุบันสารไฟโต-สเตอรอลได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลในลำไส้เล็กของมนุษย์และสัตว์ ส่งผลให้ระดับคอเลสเตอรอลทั้งหมด และ LDL-คอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ส่งผลให้ลดความเสี่ยงต่อโรคหัวใจ (Anonymous, 2000; Dhanasettakorn, 2002) ไฟโตสเตอรอล หรือ สเตอรอลในพืช เป็นสารธรรมชาติที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับคอเลสเตอรอลแต่แตกต่างกันที่โซ่ข้าง ซึ่งมนุษย์และสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ไฟโตสเตอรอลได้ (Dhanasettakorn, 2002 ; Moreau *et al.*, 2002) ไฟโตสเตอรอลพบได้ในพืชและผลิตภัณฑ์จากพืชหลายชนิดเช่น น้ำมันพืช ผัก ผลไม้ ธัญชาติ และพืชตระกูลถั่ว (Gonella, 2003; Moreau *et al.*, 2002) ดังนั้นการบริโภคอาหารที่มีไฟโตสเตอรอลจึงเป็นทางเลือกของผู้ที่มีปัญหาระดับไขมันและคอเลสเตอรอลในเลือดสูงและใส่ใจในสุขภาพ สำหรับประเทศไทยมีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับไฟโตสเตอรอลยังไม่มีมากนัก เช่นข้าวโพดอ่อน หัวปลี ดอกกะหล่ำ และมะระขี้นก เป็นต้น ทำให้ขาดความรู้ความเข้าใจรวมถึงข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นเกี่ยวกับสารดังกล่าว ประกอบกับประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตผลผลิตทางการเกษตรในปริมาณมากและมีราคาไม่สูงซึ่งอาจเป็นแหล่งของไฟโตสเตอรอล ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะการย่อยสลายด้วยกรดและด่างที่เหมาะสมในการสกัดไฟโตสเตอรอลและตรวจวิเคราะห์หาปริมาณและสัดส่วนของชนิดไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้าน ข้าวกล้อง พืชตระกูลถั่วบางชนิด และลูกเดือยในประเทศไทย

## การตรวจเอกสาร

### คุณสมบัติทางเคมีของไฟโตสเตอรอล

ไฟโตสเตอรอล (Phytosterols) หรือ สเตอรอลในพืช เป็นสารประกอบไตรเทอร์พีน (triterpenes) ซึ่งอยู่ในส่วนที่ละลายในไขมันของพืช พบได้ทั่วไปในน้ำมันพืช ธัญพืช ธรรมชาติ ผัก และ ผลไม้เกือบทุกชนิด โดยมีปริมาณและสัดส่วนของไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดที่แตกต่างกันออกไปขึ้นกับลักษณะทางพันธุกรรม การเพาะปลูก ความแก่ของพืชและปัจจัยอื่นๆ (Quilez *et al.*, 2003) ไฟโตสเตอรอลทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในผนังเซลล์พืช โดยไฟโตสเตอรอลอิสระทำหน้าที่เพิ่มเสถียรภาพให้ phospholipids bilayers ในผนังเซลล์พืช (Moreau *et al.*, 2002; Dhanasettakorn, 2002) ในขณะที่คอเลสเตอรอล (Cholesterol) ทำหน้าที่เดียวกันในเนื้อเยื่อสัตว์ ไฟโตสเตอรอลและคอเลสเตอรอลมีโครงสร้างคล้ายกัน แต่แตกต่างกันที่ไฟโตสเตอรอลมีหมู่เมทิล (methyl) หรือเอทิล (ethyl) ที่โซ่ข้าง (side chain) ของคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 24 (Clifton, 2002; Hicks and Moreau, 2001; Moreau *et al.*, 2002) ดังรูปที่ 1 โดยทั่วไปไฟโตสเตอรอลมีผลต่อความคงตัวของผนังเซลล์พืช โดยเมื่ออัตราส่วนของไฟโตสเตอรอลต่อฟอสโฟลิปิด (phospholipid) เพิ่มขึ้นส่งผลให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรงยิ่งขึ้น (rigidification) ไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดส่งผลต่อผนังเซลล์พืชแตกต่างกัน มีรายงานว่า stigmasterol ส่งผล disordering effect ต่อผนังเซลล์ และอัตราส่วนของ stigmasterol กับไฟโตสเตอรอลชนิดอื่นๆใน plasma membrane เพิ่มขึ้นระหว่างการแก่ชราของพืช (Moreau *et al.*, 2002) จากการศึกษาของ Adler and Kasprzyk (1975) พบว่าในเนื้อเยื่อของ *Calendula officinalis* เมื่ออายุน้อยจะมี  $\beta$ -sitosterol โคเดเน่และมีปริมาณมาก แต่เมื่อพืชอายุมากขึ้นจะมีปริมาณ stigmasterol สูงกว่า ไฟโตสเตอรอลชนิดอื่น



ภาพที่ 1 โครงสร้างของคลอเรสเตอรอล ไฟโตสเตอรอล และไฟโตสตานอล  
ที่มา : Ostlund (2002)

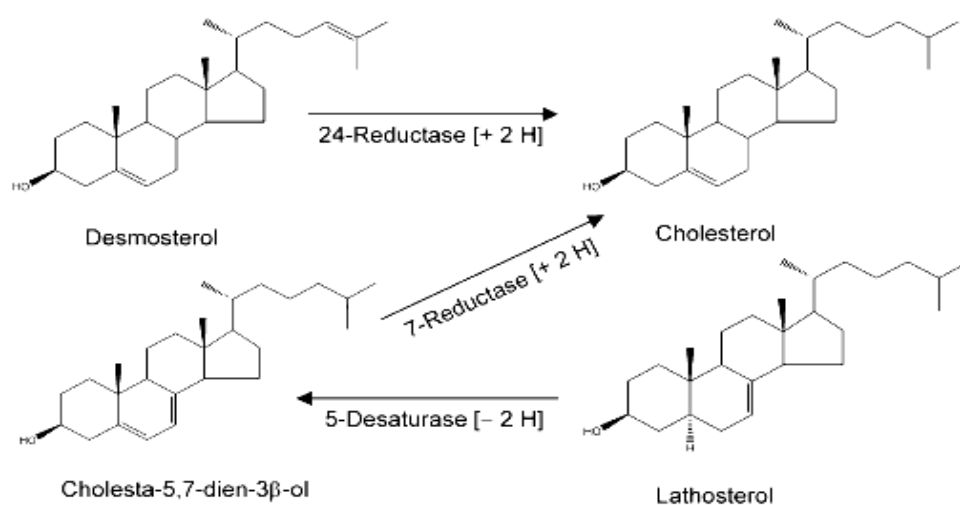
ไฟโตสเตอรอลสามารถแบ่งออกเป็นสามประเภทตามจำนวนของหมู่เมทิลที่จับกับคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 คือ

- ไม่มีหมู่เมทิลเกาะที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 หรือ 4,4-desmethylsterols
- หมู่เมทิล 1 หมู่เกาะที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 หรือ 4 $\alpha$ -methylsterols
- หมู่เมทิล 2 หมู่เกาะที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 หรือ 4,4-dimethylsterols

โดยทั่วไป 4 $\alpha$ -methylsterols และ 4-dimethylsterols เป็นสาร metabolic intermediates ในกระบวนการสังเคราะห์สาร 4,4-desmethylsterols แต่สามารถพบ 4 $\alpha$ -methylsterols เช่น gramisterol และ 4,4-dimethylsterols เช่น cycloartenol ที่เนื้อเยื่อพืชในปริมาณเพียงเล็กน้อย 4-desmethylsterols ประกอบด้วยสเตอรอลที่มีคาร์บอน 27 อะตอม เช่นคลอเรสเตอรอลที่พบมากในสัตว์ และพบในพืชบางชนิดในปริมาณที่น้อยมาก (ภาพที่ 2) 4-desmethylsterols ที่มีคาร์บอน 28 อะตอม และ 4-desmethylsterols ที่มีคาร์บอน 29 อะตอม ดังภาพที่ 3 ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเซลล์พืช

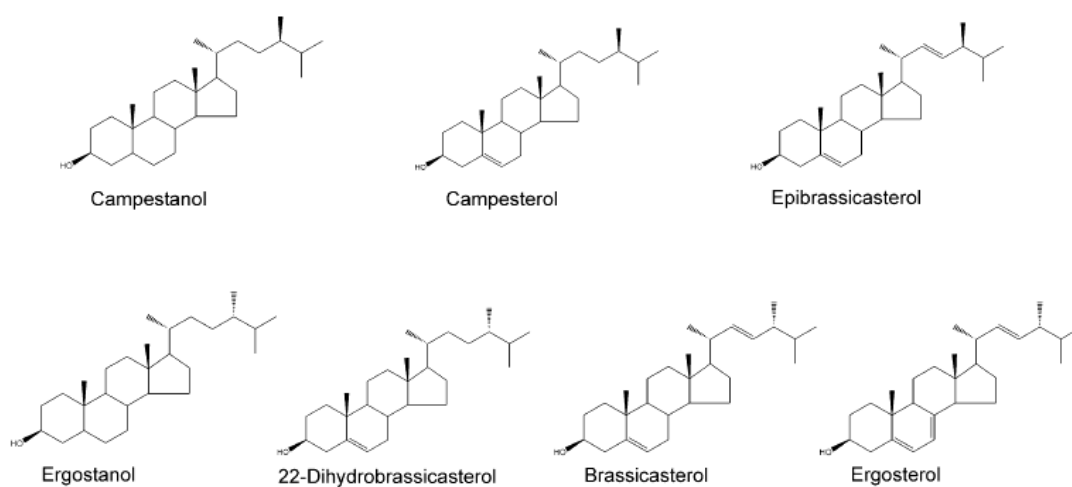
4-desmethylsterols เป็นไฟโตสเตอรอลที่มักพบพันธะคู่ระหว่างอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 และ 6 ในวงแหวน จึงมักเรียกว่า  $\Delta^5$  ไฟโตสเตอรอล แต่ในพืชบางชนิดอาจพบไฟโตสเตอรอลที่มีพันธะคู่ระหว่างอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 7 และ 8 เรียกว่า  $\Delta^7$  ไฟโตสเตอรอล ทั้ง  $\Delta^5$  และ  $\Delta^7$  4-desmethylsterols นั้นมักมีพันธะคู่ที่สองระหว่างอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 22 และ 23 หรือระหว่างอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 24 และ 28 ที่บริเวณโซ่ข้าง ตัวอย่างเช่น stigmasterol ซึ่งเป็น 4-desmethylsterols ที่มีคาร์บอน 29 อะตอมที่มีพันธะคู่ 2 ตำแหน่งระหว่างอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 และ 6 และ อะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 22 และ 23 จึงเรียกว่า  $\Delta^{5,22E}$  ไฟโตสเตอรอล (Moreau *et al.*, 2002) นอกจากนี้นักโภชนาการได้แบ่งไฟโตสเตอรอลออกเป็นสองประเภทคือ ไฟโตสเตอรอล หรือ  $\Delta^5$  ไฟโตสเตอรอล และ ไฟโตสทานอล ซึ่งไฟโตสทานอลนี้มีโครงสร้างเช่นเดียวกับไฟโตสเตอรอลแต่ไม่มีพันธะคู่ระหว่างอะตอมคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 และ 6 ในวงแหวน ดังนั้นไฟโตสเตอรอลและไฟโตสเตอรอลจึงมีชื่อใกล้เคียงกัน เช่น sitosterol และ sitostanol (Ostlund, 2002) จากรายงานวิจัยพบว่าในพืชมีไฟโตสเตอรอลมากกว่า 200 ชนิด ซึ่ง  $\beta$ -sitosterol campesterol และ stigmasterol เป็นไฟโตสเตอรอลที่พบมากที่สุด (Hicks and Moreau, 2001; Clifton, 2002; Ostlund, 2002) จากการศึกษาของ Alder and Kasprzyk (1975) พบว่า  $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol มักพบในสัดส่วนมากถึงร้อยละ 80 ของไฟโตสเตอรอลทั้งหมดที่พบในพืช และสัดส่วนระหว่าง  $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol จะแตกต่างกันออกไปขึ้นกับอายุของเนื้อเยื่อพืชในธรรมชาติสามารถพบไฟโตสเตอรอลได้ทั้งในรูปอิสระหรือแอลกอฮอล์อิสระ (free alcohol) และในรูปคอนจูเกต (conjugated) เอสเทอร์ และไกลโคไซด์ ได้แก่ steryl fatty acid ester (SE) hydroxycinnamate steryl ester (HSE) steryl glycoside (SG) และ acylated steryl glycoside (ASG) ดังภาพที่ 7 โดยไฟโตสเตอรอลอิสระจะไม่เกิดอนุพันธ์ที่หมู่ 3 $\beta$ -OH ที่วงแหวนของสเตอรอล

นิวเคลียส ในขณะที่ conjugated ไฟโตสเตอรอลนั้นเกิดพันธะ โคเวเลนต์กับสารประกอบชนิดอื่น ที่ตำแหน่งดังกล่าว โดย steryl fatty acid ester และ hydroxycinnamate steryl ester นั้นเกิดพันธะ เอสเทอร์กับกรดไขมันและกรด ferulic หรือกรด cumaric ที่หมู่ 3 $\beta$ -OH ส่วน steryl glycoside หมู่ 3 $\beta$ -OH ของไฟโตสเตอรอลเช่น campesterol, stigmasterol, sitosterol, brassicasterol และ dihydrositosterol เกิดพันธะ 1- $\alpha$ - $\beta$ -glycosidic กับน้ำตาลเฮกโซสเช่น กลูโคส ไซโลส (xylose) และอราบินโนส (arabinose) ส่วน acylated steryl glycoside นั้นเกิดพันธะเช่นเดียวกับ steryl glycoside แต่มีพันธะเอสเทอร์กับกรดไขมันเช่น palmitic stearic linoleic linolenic (Alder and Kasprzyk, 1975) ที่หมู่ 6-OH ของน้ำตาลเฮกโซสเช่น กลูโคส หรือ กาแลกโตส (ภาพที่ 7) (Moreau *et al.*, 2002; Toivo *et al.*, 2001)



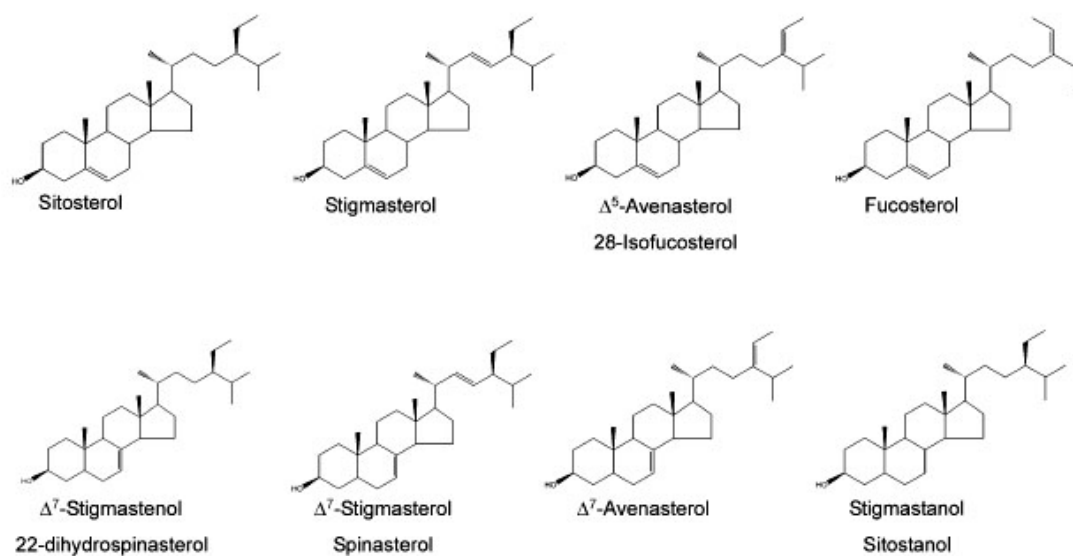
ภาพที่ 2 การสังเคราะห์ C 27 4-desmethyl phytosterols

ที่มา : Moreau *et al.* (2002)



ภาพที่ 3 โครงสร้างของ C<sub>28</sub> 4-desmethyl phytosterols

ที่มา : Moreau *et al.* (2002)



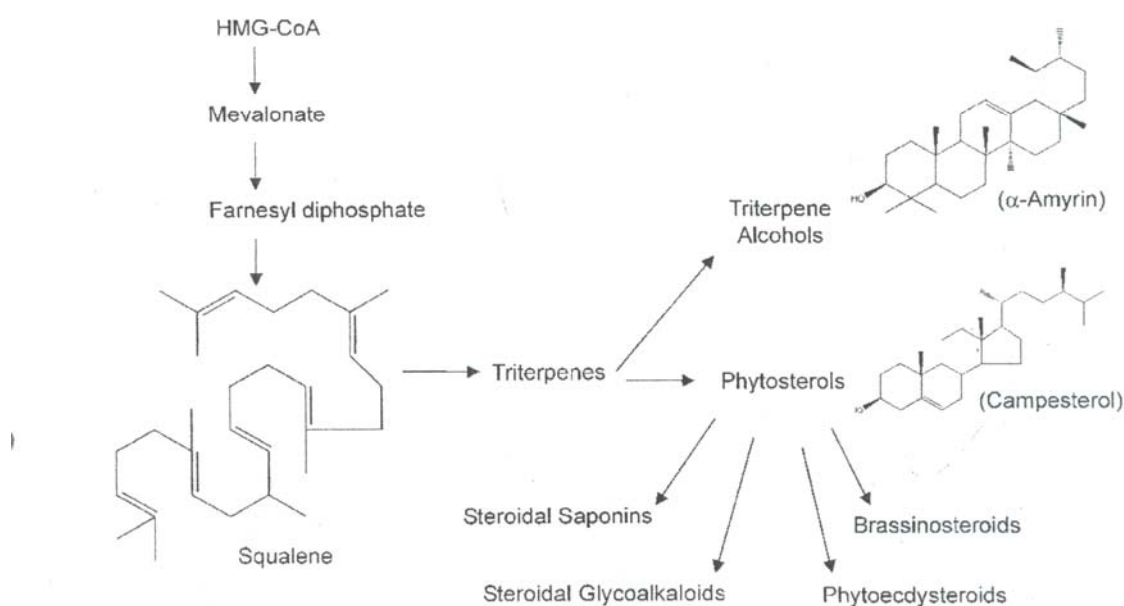
ภาพที่ 4 โครงสร้างของ C<sub>29</sub> 4-desmethyl phytosterols

ที่มา : Moreau *et al.* (2002)

โดยไฟโตสเตอรอลแต่ละรูปแบบสามารถพบได้ในส่วนของพืชที่แตกต่างกัน ไฟโตสเตอรอลในรูปแอลกอฮอล์อิสระทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างผนังเซลล์เช่นเดียวกับคลอเรสเตอรอล ส่วนไฟโตสเตอรอลในรูป steryl ester เชื่อว่าเป็นสารสะสม (storage product) ของพืช ซึ่งสามารถพบได้ใน cytosol, droplets และ vesicle ในเซลล์พืช steryl ester สามารถพบได้ในผนังเซลล์และเมล็ดพืชน้ำมัน เช่น ergosteryl stigmasteryl และ  $\beta$ -sitosteryl esters. ในน้ำมันจาก evening primrose avocado rapeseed canola ข้าวโพด ถั่วลิสงและดอกทานตะวันพบ steryl ester มากถึงร้อยละ 50-70 น้ำมันจาก borage มะกอก งา มะพร้าว และ cottonseed พบ steryl ester ร้อยละ 30-50 ส่วนน้ำมัน safflower ปาล์ม และถั่วเหลืองพบ steryl ester น้อยกว่าร้อยละ 30 (Verleyen *et al.*, 2002) นอกจากชนิดของพืชแล้วกระบวนการผลิตน้ำมันและฤดูกาลเพาะปลูกยังส่งผลต่อปริมาณ steryl ester เช่นกัน (Phillips *et al.*, 2002) steryl glycoside ส่วนใหญ่มักพบใน microsomal fraction และมีส่วนเกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สเตอรอยด์ในพืช (Peng *et al.*, 2002) ส่วน acylated steryl glycoside สามารถพบได้ใน mitochondria จากการศึกษาน้ำมันพืชมากกว่า 48 ชนิด พบว่า acylated steryl glucoside สามารถพบได้ในปริมาณ 1 - 125 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสดในส่วนต่างๆของพืชเช่น ผล หัว ราก ก้าน ใบ และเมล็ด (Sugawara and Miyazawa, 1999).

### การสังเคราะห์ไฟโตสเตอรอล

ในกระบวนการสังเคราะห์สารประกอบไทรเทอร์พีนทุกชนิดจะเริ่มต้นด้วยการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ HMG-CoA ซึ่งมีคาร์บอน 6 อะตอมไปสู่ mevalonate คาร์บอน 5 อะตอม จากนั้น mevalonate 6 โมเลกุลรวมตัวกันเป็น farnesyl diphosphate 2 โมเลกุล ซึ่งรวมตัวกันเป็น squalene ที่มีคาร์บอน 30 อะตอม จากนั้นปฏิกิริยาทางเอนไซม์ทำให้วงแหวนปิดเกิดเป็น cycloartenol (คาร์บอน 30 อะตอม) และเกิดเป็นไทรเทอร์พีนของพืช ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การสังเคราะห์ไฟโตสเตอรอลและไตรเทอร์พีนชนิดต่างๆ

ที่มา : Moreau *et al.* (2002)

### แหล่งที่พบไฟโตสเตอรอล

ในต่างประเทศได้มีการศึกษาถึงไฟโตสเตอรอลที่มีในพืชต่าง ๆ โดยเฉพาะในเมล็ดพืช น้ำมัน จากการศึกษไฟโตสเตอรอลของ Yang *et al.* (2001) พบว่าผลของแหล่งเพาะปลูกและเวลา การเก็บเกี่ยวมีผลต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลในผลของ Sea Buckthorn ขณะที่ Piironen *et al.* (2002) ศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอลในธัญพืชและผลิตภัณฑ์ พบว่าข้าวไร (rye) มีปริมาณไฟโตสเตอรอล สูงสุด (95.5 มิลลิกรัม/ 100 กรัม) เมื่อเทียบกับ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และข้าวโอ๊ตซึ่งมีไฟโต- สเตอรอลเฉลี่ย 76.1, 69.0 และ 44.7 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ตามลำดับ Mazzuca and Balzaretto (2003) พบไฟโตสเตอรอลในเมล็ดของพืชตระกูล Patagonian prosopis และ Piironen *et al.* (2003) พบว่า ในผักสดมีปริมาณไฟโตสเตอรอลเฉลี่ย 51-370 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดยในบร็อกโคลี่ กะหล่ำปลม (Brussels sprouts) กะหล่ำดอก (Cauliflower) และคิล (dill) มีปริมาณไฟโตสเตอรอลมากกว่า 30 มิลลิกรัม/ 100 กรัม ขณะที่พบไฟโตสเตอรอลในมันฝรั่งเพียง 5.1 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งให้ผล

เช่นเดียวกับ Normén *et al.* (1999) และ Dhanasettakorn (2002) สำหรับในผลไม้สด Piironen *et al.* (2003) พบว่ามีไฟโตสเตอรอลเฉลี่ย 11.6-22.8 มิลลิกรัม/100 กรัม โดยในอะโวคาโดมีสูงถึง 75.2 มิลลิกรัม/100 กรัม Jeong and Lachance (2001) ศึกษาพบ sitosterol campesterol stigmasterol และ Fucosterol ในลูกและต้นมะเดื่อ (fig) ไฟโตสเตอรอลยังสามารถพบได้ในเห็ด โดยจากการศึกษาของ Mattila *et al.* (2002) พบ Ergosterol ในเห็ดที่เพาะและเห็ดป่า และ Elenkov *et al.* (1999) พบ สเตอรอลในฟองน้ำทะเล (Sea sponges) สำหรับในประเทศไทย Dhanasettakorn (2002) ได้รายงาน การศึกษาไฟโตสเตอรอลในผักสวนครัวทั่วไป พบว่ามีปริมาณไฟโตสเตอรอลโดยเฉลี่ย 4-540 มิลลิกรัม /100 กรัม น้ำหนักรับประทาน โดยข้าวโพดฝักอ่อนมีปริมาณไฟโตสเตอรอลสูงสุด นอกจากนี้ยังมีการศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอลจากแหล่งอื่นดังตารางที่ 1-3 นอกจากนี้ในทางอุตสาหกรรม ไฟโตสเตอรอลนั้นสามารถผลิตขึ้นได้หลายวิธี ซึ่งโดยทั่วไปมักใช้กระบวนการกำจัดกลิ่น (deodorization) ของน้ำมันพืชระหว่างกระบวนการ refining ไฟโตสเตอรอลจะถูกสกัดออกมาพร้อมกับวิตามินอี และทำให้เข้มข้นด้วยการกลั่นโมเลกุล (molecular distillation) กระบวนการดังกล่าว สามารถผลิตไฟโตสเตอรอลได้ในอัตราส่วน 1 : 2500 ส่วน นอกจากกระบวนการดังกล่าวยังสามารถผลิตไฟโตสเตอรอลได้จาก tall oil ซึ่งเป็นส่วนที่ละลายในไขมัน (fat-soluble fraction) ในขั้นตอนการไฮโดรไลซ์ (hydrolyte) ของกระบวนการทำเยื่อกระดาษ (pulp) จากต้น pine และ ต้นไม้ชนิดอื่น ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการดังกล่าวให้ผลผลิตไฟโตสเตอรอลสูง (ประมาณร้อยละ 20) กว่ากระบวนการที่ผลิตจากน้ำมันพืช (Quilez *et al.*, 2003; Anonymous, 2000)

ตารางที่ 1 ไฟโตสเตอรอลในวัตถุดิบต่างๆ (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก)

| วัตถุดิบ                                 | $\beta$ -Sitosterol | Campesterol | Stigmasterol | อ้างอิง                       |
|------------------------------------------|---------------------|-------------|--------------|-------------------------------|
| <i>Calendula officinalis</i><br>(leaves) | 3.470               | 0.247       | 10.396       | Adler and Kasprzyk, 1974      |
| Rapeseed oil                             | 374.8               | 242.0       | 2.8          | Toivo <i>et al.</i> , 2001    |
| Sunflower kernel                         | 128.3               | 19.0        | 20.7         | Toivo <i>et al.</i> , 2001    |
| Corn meal                                | 52.7                | 13.4        | 6.2          | Toivo <i>et al.</i> , 2001    |
| Onion, dry                               | 45.8                | 5.6         | 3.4          | Toivo <i>et al.</i> , 2001    |
| Riceflour                                | 15                  | 4.0         | 3.5          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Cornflour                                | 31                  | 11          | 0.7          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Rice, brown, cooked                      | 16                  | 6.0         | 4.8          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Rice, jasmine, cooked                    | 15                  | 3.1         | 2.4          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Rice, parboiled, cooked                  | 28                  | 7.5         | 0            | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Rye, crushed grains                      | 42                  | 14          | 2.4          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Rye flour                                | 48                  | 17          | 3.3          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Wheat, crushed grain                     | 38                  | 11          | 1.3          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Whole wheat flour                        | 44                  | 14          | 1.7          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Wheat flour                              | 19                  | 4.7         | 4.4          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Wheat germs                              | 230                 | 94          | 3.2          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Wheat bran                               | 99                  | 36          | 7.2          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Oat bran                                 | 36                  | 6.3         | 1.7          | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Pasta, cooked                            | 22                  | 6.1         | 0            | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Bread                                    | 18-50               | 6.8-20      | 0.6-4.9      | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Biscuits, Cake, Crackers,<br>Sweet bread | 16-62               | 6-48.1      | 0-5.9        | Normén <i>et al.</i> , 2002   |
| Barley                                   | 43.7-48.4           | 15.0-19.2   | 2.4-3.6      | Piironen <i>et al.</i> , 2002 |

ตารางที่ 1 (ต่อ)

| วัตถุดิบ         | $\beta$ -Sitosterol | Campesterol | Stigmasterol | อ้างอิง                       |
|------------------|---------------------|-------------|--------------|-------------------------------|
| Oats             | 27.4                | 3.7-4.3     | 1.5-1.7      | Piironen <i>et al.</i> , 2002 |
| Rye              | 45.6-49.7           | 16.2-18.3   | 3.3-3.4      | Piironen <i>et al.</i> , 2002 |
| Wheat            | 36.0-36.8           | 10.8-12.1   | 1.6-2.2      | Piironen <i>et al.</i> , 2002 |
| Broccoli         | 31                  | 6.9         | 1.1          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Brussels sprouts | 34                  | 8.0         | 0.38         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Carrot           | 11                  | 2.2         | 2.8          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Cauliflower      | 26                  | 9.5         | 3.7          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Celeriac         | 8.9                 | 2.7         | 8.6          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Celery           | 7.3                 | 2.7         | 7.0          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Chinese cabbage  | 6.8                 | 1.6         | 0.03         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Fennel           | 5.1                 | 0.35        | 4.3          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Kale             | 7.4                 | 0.91        | 0.38         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| เห็ด             | -                   | 18          | -            | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Olives, green    | 34                  | 1.1         | 0.29         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Olives, black    | 48                  | 1.4         | nd           | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Onion            | 7.0                 | 0.82        | 0.57         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Parsnip          | 18                  | 2.8         | 7.3          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Pepper, green    | 4.9                 | 2.0         | 0.33         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Potato           | 2.7                 | 0.23        | 0.38         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Radish           | 4.4                 | nd          | nd           | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Sauerkraut       | 11                  | 3.2         | 0.09         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Swedish turnip   | 14                  | 3.3         | 0.26         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Tomato           | 2.4                 | 0.28        | 1.7          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| White cabbage    | 9.4                 | 2.8         | 0.2          | Normén <i>et al.</i> , 1999   |

ตารางที่ 1 (ต่อ)

| วัตถุดิบ              | $\beta$ -Sitosterol | Campesterol | Stigmasterol | อ้างอิง                       |
|-----------------------|---------------------|-------------|--------------|-------------------------------|
| Leek                  | 7.3                 | 0.61        | 0.06         | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| Almond                | 143.4               | 4.9         | 5.0          | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Brazil nut            | 65.5                | 2.0         | 6.2          | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Chocolate             | 103.9               | 14.1        | 39.8         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Cashew                | 112.6               | 8.9         | <1.2         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Flaxseed              | 96                  | 49.7        | 14.2         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Hazelnut              | 102.2               | 6.6         | <2.5         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Macadamia nut         | 143.7               | 9.6         | nd           | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Peanut, dry roasted   | 76.8                | 13.2        | 12.1         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Pecan                 | 116.5               | 5.9         | 2.6          | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Pine nut              | 132.0               | 19.8        | <1.7         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Pinon nut             | 104.4               | 13.7        | <1.7         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Pistachio             | 209.8               | 10.1        | 2.3          | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Poppy seed            | 109.3               | 29.0        | 6.8          | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Pumpkin seed kernel   | 13.1                | 3.4         | nd           | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Sesame seed           | 231.7               | 53.1        | 22.2         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Sunflower seed kernel | 165.1               | 22.8        | 18.0         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Walnut, black         | 114.4               | 4.7         | <1.7         | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Walnut, English       | 88.9                | 4.9         | nd           | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |
| Wheat germ            | 228.6               | 78.7        | 3.9          | Phillips <i>et al.</i> , 2005 |

หมายเหตุ na หมายถึง not available

nd หมายถึง not detected

ตารางที่ 2 ไฟโตสเตอรอลในวัตถุดิบต่างๆ (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

| วัตถุดิบ           | $\beta$ -Sitosterol | Campesterol | Stigmasterol | อ้างอิง                       |
|--------------------|---------------------|-------------|--------------|-------------------------------|
| Oat                | 237-321             | 32-46       | 11-21        | Määttä <i>et al.</i> , 1999   |
| ผักกาดขาว          | 120.7               | 20.4        | 1.2          | Dhanasettakorn , 2002         |
| กะหล่ำปลี          | 77.0                | 24.5        | 1.8          | Dhanasettakorn , 2002         |
| ผักนึ่งไทย(ยอดขาว) | 83.6                | 23.4        | 21.2         | Dhanasettakorn , 2002         |
| ดอกกะหล่ำ          | 184.4               | 55.4        | 28.3         | Dhanasettakorn , 2002         |
| หัวปลี             | 114.4               | 56.3        | 105.8        | Dhanasettakorn , 2002         |
| ถั้วผักยาว         | 114.6               | 22.9        | 60.7         | Dhanasettakorn , 2002         |
| ถั้วพู             | 61.5                | 20.0        | 46.6         | Dhanasettakorn , 2002         |
| บวบหอม             | 160.4               | 9.2         | 4.5          | Dhanasettakorn , 2002         |
| บวบเหลี่ยม         | 77.6                | 0.6         | 0.9          | Dhanasettakorn , 2002         |
| มะระจีน            | 130.7               | 78.6        | 27.6         | Dhanasettakorn , 2002         |
| มะเขือเปราะ        | 41.9                | 5.8         | 30.5         | Dhanasettakorn , 2002         |
| ข้าวโพดอ่อน        | 195.2               | 40.7        | 60.6         | Dhanasettakorn , 2002         |
| Broccoli           | 285                 | 67          | 8            | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Brussels sprouts   | 277                 | 71          | 3            | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Carrot             | 104                 | 20          | 27           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Cauliflower        | 216                 | 72          | 16           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Chinese cabbage    | 103                 | 22          | 2            | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Cucumber           | Trace               | nd.         | nd.          | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Dill               | 155                 | 16          | 133          | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Leek               | 166                 | 13          | nd.          | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Onion, yellow      | 70                  | 6           | 12           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Parsley            | 136                 | 12          | 115          | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Pea                | 212                 | 36          | 12           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Potato             | 32                  | Trace       | 3            | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Potted lettuce     | 37                  | 6           | 24           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Red beet           | 91                  | 6           | 57           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |

ตารางที่ 2 (ต่อ)

| วัตถุดิบ           | $\beta$ -Sitosterol | Campesterol | Stigmasterol | อ้างอิง                       |
|--------------------|---------------------|-------------|--------------|-------------------------------|
| Swede              | 103                 | 27          | nd.          | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Sweet pepper, red  | 164                 | 42          | 2            | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Tomato             | 33                  | 5           | 16           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| White cabbage      | 114                 | 31          | nd.          | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Bean, frozen       | 54                  | 8           | 36           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Spinach, frozen    | Trace               | 2           | Trace        | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |
| Sweet corn, frozen | 152                 | 54          | 15           | Piironen <i>et al.</i> , 2003 |

หมายเหตุ na หมายถึง not available

nd หมายถึง not detected

ตารางที่ 3 ไฟโตสเตอรอลในน้ำมันชนิดต่างๆ (มิลลิกรัม/100 กรัมไขมัน)

| วัตถุดิบ                  | $\beta$ -Sitosterol | Campesterol | Stigmasterol  | อ้างอิง                        |
|---------------------------|---------------------|-------------|---------------|--------------------------------|
| Pumpkin seed oil          | 8-120               | na          | na            | Mandl <i>et al.</i> , 1999     |
| American ginseng seed oil | 152.59-186.42       | 9.96-12.38  | 110.45-113.24 | Beveridge <i>et al.</i> , 2002 |
| Walnuts                   | 109.3-175.7         | 6.1-10.8    | 0.5-0.8       | Amaral <i>et al.</i> , 2003    |
| Patagonian Prosopis seed  | 6560-7060           | 850-1950    | 1230-1740     | Mazzuca and Balzaretto, 2003   |

หมายเหตุ na หมายถึง not available

nd หมายถึง not detected

### ไฟโตสเตอรอลและคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย

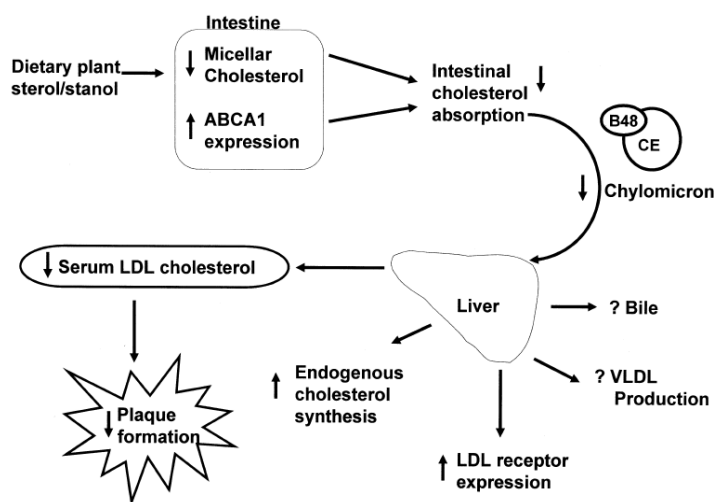
ตั้งแต่ช่วงปีค.ศ.1950 มีการนำไฟโตสเตอรอลมาใช้เป็นยาและอาหารเสริมสำหรับลดระดับคลอเรสเตอรอลในผู้ป่วยที่มีระดับคลอเรสเตอรอลสูง ซึ่งไฟโตสเตอรอลที่นำมาใช้จะอยู่ในรูป  $\beta$ -sitosterol (Hicks and Moreau, 2001; IFST, 2000) แต่เนื่องจากไฟโตสเตอรอลและไฟโตสทานอลอิสระมีลักษณะเป็นผลึกและความสามารถในการละลายต่ำทำให้ต้องบริโภคมากถึง 25 กรัม/วัน และจากสมบัติดังกล่าวทำให้เป็นข้อจำกัดในการนำมาประยุกต์ใช้ในอาหาร นอกจากนั้นลำไส้เล็กมีความสามารถดูดซึมไฟโตสเตอรอลได้น้อย (ร้อยละ 0.4-3.5) ในขณะที่การดูดซึมไฟโตสทานอลยิ่งต่ำกว่า (ร้อยละ 0.02-0.3) ในทางกลับกันร่างกายสามารถดูดซึมคลอเรสเตอรอลได้มากถึงร้อยละ 35-70 (Jong *et al.*, 2003) ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงไม่มีการศึกษากลไกและทำความเข้าใจเกี่ยวกับไฟโตสเตอรอลอย่างจริงจังในการใช้เป็นองค์ประกอบในอาหารจนถึงช่วงปีค.ศ. 1990 นักวิจัยพบว่าไฟโตสเตอรอลที่อยู่ในรูปละลายได้ในไขมันมีประสิทธิภาพสูงในการลดคลอเรสเตอรอลในเลือดมากกว่ารูปที่เป็นผลึก (Quilez *et al.*, 2003) จึงมีการแปลงไฟโตสเตอรอลให้อยู่ในรูป ไฟโตสเตอรอลและไฟโตสทานอล เอสเทอร์ ซึ่งมีความสามารถในการละลายในไขมันสูงและเอนไซม์ในลำไส้สามารถย่อยให้อยู่ในรูปอิสระในระหว่างกระบวนการย่อยอาหาร (Hicks and Moreau, 2001; Moreau *et al.*, 2002; IFST, 2000) ดังนั้นจึงมีการนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น มาการีน และน้ำสลัด (Hicks and Moreau, 2001; Clifton, 2002) จากรายงานการวิจัยพบว่าการบริโภคไฟโตสเตอรอลและไฟโตสทานอลอิสระ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรูปของ  $\beta$ -sitosterol สามารถลดการดูดซึมคลอเรสเตอรอลในลำไส้เล็ก ทำให้ระดับของคลอเรสเตอรอลทั้งหมดและ low density lipoprotein cholesterol (LDL-Cholesterol) ในเลือดลดลง ซึ่งสามารถลดอัตราความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือด และเส้นเลือดหัวใจตีบตันทั้งในมนุษย์และสัตว์ (Du and Ahn, 2002; Määtä *et al.*, 1999; Piironen *et al.*, 2002; Toivo *et al.*, 2001; Clifton, 2002; IFST, 2000; Hicks and Moreau, 2001) Seki *et al.* (2003) รายงานว่าการบริโภคไฟโตสเตอรอล เอสเทอร์เพียง 0.45 กรัม/วัน (ไฟโตสเตอรอลอิสระ) สามารถลดคลอเรสเตอรอลในเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังพบว่าไฟโตสเตอรอลสามารถชะลอการเจริญเติบโตของมะเร็งในลำไส้ใหญ่ (Määtä *et al.*, 1999; Piironen *et al.*, 2002; Toivo *et al.*, 2001) ไฟโตสเตอรอลมีประสิทธิภาพในการลดระดับ LDL-Cholesterol โดยไม่ส่งผลกระทบต่อระดับของ HDL-Cholesterol และไตรกลีเซอไรด์ และให้ผลที่ไม่แตกต่างกันทั้งในผู้ป่วยที่มีระดับคลอเรสเตอ-

รอลสูงและระดับ คอเรสเตอรอลปกติโดยระดับของ LDL-Cholesterol ในเลือดจะลดลง ร้อยละ 8-15 เมื่อบริโภคไฟโตสเตอรอลในปริมาณ 1.5-3 กรัม/วัน จากการทดลองไฟโตสเตอรอลในตัวกลางที่แตกต่างกัน ทั้งในอาหารที่เป็นระบบไขมันและอาหารไขมันต่ำเมื่อส่วนประกอบอาหาร (food matrix) สามารถละลายไฟโตสเตอรอลได้ดี พบว่าประสิทธิภาพในการลด LDL-Cholesterol ของไฟโตสเตอรอล และไฟโตสแตนอลให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการบริโภคน้ำมันพืชที่มีปริมาณไฟโตสเตอรอลสูง จะทำให้ร่างกายลดการดูดซึม คอเรสเตอรอลอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อศึกษาผลของชนิดไฟโตสเตอรอลต่อประสิทธิภาพในการลดคอเรสเตอรอลพบว่า 4,4-dimethylsterols ไม่มีผลหรือส่งผลน้อยต่อการลดคอเรสเตอรอล และยังไม่มีการศึกษาใน 4- $\alpha$ -methylsterols และ steryl glycoside นอกจากนี้การใช้ไฟโตสเตอรอลในการรักษาผู้ป่วยที่มีระดับคอเรสเตอรอลสูงร่วมกับยาชนิดอื่น (statins และ cholestyramine) สามารถลดระดับคอเรสเตอรอลได้ถึงร้อยละ 67 (Quilez *et al.*, 2003)

ในประเทศสหรัฐอเมริกาองค์กร A panel of independent expert (Hicks and Moreau, 2001) สรุปว่า สเตอรอลเอสเทอร์จากน้ำมันพืช ปลอดภัยสำหรับการบริโภคและเป็นส่วนประกอบในอาหาร โดยต้องมีปริมาณไม่เกินร้อยละ 20 กำหนดให้เป็น GRAS ต่อมาสำนักงานอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) อนุญาตให้ผลิตภัณฑ์ที่มีไฟโตสเตอรอลหรือไฟโตสแตนอลเอสเทอร์เป็นองค์ประกอบกล่าวอ้างได้ว่าการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีไฟโตสเตอรอลเป็นส่วนประกอบสามารถลดความเสี่ยงในการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ (health claim) (Hicks and Moreau, 2001; Moreau *et al.*, 2002; IFST, 2000) ส่งผลให้เกิดการตื่นตัวในการบริโภคและผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ตัวอย่างเช่น สเปรด, น้ำสลัด อาหารว่าง และอาหารเสริม (dietary supplements) ไฟโตสแตนอลเอสเทอร์ และ สเปรดและน้ำสลัดเสริมไฟโตสเตอรอลเอสเทอร์ (Hicks and Moreau, 2001)

## 1 ผลของไฟโตสเตอรอลและไฟโตสทานอลต่อการดูดซึมคอเลสเตอรอลในลำไส้เล็ก

ทฤษฎีต่างๆ ได้ถูกเสนอขึ้นเพื่ออธิบายกลไกในการลดระดับคอเลสเตอรอลของไฟโตสเตอรอลและไฟโตสทานอล โดยทฤษฎีแรกได้กล่าวว่าไฟโตสเตอรอลและไฟโตสทานอลอาจเข้าแทนที่คอเลสเตอรอลใน bile salt/phospholipids micelles ซึ่งทำหน้าที่ขนส่งไขมันและคอเลสเตอรอลเข้าสู่ mucosa ที่บริเวณลำไส้เล็ก เนื่องจากไฟโตสเตอรอลและไฟโตสทานอลมีสมบัติไม่ชอบน้ำมากกว่าคอเลสเตอรอลจึงสามารถจับตัวกับ micelles ที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำได้ดี ส่งผลให้ปริมาณคอเลสเตอรอลใน micelles ลดลง และปริมาณคอเลสเตอรอลที่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็กจึงลดลงเช่นกัน สำหรับคอเลสเตอรอลที่ไม่สามารถจับกับ micelles เกิดการตกตะกอนและถูกกำจัดผ่านระบบขับถ่าย (Quilez *et al.*, 2003; Jong *et al.*, 2003) ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ผลของไฟโตสเตอรอลและไฟโตสทานอลต่อเมตาบอลิซึมของไขมันและไลโปโปรตีน  
ที่มา : Jong *et al.* (2003)

คลอเรสเตอรอลในร่างกายนั้นมาจากการบริโภคอาหารในแต่ละวันโดยเฉลี่ย 200-500 มิลลิกรัม/วัน และที่ร่างกายสามารถผลิตได้ถึง 1 กรัม/วัน โดยผ่านการ enterohepatic circulation (Quilez *et al.*, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าไฟโตสเตอรอลและไฟโตสแตนอลยังมีผลต่อระดับคลอเรสเตอรอลหลังบริโภคหลายชั่วโมง จากรายงานวิจัยพบว่าการบริโภคไฟโตสแตนอลเอสเทอร์วันละครั้งให้ผลไม่แตกต่างกับการบริโภคในปริมาณที่เท่ากันแต่แบ่งออกเป็นสามครั้ง/วัน อาจเป็นไปได้ว่าไฟโตสแตนอลอาจคงอยู่ในลำไส้เล็กสักระยะหลังบริโภค หรือไฟโตสแตนอลที่อยู่ใน enterocyte มีผลกระทบต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารจำพวกไลโปโปรตีน (lipoprotein) เมตาบอลิซึมในลำไส้เล็ก (Jong *et al.*, 2003)

## **2 ผลของไฟโตสเตอรอลและไฟโตสแตนอลต่อเมตาบอลิซึมของไขมันและไลโปโปรตีน**

จากการศึกษาในช่วงต้นกล่าวว่าไฟโตสแตนอลนั้นมีประสิทธิภาพในการลดคลอเรสเตอรอลได้ดีกว่าไฟโตสเตอรอล ต่อมาได้มีงานวิจัยอีกหลายชิ้นยืนยันว่าประสิทธิภาพของสารทั้งสองชนิดในรูปเอสเทอร์นั้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เนื่องจากการบริโภคไฟโตสเตอรอลและไฟโตสแตนอลนั้นส่งผลให้การดูดซึมคลอเรสเตอรอลลดลง กระบวนการสังเคราะห์คลอเรสเตอรอลสูงขึ้น ทำให้ LDL receptor mRNA protein expression สูงขึ้น ซึ่งผลดังกล่าวไม่เพียงแต่ลดจำนวน LDL คลอเรสเตอรอล ลง แต่ยังลดจำนวน IDL ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ LDL คลอเรสเตอรอลด้วยเช่นกัน จากการศึกษาของ Gylling *et al.* (1999) พบว่าการบริโภค ไฟโตสเตอรอลหรือไฟโตสแตนอล 2-2.5 กรัม/วัน สามารถลดการดูดซึมคลอเรสเตอรอล ในขณะที่มีการแสดงออกของ LDL receptor เพิ่มขึ้น และร่างกายมีการสังเคราะห์คลอเรสเตอรอลมากขึ้น ซึ่งส่งผลให้ระดับของ LDL คลอเรสเตอรอลมาดลงเฉลี่ยร้อยละ 14 โดยที่ไฟโตสเตอรอลและไฟโตสแตนอลไม่ส่งผลต่อระดับ triacylglycerol หรือ HDL คลอเรสเตอรอล (Jong *et al.*, 2003)

### ผลของการบริโภคไฟโตสเตอรอลต่อวิตามินที่ละลายในไขมัน

ปริมาณการบริโภคไฟโตสเตอรอลขึ้นกับลักษณะการบริโภคของแต่ละบุคคล ในแถบตะวันตกได้รับไฟโตสเตอรอลจากการบริโภคอาหารเฉลี่ย 170-250 มิลลิกรัม/วัน และอาจมากถึง 360 มิลลิกรัม/วัน ในอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากผัก ในขณะที่ขมิ้นขาวญี่ปุ่นและกลุ่มผู้บริโภคมังสวิรัตบริโภคไฟโตสเตอรอลมากถึง 300-500 มิลลิกรัม/วัน ซึ่งมักได้จากการบริโภค น้ำมันพืชและมาการีน (100-500 มิลลิกรัม/100 กรัม) ธัญพืช (เช่น งาและเมล็ดทานตะวัน 500-700 มิลลิกรัม/100 กรัม) และพืชตระกูลถั่ว (220 มิลลิกรัม/100 กรัม) ส่วนผักและผลไม้มีเพียงปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น (IFST, 2000; Hicks and Moreau, 2001; Clifton, 2002; Quilez *et al.*, 2003)

จากรายงานการศึกษาวิจัยพบว่า การบริโภคไฟโตสเตอรอลส่งผลต่อการลดการดูดซึม  $\beta$ -carotene lycopene และ  $\alpha$ -tocopherol (Hicks and Moreau, 2001; Moreau *et al.*, 2002; Hallikainen *et al.*, 1999) Gylling *et al.* (1999) พบว่าระดับและการดูดซึมคอเลสเตอรอลมีผลต่อระดับของเบต้า-แคโรทีนและอัลฟา-โทโคเฟอรอลในร่างกาย โดยทดสอบให้ผู้ป่วยคอเลสเตอรอลสูง 102 คนบริโภคมาร์جرينที่มีการเสริมซิโตสเตอรอล เอสเทอร์ Hendrick *et al.* (1999) แนะนำว่าการบริโภคสเตอรอลเอสเทอร์เพื่อลดคอเลสเตอรอลโดยไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณแคโรทีนอยด์ในเลือด คือการบริโภคเฉลี่ยวันละ 1.6 กรัม/วัน Noakes *et al.* (2002) ให้ความเห็นว่าควรบริโภคผักและผลไม้ที่มีเบต้า-แคโรทีนสูง เมื่อบริโภคสเปรด (spread) ที่มีไฟโตสเตอรอลและไฟโตสเตอรอลเอสเทอร์เพื่อที่จะคงระดับแคโรทีนอยด์พร้อมกับลดคอเลสเตอรอลในเลือด Jong *et al.* (2003) รายงานว่าการบริโภคไฟโตสเตอรอล 3.8-4.0 /วันในรูปของ fatty acid ester ทำให้ลดระดับของแคโรทีนอยด์และ โทโคเฟอรอล หลายชนิด เนื่องจากอนุภาค LDL ซึ่งเป็นตัวนำพาสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในไขมันเหล่านี้ในระบบเลือดลดลง และหลังจากการบริโภคไฟโตสเตอรอลและไฟโตสเตอรอลพบว่าระดับของ hydrocarbon carotenoids ( $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene และ lycopene) ลดลงเนื่องจากการดูดซึมคอเลสเตอรอลลดลง ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงของ oxygenated carotenoids (lutein, zeaxanthin และ cryptoxanthin) และ โทโคเฟอรอลมีความสัมพันธ์กับการลดลงของระดับ LDL-cholesterol ในเลือด ดังนั้นการบริโภคไฟโตสเตอรอลและไฟโตสเตอรอลส่งผลต่อการดูดซึมของ hydrocarbon carotenoids เท่านั้น Jong *et al.* (2003) ยังพบว่าการบริโภคไฟโตสเตอรอลและไฟโตสเตอรอลไม่ส่งผลกระทบต่อระดับของ

retinol หรือวิตามินเอ และวิตามินดี ในเลือด เนื่องจากการดูดซึมหรือสังเคราะห์วิตามินที่ละลายในไขมันเหล่านี้ไม่เกี่ยวข้องกับ lipoproteins เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Colgan *et al.*, 2004 พบว่าการบริโภคสเปิร์ดไขมันต่ำที่เสริมไฟโตสเตอรอลเอสเทอร์ ส่งผลให้ระดับ  $\beta$ -carotene ในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่ส่งผลต่อระดับ retinal  $\alpha$ -carotene  $\gamma$ -tocopherol  $\alpha$ -tocopherol lutein zeaxanthin  $\beta$ -cryptoxanthin หรือ lycopene ในขณะที่ผลของการบริโภคไฟโตสเตอรอลและไฟโต-สแตนอลต่อวิตามิน เคนั้นยังไม่ชัดเจนแต่จากรายงานของ Hendricks *et al.* (1999) และรายงานการศึกษาเบื้องต้นของ Jong *et al.* (2003) ยังไม่พบว่าการบริโภคไฟโตสเตอรอลและไฟโตสแตนอลส่งผลต่อระดับของวิตามินเคในเลือดแต่อย่างใด

### การวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลเชิงปริมาณและคุณภาพ

#### 1. การเตรียมวัตถุดิบ

การเตรียมวัตถุดิบสำหรับการสกัดสเตอรอลมักนิยมดังนี้

- 1.1 สกัดวัตถุดิบสดโดยตรงหลังจากการหั่น สับ หรือบดให้ละเอียด
- 1.2 บดผสมวัตถุดิบสดพร้อมกับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด
- 1.3 บดผสมวัตถุดิบสดที่ผ่านการแช่แข็งพร้อมกับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด
- 1.4 ทำแห้งวัตถุดิบด้วยความร้อน และบดให้ละเอียดก่อนนำไปสกัดหรือบดผสมพร้อมกับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด
- 1.5 ทำแห้งวัตถุดิบด้วยการทำแห้งแบบระเหิด และบดให้ละเอียดก่อนการสกัด

จากวิธีการที่กล่าวมาข้างต้นในตัวอย่างวัตถุดิบที่เป็นพืชมักนิยมใช้วัตถุดิบสดสกัดโดยตรง หลังจากการหั่น สับ หรือบดให้ละเอียด หรือทำแห้งวัตถุดิบก่อนการสกัดเท่านั้น นอกจากนี้การทำแห้งวัตถุดิบด้วยความร้อนอาจส่งผลให้วัตถุดิบเกิดการเปลี่ยนแปลง หรือการเกิดออกซิเดชันได้ ทำให้ปริมาณสเตอรอลที่วิเคราะห์ได้ลดลง ปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการทำแห้งแบบระเหิด แต่อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวมักไม่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก

(Goad and Akihisa, 1997)

## 2. ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

ตัวทำละลายสามารถใช้ตัวทำละลายได้หลายชนิด ตั้งแต่สารที่ไม่มีขั้ว (non-polar) อย่าง hexane จนถึงสารที่มีขั้วสูงอย่าง methanol ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมใช้ได้แก่ chloroform, methylene chloride, acetone, chloroform-methanol, petroleum ether และ hexane นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดวัตถุดิบแห้งได้ด้วยการเติมน้ำเพียงเล็กน้อย (ร้อยละ 2-7) ลงในตัวทำละลาย (Goad and Akihisa, 1997; Abidi, 2001)

## 3. การสกัดและแยกส่วนไฟโตสเตอรอล

เทคนิคในการแยกและสกัดไฟโตสเตอรอลนั้นแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับลักษณะและสมบัติของวัตถุดิบตั้งแต่ของแข็งจนถึงของเหลว (ตารางที่ 4) ซึ่งไฟโตสเตอรอลจากเนื้อเยื่อหรือเมล็ดพืชสามารถสกัดด้วยตัวทำละลายเช่นเดียวกับการสกัดไขมันทั่วไป เช่น chloroform-methanol, hexane, methylene chloride, acetone (Abidi, 2001) หรือ light petroleum (Mazzuca and Balzaretti, 2003) ซึ่งตัวทำละลายไม่มีขั้วเช่น เฮกเซน สามารถสกัดไฟโตสเตอรอลอิสระและ phytosteryl fatty-acid esters จากการศึกษาระดับปริมาณไฟโตสเตอรอลอิสระ phytosteryl fatty-acid esters และ ferulate phytosteryl esters จากกากข้าวโพดด้วยตัวทำละลายสี่ชนิด คือ เฮกเซน methylene chloride ethanol และ isopropanol พบว่าตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถสกัดไฟโตสเตอรอลทั้งสามชนิดได้มากกว่าร้อยละ 95 (Moreau *et al.*, 1996) แม้กระนั้นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วสามารถสกัด steryl glycoside และ fatty-acylated steryl glycoside ได้เพียงบางส่วนเท่านั้น แต่เมื่อเพิ่มความเป็นขั้วของตัวทำละลายสามารถสกัดสารดังกล่าวได้มากขึ้น นอกจากนี้การย่อยสลายด้วยกรด (acid hydrolysis) หรือด่าง (alkaline hydrolysis or saponification) สามารถสกัดไฟโตสเตอรอลและไฟโตสเตอรอลอิสระได้มากขึ้นเช่นกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากสามารถสกัดไฟโตสเตอรอลที่ยึดเกาะอยู่ในเนื้อเยื่อพืชบางชนิด

ตารางที่ 4 วิธีการสกัดและวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอล

| วัตถุดิบ                                                         | Hydrolysis |      | Method        | Derivatization | Purification<br>method | Column              | อ้างอิง                       |
|------------------------------------------------------------------|------------|------|---------------|----------------|------------------------|---------------------|-------------------------------|
|                                                                  | Alkaline   | Acid |               |                |                        |                     |                               |
| <i>Calendula officinalis</i>                                     | ✓          | ✓    | GLC           | -              | TLC                    | na.                 | Adler and Kasprzyk, 1974      |
| น้ำมันพืช                                                        | ✓          | -    | GC-FID, GC-MS | ✓              | -                      | DB-1701             | Dutta and Normén, 1998        |
| ข้าวโอ๊ต                                                         | ✓          | ✓    | GC-FID, GC-MS | ✓              | -                      | DB-5MS              | Määttä <i>et al.</i> , 1999   |
| ผัก                                                              | ✓          | ✓    | GC-FID        | ✓              | -                      | na.                 | Normén <i>et al.</i> , 1999   |
| น้ำมันเมล็ดฟักทอง                                                | ✓          | -    | GC-FID, GC-MS | ✓              | Silica gel             | HP-35               | Mandl <i>et al.</i> , 1999    |
| ไขมันสัตว์และน้ำมันพืช                                           | ✓          | -    | GC-FID        | -              | -                      | DB-1                | Choong <i>et al.</i> , 1999   |
| <i>Securidaca longipedunculata</i> และ <i>Entada abyssinica</i>  | -          | ✓    | GC-MS         | ✓              | -                      | Ultra-2             | Debella <i>et al.</i> , 2000  |
| น้ำมันพืช มาการิน<br>ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช<br>ผัก ผลไม้ และเบอร์รี่ | ✓          | ✓    | GC-FID, GC-MS | ✓              | SPE                    | RTX-5 <sup>TM</sup> | Piironen <i>et al.</i> , 2000 |

ตารางที่ 4 (ต่อ)

| วัตถุดิบ                                   | Hydrolysis |      | Method            | Derivatization | Purification<br>method | Column              | อ้างอิง                        |
|--------------------------------------------|------------|------|-------------------|----------------|------------------------|---------------------|--------------------------------|
|                                            | Alkaline   | Acid |                   |                |                        |                     |                                |
| แป้งสาลีไม่ขัดสี                           | ✓          | ✓    | GC-FID            | ✓              | SPE                    | na.                 | Toivo <i>et al.</i> , 2000     |
| อาหาร                                      | ✓          | ✓    | GC-FID            | ✓              | -                      | RTX-5 <sup>TM</sup> | Toivo <i>et al.</i> , 2001     |
| ผลและส่วนต้น มะเดื่อ                       | ✓          | -    | GC-FID, GC-<br>MS | ✓              | -                      | DB-17               | Jeong and Lachance, 2001       |
| ธัญพืชและผลิตภัณฑ์                         | ✓          | ✓    | GC-FID            | ✓              | SPE                    | RTX-5 <sup>TM</sup> | Piironen <i>et al.</i> , 2002  |
| อาหารจากธัญพืช                             | ✓          | ✓    | GC-FID            | ✓              | -                      | DB-1701             | Normén <i>et al.</i> , 2002    |
| เห็ด                                       | ✓          | -    | GC-FID            | ✓              | -                      | RTX-5 <sup>TM</sup> | Mattila <i>et al.</i> , 2002   |
| ผัก                                        | ✓          | ✓    | GC-FID            | ✓              | -                      | EC <sup>TM</sup> -1 | Dhanasettakorn, 2002           |
| น้ำมันเมล็ด American<br>ginseng            | ✓          | -    | GC-FID, GC-<br>MS | ✓              | TLC                    | DB-5                | Beveridge <i>et al.</i> , 2002 |
| น้ำมันและไขมัน                             | ✓          | -    | GC-MS             | ✓              | SPE                    | HP 5                | Phillips <i>et al.</i> , 2002  |
| วอลนัท                                     | ✓          | -    | GC-FID, GC-<br>MS | ✓              | SPE, TLC               | DB-5MS              | Amaral <i>et al.</i> , 2003    |
| น้ำมันเมล็ด <i>Patagonian<br/>Prosopis</i> | ✓          | -    | GC-FID, GC-<br>MS | -              | TLC                    | Ultra-2             | Mazzuca and Balzaretti, 2003   |

ตารางที่ 4 (ต่อ)

| วัตถุดิบ                           | Hydrolysis |      | Method                   | Derivatization | Purification<br>method | Column                      | อ้างอิง                        |
|------------------------------------|------------|------|--------------------------|----------------|------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
|                                    | Alkaline   | Acid |                          |                |                        |                             |                                |
| เมสึด blueberry และ<br>lingonberry | ✓          | -    | GC-FID, GC-<br>MS        | ✓              | SPE, TLC               | DB-1701                     | Yang <i>et al.</i> , 2003      |
| Spelt, wheat                       | ✓          | -    | LC/LC-MS                 | -              | SPE                    | C18                         | Rozenberg <i>et al.</i> , 2003 |
| เครื่องคั้และspreads               | -          | -    | HPLC-APCI-<br>MS, GC-FID | -              | -                      | Luna hexyl-<br>phenyl, DB-5 | Mezine <i>et al.</i> , 2003    |
| ลูกเดือยและข้าวไร                  | ✓          | ✓    | GC-FID                   | ✓              | -                      | na                          | Lampi <i>et al.</i> , 2004     |
| ถั่ว และเมสึดพีช                   | ✓          | ✓    | GC-MS                    | ✓              | -                      | RTX-5MS                     | Phillips <i>et al.</i> , 2005  |

หมายเหตุ ✓ หมายถึง กระทำขั้นตอนดังกล่าว  
na หมายถึง not available

เมื่อสกัดไขมันจากตัวอย่างแล้วมักนิยมจะทำการแยกชนิดของไฟโตสเตอรอลจากไขมันประเภทอื่นๆ ซึ่งมักจะแยกโดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟี (liquid chromatography) โดยใช้ silicic acid floridil เป็น solid phase column ในทศวรรษที่ผ่านมาเทคนิคโครมาโตกราฟีถูกแทนที่ด้วย Solid phase extraction (SPE) ซึ่งมีรายงานการใช้ SPE ในการแยก hydroxycinnamate steryl ester ในน้ำมันจากข้าวโพด ดังเช่นในการศึกษาของ Yang *et al.* (2003) ใช้ silica SPE ในการแยกประเภทไขมันจากเมล็ดของ blueberry และ lingonberry (พืชตระกูล *Vaccinium*) โดยใช้ hexane : methyl buthyl ether ในอัตราส่วน 200 : 1 เป็นตัวทำละลายในการแยก wax ester และ sterol ester จากนั้นแยก triacylglycerols ด้วยตัวทำละลาย hexane: methyl buthyl ether อัตราส่วน 96 : 4 และแยกสเตอรอลอิสระด้วยตัวทำละลาย methyl buthyl ether : acetic acid อัตราส่วน 100 : 0.2 นอกจากนี้ยังมีการใช้โครมาโตกราฟีแบบผิวบาง (TLC) แยกชนิดของไฟโตสเตอรอลได้เช่นกัน โดยการหยดตัวอย่างและ develop ด้วยตัวทำละลาย (developing solvent) ที่เหมาะสม จากนั้นจุดแถบไฟโตสเตอรอลที่แยกได้และชะด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมดังเช่นในรายงานของ Adler and Kasprzyk (1974) ใช้ TLC ในการแยก steryl esters, steryl glucoside และ acylated glucoside ที่สกัดได้จาก *Calendula officinalis* ต่อมา Amaral *et al.* (2003) ใช้ TLC ในการแยกส่วนไฟโตสเตอรอลจากวอลนัท 6 สายพันธุ์ โดยใช้ hexane:diethyl ether อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร เป็น developing solvent และใช้ methanol จี๊ดพ่นเพื่อให้เห็นแถบการแยกของสเตอรอล ในปีเดียวกัน Mazzuca and Balzaretta (2003) ศึกษาปริมาณกรดไขมัน สเตอรอลและ สเตอรอยด์ชนิดอื่นๆ ในเมล็ดพืชตระกูล *Patagonian prosopis* species โดยแยกส่วนของสเตอรอลด้วย TLC โดยใช้แผ่นอะลูมิเนียม ฉาบด้วย 0.5 silica gel 60 F<sub>254</sub> ขนาด 20x20 และ developed ด้วย dichloromethane : methanol ในอัตราส่วน 95 : 5 โดยปริมาตร ต่อมา Yang *et al.* (2003) ใช้ TLC แยก wax ester และ sterol ester ที่สกัดได้จากเมล็ดของ blueberry และ lingonberry ด้วยแผ่นยูเรีย-ซิลิกาโดยใช้ butyl acetate เป็น developing solvent นอกจากนี้ยังมีการใช้ silver ion (argentation) โครมาโตกราฟี ซึ่งสามารถแยกไฟโตสเตอรอลโดยอาศัยจำนวนพันธะคู่ระหว่างอะตอมคาร์บอน (Moreau *et al.*, 2002)

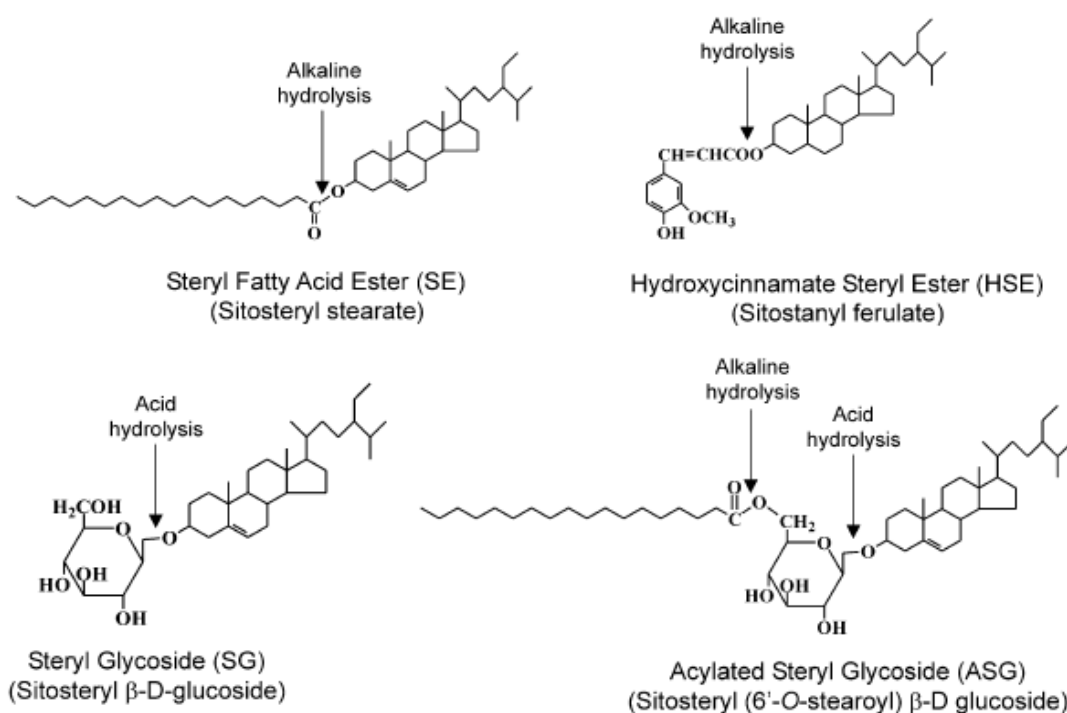
#### 4. การแยกคอนจูเกตไฟโตสเตอรอล

TLC เป็นเทคนิคดั้งเดิมที่นิยมใช้ในการแยกกลุ่มไฟโตสเตอรอล ซึ่งมีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบวิธี TLC หลายวิธีเพื่อที่จะแยกกลุ่มของไฟโตสเตอรอล (free sterol sterol fatty acid ester sterol glycoside และ acylated sterol glycoside) ในเนื้อเยื่อพืช (Moreau *et al.*, 2002) ต่อมา Phillips *et al.* (2004) แยก sterol glycoside ในแป้งสาลี และถั่วเหลืองด้วยวิธี solid phase extraction นอกจากนี้ยังมีการพัฒนามาใช้ HPLC เพื่อที่แยกสารดังกล่าวทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ โดยใช้ normal phase HPLC คอลัมน์ เช่น silica, DIOL, Amino หรือ CN มักใช้ในการแยกกลุ่มของไฟโตสเตอรอล และ reverse phase คอลัมน์ เช่น C18=ODS, C8 หรือ phenyl มักใช้ในการแยกชนิดของไฟโตสเตอรอลในแต่ละกลุ่ม แม้กระนั้น Moreau *et al.*, 2002 ได้แนะนำว่าควรแยกวิเคราะห์ระหว่างกลุ่มไฟโตสเตอรอลที่มีขั้ว (sterol glycoside และ acylated sterol glycoside) กับไฟโตสเตอรอลที่ไม่มีขั้ว (free sterol sterol fatty acid ester และ hydroxycinnamate sterol ester) เพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่แม่นยำ (Moreau *et al.*, 2002)

#### 5. การย่อยสลายพันธะของไฟโตสเตอรอลและการแยกไฟโตสเตอรอลอิสระ

การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลทั้งหมดซึ่งรวมถึงไฟโตสเตอรอลอิสระและไฟโตสเตอรอลที่ติดกับโมเลกุลอื่นสามารถทำได้โดยการย่อยสลายพันธะระหว่างไฟโตสเตอรอลกับโมเลกุลอื่นๆ และวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลนั้นพัฒนาจากวิธีการวิเคราะห์คลอเรสเตอรอลในอาหาร แต่วิธีการดังกล่าวทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลบางส่วนในอาหารได้ เนื่องจากไฟโตสเตอรอลในอาหารบางส่วนอยู่ในรูป glycoside Toivo *et al.* (2001) กล่าวว่า whole grain มี sterol glycoside สูง แป้งสาลีพบว่ามี sterol glycoside ร้อยละ 25 และ cornmeal พบว่ามี sterol glycoside ร้อยละ 55 ของไฟโตสเตอรอลทั้งหมด ต่อมา Phillips *et al.* (2004) พบว่าร้อยละ 9-37 ของไฟโตสเตอรอลทั้งหมดในอาหารอยู่ในรูป glycoside และอาจมีมากถึงร้อยละ 80 ของไฟโตสเตอรอลทั้งหมด ซึ่งพันธะ glycosidic ของไฟโตสเตอรอลดังกล่าวไม่สามารถย่อยสลายได้ด้วยค่าในวิธีการวิเคราะห์คลอเรสเตอรอล ซึ่งปัญหาดังกล่าวไม่พบในการวิเคราะห์คลอเรสเตอรอลเนื่องจากคลอเรสเตอรอลนั้นไม่พบในรูป glycoside ดังนั้นจึงมีการ

นำขั้นตอนการย่อยสลายด้วยกรด ก่อนการย่อยสลายด้วยด่างมาใช้ในการวิเคราะห์ไฟโต-  
สเตอรอลเพื่อย่อยสลาย glycosidic linkage ใน steryl glycoside (SG) และ acylated steryl glycoside  
(ASG) ด้วยกรด และย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ใน steryl fatty acid ester (SE) และ  
hydroxycinnamate steryl ester (HSE) และ Fatty acid-hexose ใน ASG ด้วยการทำปฏิกิริยาสaponifi-  
เคชัน (การย่อยสลายด้วยด่าง) (ภาพที่ 7) Toivo *et al.* (2000; 2001) ได้ศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการ  
เตรียมตัวอย่างและพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมา-  
โตกราฟีพบว่าการย่อยสลายด้วยกรดก่อนการย่อยสลายด้วยด่างนั้นเป็นขั้นตอนที่จำเป็นสำหรับการ  
วิเคราะห์ไฟโตสเตอรอล



ภาพที่ 7 ไฟโตสเตอรอลและคอนจูเกตไฟโตสเตอรอล

ที่มา : Moreau *et al.* (2002)

Moreau *et al.* (2002) กล่าวว่าในน้ำมันพืชนั้นมักจะมี SE เป็นส่วนใหญ่และมักมี SG และ ASG จำนวนน้อยเท่านั้น ดังนั้นการย่อยสลายด้วยด่างเพียงอย่างเดียวก็เพียงพอที่จะแยกไฟโตสเตอรอล คอน-จูเกต ส่วนใหญ่ในน้ำมันพืชได้ ดังเช่นการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลส่วนใหญ่ที่นิยมทำการย่อยสลายด้วยด่างเพียงอย่างเดียว Beveridge *et al.* (2002) ทำการย่อยไขมันจากน้ำมันเมล็ด Ginseng ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอล นอกจากนี้ยังพบว่าการย่อยสลายด้วยกรดทำให้  $\Delta^5$ -avenasterol ในพืชสลายตัวหรือ isomerization เป็น fucosterol และ 5,23 และ 5,24 (25)-stigmastadienols และ lathosterol ที่ใช้เป็น internal standard สามารถเปลี่ยนรูปเป็นคลอเรสเตอรอล สอดคล้องกับการศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอลในข้าวโอ๊ตของ Määtä *et al.* (1999) พบว่าปริมาณ  $\Delta^5$ -avenasterol ลดลงเนื่องจากการย่อยสลายด้วยกรด ต่อมา Toivo *et al.* (2001) พบว่าการย่อยสลายด้วยกรดทำให้  $\Delta^5$ -avenasterol ในแบ่งสาลีเกิด isomerization ทำให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณ  $\Delta^5$ -avenasterol ลดลง และให้ผลเช่นเดียวกันนี้ในจมูกข้าวสาลี (Piiroinen *et al.*, 2002) ginseng seed oil (Beveridge *et al.*, 2002) และ walnut (Amaral *et al.*, 2003) ซึ่งปัญหาดังกล่าวอาจแก้ไขได้โดยการใช้เอนไซม์แทนที่การย่อยสลายด้วยกรดและด่าง Moreau *et al.* (2003) กล่าวว่าสามารถวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลอิสระ และ fatty acyl phytosteryl ester ด้วยชุดทดสอบ spectrophotometric serum cholesterol ซึ่งใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายพันธะ แต่วิธีการดังกล่าวไม่สามารถวิเคราะห์ ferulate phytosteryl ester ที่พบในกากข้าวโพดและธัญพืชบางชนิดได้ เมื่อได้ไฟโตสเตอรอลอิสระแล้วสามารถนำมาวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี แต่การวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลเชิงปริมาณด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี ต้องวิเคราะห์ในรูปอนุพันธ์ของไฟโตสเตอรอล โดยให้อยู่ในรูป Trimethylsilyl ether หรือ Phytosteryl acetates เพื่อให้ไฟโตสเตอรอลที่ต้องการวิเคราะห์มีความสามารถในการระเหยดีขึ้น ความเป็นขั้วลดลง และมีคงตัวต่อความร้อนมากยิ่งขึ้น แต่ก็มีนักวิจัยบางกลุ่มที่สามารถวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีโดยไม่ทำอนุพันธ์ ซึ่งพบว่าผลการวิเคราะห์มีความแม่นยำและน่าเชื่อถือเช่นกัน ดังเช่นการศึกษาของ Choong *et al.* (1999) พบว่าสามารถวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลอิสระในไขมันพืชและสัตว์โดยไม่ทำอนุพันธ์ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลได้แม่นยำและลดระยะเวลาการวิเคราะห์ลง แต่นักวิจัยส่วนใหญ่นิยมที่จะสร้างอนุพันธ์ เพื่อลดการสูญเสีย (Dehydration) และการสลายตัวของสารทดลอง ซึ่งอาจส่งผลให้การแยกด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีไม่ดี นอกจากการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีแล้วยังมีการใช้ reverse phase HPLC ในการ

วิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลเช่นกัน แต่การแยกและความไวต่ำกว่าการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี (Mareau *et al.*, 2002)

### ผลของการแปรรูปด้วยความร้อนต่อไฟโตสเตอรอลในอาหาร

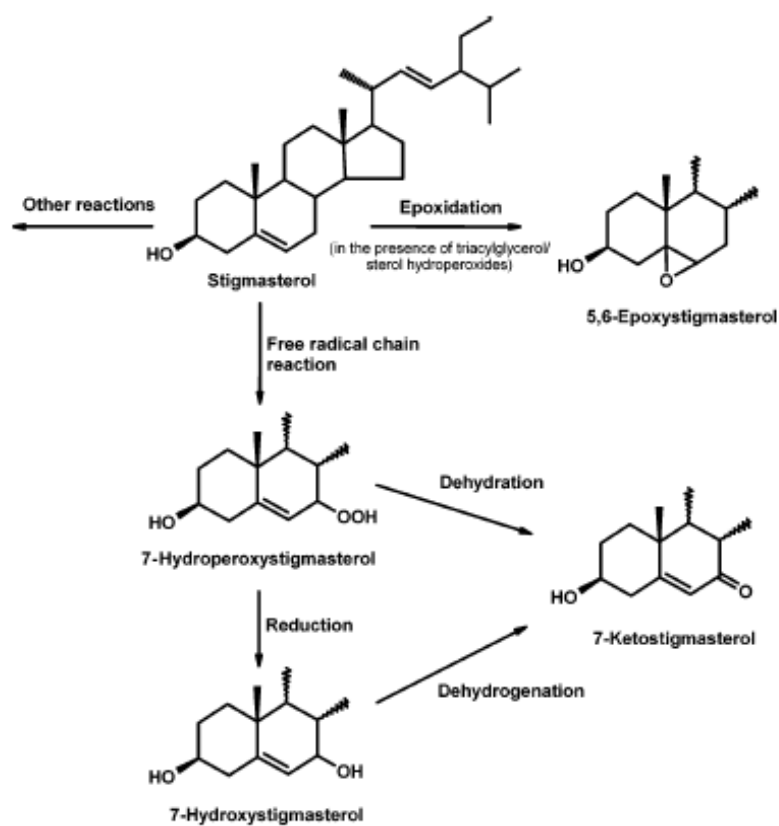
#### 1. การออกซิเดชันของคลอเรสเตอรอล

การออกซิเดชันของคลอเรสเตอรอลมักพบในผลิตภัณฑ์อาหารที่มาจากเนื้อสัตว์ ซึ่งสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของคลอเรสเตอรอลที่พบมากคือ 7 $\alpha$ , 7 $\beta$ -hydroxycholesterol, 7-ketocholesterol (7-ketochol), 5 $\alpha$ , 5 $\beta$  และ 6 $\alpha$ , 6 $\beta$ -epoxycholesterol และ cholestane-3 $\beta$ , 5, 6 $\beta$ -triol (chol-triol) เนื่องจากการออกซิเดชันของคลอเรสเตอรอลสามารถเกิดได้หลายกลไก ดังนั้นจึงพบสารผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันของคลอเรสเตอรอลมากกว่า 80 ชนิด ซึ่งสารดังกล่าวมีความเป็นพิษต่อเซลล์ ก่อมะเร็ง ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenic) atherogenic และ teratogenic activities ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกายมนุษย์ สารผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันของคลอเรสเตอรอลสามารถพบได้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคลอเรสเตอรอลได้ถึงระดับไมโครกรัม/กรัม (Lampi *et al.*, 2002; Saynajoki *et al.*, 2003; Apprich and Ulberth, 2004)

#### 2. การออกซิเดชันของไฟโตสเตอรอล

ไฟโตสเตอรอลสามารถเกิดการออกซิเดชันได้เช่นเดียวกับไขมันไม่อิ่มตัวชนิดอื่น ๆ เมื่อสัมผัสกับอากาศ ความร้อน แสง การฉายรังสี และตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันคือ 7-hydroxysterols 7-ketosterols 5,6-epoxysterols triols และ 25-hydroxysterols โดยทั่วไปการออกซิเดชันของสเตอรอลมักเกิดจากปฏิกิริยาถูกโซ่ของอนุมูลอิสระหรือออกซิเจนออกซิเดชัน เกิดเป็นสาร hydroperoxide จากกรดไขมันไม่อิ่มตัวและเอสเทอร์ เนื่องจากการกลไกและผลของผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันของไฟโตสเตอรอลนี้ยังไม่เป็นที่แน่ชัด แต่มีการเสนอกลไกดังภาพที่ 8 แต่พบว่ามีความเป็นพิษเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันของคลอเรสเตอรอลซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน แต่อาจมีความรุนแรงน้อยกว่า นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันของไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดให้ผลที่แตกต่างกัน แต่ในทางตรงกัน

ข้ามผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชันของไฟโตสเตอรอลไม่มีความเป็นพิษต่อยีน (genotoxic) หรือความเป็นพิษใด ๆ อย่างชัดเจนในหนูแรด (rat) เมื่อให้บริโภคมลพิษที่เกิดจากการออกซิเดชันของไฟโตสเตอรอลในอาหารร้อยละ 0.443-0.445 โดยน้ำหนัก ยังไม่มีการศึกษาถึงกลไกและการดูดซึมของไฟโตสเตอรอลออกไซด์เป็นที่แน่ชัด แต่จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าไฟโตสเตอรอลออกไซด์ในพลาสมาของมนุษย์สามารถถูกดูดซึมได้ในลำไส้เล็กของหนูแรด ซึ่งยังไม่ทราบแหล่งกำเนิดของไฟโตสเตอรอลออกไซด์ที่แน่นอน ซึ่งอาจมาจากการดูดซึมไฟโตสเตอรอลออกไซด์ที่อยู่ในอาหาร หรืออาจเกิดการออกซิเดชันของไฟโตสเตอรอลในร่างกาย และจากการศึกษาของ Soupas *et al.* (2004) พบว่าอุณหภูมิระยะเวลาในการให้ความร้อน โครงสร้างของไฟโตสเตอรอล รวมถึงระบบของไขมันมีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของไฟโตสเตอรอล โดยพบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานานทำให้ stigmasterol ถูกออกซิเดชันถึงร้อยละ 20 นอกจากนี้ยังพบว่าในสเปรด (spread) ที่อุดมไปด้วยไฟโตสเตอรอลเอสเทอร์ พบว่าไฟโตสเตอรอลร้อยละ 0.1 ถูกออกซิไดซ์ ส่งผลให้การบริโภค 2-4 กรัมไฟโตสเตอรอลตามข้อแนะนำการบริโภคต่อวัน ทำให้ได้รับไฟโตสเตอรอลออกไซด์ 2-4 มิลลิกรัมต่อวัน นอกจากนี้ยังพบว่าในขนมปังบดและขนมปังปิ้งเสริมไฟโตสเตอรอล (ร้อยละ 1.5)  $\beta$ -sitosterol ในขนมปังดังกล่าวถูกออกซิไดซ์ร้อยละ 0.3 และ 0.1 และ campesterol ถูกออกซิไดซ์ร้อยละ 0.4 และ 0.1 ตามลำดับ ผลกระทบที่อุดมไปด้วยไฟโตสเตอรอลที่ใช้ในการทอด เช่น น้ำมันพืช (0.5-10.6 กรัม/ กิโลกรัม) ต้องพบกับสภาวะระหว่างการแปรรูป และอุณหภูมิสูง ซึ่งส่งผลต่อความคงตัวของไฟโตสเตอรอลต่อการออกซิเดชัน นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่มีไฟโตสเตอรอลสูงชนิดอื่น เช่น เมล็ดธัญพืชที่มีไฟโตสเตอรอล 0.33-1.8 กรัม/ กิโลกรัม โดยเฉพาะมาการีนที่อุดมไปด้วยไฟโตสเตอรอล อาจมีโอกาสดังกล่าวเกิดการออกซิเดชันได้เช่นกัน (Lampi *et al.*, 2002; Säynäjoki *et al.*, 2003; Apprich and Ulberth, 2004; Soupas *et al.*, 2004)



ภาพที่ 8 กลไกการเกิด stigmasterol oxide

ที่มา : Soupas *et al.* (2004)

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. วัสดุดิบ

- 1.1 จมูกข้าวกลิ้งหอมมะลิ ตราหงส์ทอง จากสหกรณ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.2 ข้าวเปลือก (*Oryza sativa* L.) สายพันธุ์ชัยนาท1 จากหน่วยวิจัยพันธุ์ข้าวบางเขน  
กรุงเทพฯ
- 1.3 ข้าวเปลือก (*Oryza sativa* L.) สายพันธุ์ปทุมธานี1 จากหน่วยวิจัยพันธุ์ข้าวบางเขน  
กรุงเทพฯ
- 1.4 ข้าวเปลือก (*Oryza sativa* L.) สายพันธุ์สุพรรณบุรี1 จากหน่วยวิจัยพันธุ์ข้าว  
บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.5 ข้าวเปลือก (*Oryza sativa* L.) สายพันธุ์สุพรรณบุรี2 จากหน่วยวิจัยพันธุ์ข้าว  
บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.6 ข้าวเปลือก (*Oryza sativa* L.) สายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากหน่วยวิจัยพันธุ์  
ข้าว บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.7 ลูกเดือย (*Coix lachryma-jobi* Linn) ตราไร้ทิพย์ จากห้างสรรพสินค้าท็อป  
ซูเปอร์มาเก็ต สาขา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ถนนงามวงศ์วาน กรุงเทพฯ
- 1.8 ถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris* Linn.) ตราไร้ทิพย์จากห้างสรรพสินค้าท็อป  
ซูเปอร์มาเก็ต สาขา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ถนนงามวงศ์วาน กรุงเทพฯ
- 1.9 ถั่วดำ (*Bruguiera parviflora* Weight) ตราไร้ทิพย์จากห้างสรรพสินค้าท็อป  
ซูเปอร์มาเก็ต สาขา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ถนนงามวงศ์วาน กรุงเทพฯ
- 1.10 ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) ตราไร้ทิพย์จากห้างสรรพสินค้าท็อป  
ซูเปอร์มาเก็ต สาขา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ถนนงามวงศ์วาน กรุงเทพฯ
- 1.11 ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr) ตราไร้ทิพย์จากห้างสรรพสินค้าท็อป  
ซูเปอร์มาเก็ต สาขา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ถนนงามวงศ์วาน กรุงเทพฯ

- 1.12 ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* Linn.) ตราไรท์พืชจากห้างสรรพสินค้าท็อปซูเปอร์มาเก็ต สาขามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ถนนงามวงศ์วาน กรุงเทพฯ
- 1.13 ผักปลั่งขาว (*Basella rubra* Linn. Syn. *B. alba* Linn.) จากตลาดสดอมรพันธ์ บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.14 ผักบุ้งแดง (*Ipomoea reptans* Poir. Syn. *I. Aquatica* Forsk.) จากตลาดสดอมรพันธ์ บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.15 ผักโขมหนาม (*Amaranthus viridis*) จากตลาดสดอมรพันธ์ บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.16 ใบชะพลู (*Piper sarmentosum*, Roxb. Ex Hunter) จากตลาดสดอมรพันธ์ บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.17 ใบยอ (*Morinda citrifolia*, Linn.) จากตลาดสดอมรพันธ์ บางเขน กรุงเทพฯ
- 1.18 ผักชีฝรั่ง (*Eryngium foetidum* Linn.) จากตลาดสดอมรพันธ์ บางเขน กรุงเทพฯ

## 2. สารเคมี

- 2.1 Absolute ethanol (Merck, เยอรมัน)
- 2.2 Hydrochloric acid (JT Baker, สหรัฐอเมริกา)
- 2.3 Hexane, AR grade (JT Baker, สหรัฐอเมริกา)
- 2.4 Diethyl ether, AR grade (Lab Scan LTD, ไอร์แลนด์)
- 2.5 Sodium hydroxide , AR grade (BHD Laboratory supplies, อังกฤษ)
- 2.6 Cyclohexane, AR grade (Univar, สหรัฐอเมริกา)
- 2.7 Anhydrous sodium sulphate (Fisher Chemical, อังกฤษ)
- 2.8 Hexane, HPLC grade (Lab Scan LTD, ไอร์แลนด์)
- 2.9 น้ำปราศจากไอออน Deionized water
- 2.10 สารมาตรฐาน (internal standard) 5- $\alpha$ -cholestane (Sigma Chemical, สหรัฐอเมริกา)
- 2.11 สารมาตรฐานของไฟโตสเตอรอล
- $\beta$ -Sitosterol (Sigma Chemical, สหรัฐอเมริกา)

- Campesterol (Steraloids, Inc, สหรัฐอเมริกา)
- Stigmasterol (Sigma Chemical, สหรัฐอเมริกา)
- Stigmastanol (Steraloids, Inc, สหรัฐอเมริกา)

2.12 Derivatized reagent BSTFA N,O-bis (Trimethylsilyl) trifluoroacetamide  
(Supelco, สหรัฐอเมริกา)

2.13 แก๊สฮีเลียมความบริสุทธิ์ ร้อยละ 99.999 (ไทยอินดัสเตรียลแก๊ส จำกัด (มหาชน),  
ไทย)

2.14 แก๊สไนโตรเจนอุตสาหกรรม (ไทยอินดัสเตรียลแก๊ส จำกัด (มหาชน), ไทย)

### 3. เครื่องมือ

- 3.1 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น Model 2KS (Ohaus, สหรัฐอเมริกา)
- 3.2 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AP 210-0 (Ohaus, สหรัฐอเมริกา)
- 3.3 ตะแกรงร่อนขนาด 35 เมช
- 3.4 เครื่องบดผสม (blender) รุ่น 32BL80 (8011) (Waring, สหรัฐอเมริกา)
- 3.5 อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (water bath shaker) (Lab companion, สหรัฐอเมริกา)
- 3.6 ตู้แช่เยือกแข็ง-40 องศาเซลเซียส (Freezer -40<sup>o</sup>C) MDF-435 (Sanyo, ญี่ปุ่น)
- 3.7 เครื่อง Sonicator รุ่น Bransonic 32 (Branson Instruments, สหรัฐอเมริกา)
- 3.8 แท่งกวนแม่เหล็ก (Magnetic bar)
- 3.9 เครื่องกวนแบบแม่เหล็ก (Magnetic stirrer) รุ่น RCT Basic (Ika Werke, มาเลเซีย)
- 3.10 กล่องให้ความร้อน (Heating box)
- 3.11 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
- 3.12 เครื่องวิเคราะห์ไขมัน รุ่น Soxtec System HT6, 1043 Extraction Unit (Itecator,  
สวีเดน)
- 3.13 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) รุ่น UM400 (Mettler, สหรัฐอเมริกา)
- 3.14 เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (HP model 6890) (Hewlette Packard Co., Wilmington,  
สหรัฐอเมริกา)
- 3.15 เครื่องกระเทาะข้าวเปลือก (ไทยวิคตอรี จำกัด, ไทย)

## วิธีการ

### 1. การศึกษาสถานะการย่อยสลายด้วยกรดและด่างที่เหมาะสมในการสกัดไฟโตสเตอรอล

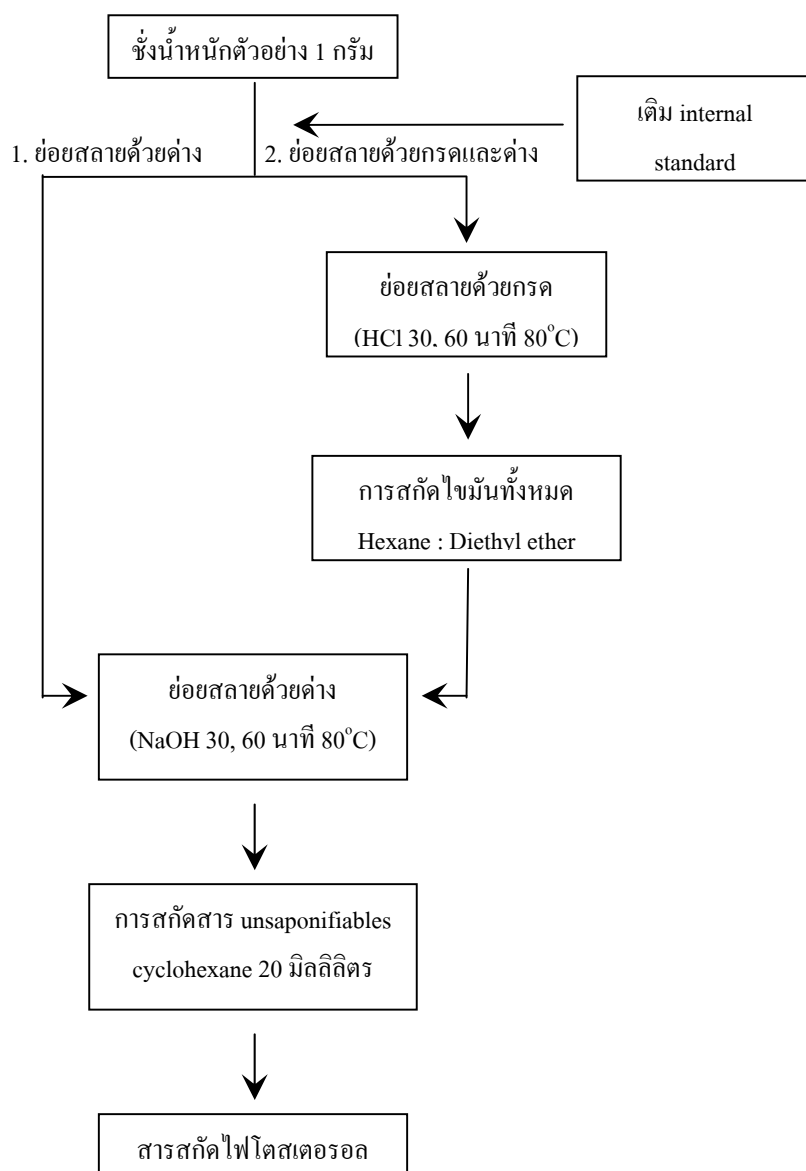
#### 1.1 การเตรียมตัวอย่างจุ่มข้าว

นำจุ่มข้าวกล้องมาคัดแยกสิ่งปลอมปน จากนั้นสับจุ่มข้าวจำนวน 30 กรัม เติมน้ำมันโตรเจนเหลวเล็กน้อยเพื่อลดความร้อนระหว่างบดผสม บดด้วยเครื่องบดผสมและร้อนด้วยตะแกรงขนาด 35 mesh 2 ครั้งเพื่อให้วัตถุดิบมีขนาดสม่ำเสมอ นำไปสกัดไฟโตสเตอรอลทันทีหรือบรรจุลงถุงอูมิเนียมลามิเนต ปิดผนึกและเก็บที่ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

#### 1.2 การสกัดไฟโตสเตอรอลจากจุ่มข้าวกล้อง (ดัดแปลงจากวิธีของ Piironen *et al.*, 2002)

ชั่งจุ่มข้าวที่ผ่านการเตรียมจากข้อ 1.1 จำนวน 1 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร ทำการสกัดดังภาพที่ 9 โดยมีรายละเอียดดังนี้ เติมน้ำมัน absolute ethanol 5 มิลลิลิตร และ internal standard (5 $\alpha$ -cholestane ความเข้มข้น 0.56 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร) 50 ไมโครลิตร ทำการย่อยสลายด้วยกรด โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 5 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน และนำไปเขย่าในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 80 องศาเซลเซียส ความเร็ว 120 รอบ/นาที โดยผันแปรระยะเวลาเป็น 30 และ 60 นาที ทำให้เย็นด้วยการแช่ในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง เติมน้ำมัน absolute ethanol 5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการสกัดไขมันด้วย Hexane : Diethyl ether อัตราส่วน 1:1 จำนวน 20 มิลลิลิตร ผสมกับตัวอย่างให้เข้ากันด้วยแท่งกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 10 นาที และตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น ดูดชั้นสารละลายอินทรีย์ ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ 12 มิลลิลิตร และเป่าสารสกัดด้วยแก๊สไนโตรเจนจนตัวทำละลายระเหยหมด เติมน้ำมัน absolute ethanol 8 มิลลิลิตรเพื่อละลายสารสกัดไขมันข้างต้น ทำการย่อยสลายด้วยด่างโดยการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปเขย่าในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที โดยผันแปรระยะเวลาเป็น 30 และ 60 นาที ทำให้เย็นด้วยการแช่ในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง เติมน้ำมันปราศจากไอออน 12 มิลลิลิตร และ cyclohexane 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันด้วยแท่งกวนแบบแม่เหล็กเป็นเวลา 10 นาที และตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น ดูดชั้นสารละลาย

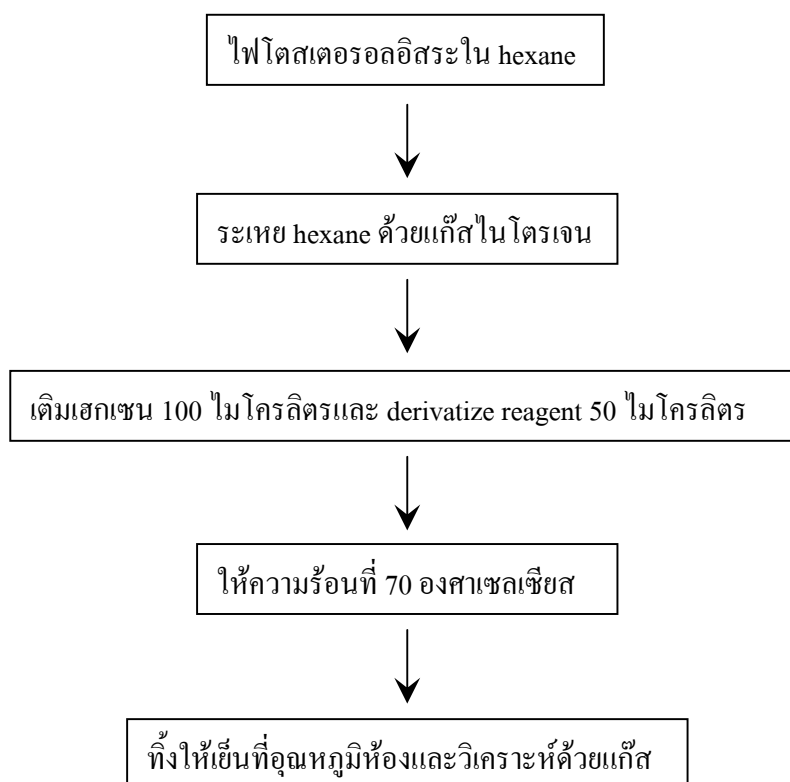
อินทรีย์ ใสลงในขวดรูปชมพู่ 12 มิลลิลิตร เติม anhydrous sodium sulphate 1 กรัม เพื่อกำจัดน้ำในตัวอย่าง กรองผ่านใยแก้ว ทำให้แห้งด้วยการเป่าสารสกัดด้วยแก๊สไนโตรเจนจนตัวทำละลายระเหยหมด ละลายตัวอย่างอีกครั้งด้วย hexane 1 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียสเพื่อใช้วิเคราะห์ต่อไป



ภาพที่ 9 แผนผังการสกัดไฟโตสเตอรอลจากงมูกข้าวกล้อง

### 1.3 การเตรียมอนุพันธ์ของไฟโตสเตอรอล

นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 1.2 ระเหย hexane จนหมดด้วยแก๊สไนโตรเจน และละลายตัวอย่างอีกครั้งด้วย hexane 100 ไมโครลิตร เติม derivatize reagent sylon BFT 50 ไมโครลิตร จากนั้นปิดฝา vial นำไปใส่ใน heating box 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) และวิเคราะห์ด้วยแก๊ส-โครมาโตกราฟีภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 แผนผังขั้นตอนการทำอนุพันธ์ไฟโตสเตอรอล

#### 1.4 การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลโดยแก๊สโครมาโตกราฟี

วิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในตัวอย่างจากข้อ 1.3 โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Model 6890, Hewlett Packard series) ซึ่งต่อกับ Flame Ionization Detector (FID) และมีสถานะในการวิเคราะห์ดังนี้ นี๊ดตัวอย่างแบบ split ด้วยอัตราส่วน 1: 8 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร อุนหภูมิ injector 270 องศาเซลเซียส การแยกไฟโตสเตอรอลใช้แคปิลารีคอลัมน์ HP ultra-1 ขนาด 25 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร x 0.52 ไมโครเมตร ใช้แก๊สฮีเลียมความบริสุทธิ์ ร้อยละ 99.999 เป็นแก๊สนำพา (carrier gas) โดยมีอัตราการไหล 2.0 มิลลิตรต่อนาที อุนหภูมิที่ใช้ในการแยกสารเริ่มที่ 200 องศาเซลเซียส คงไว้ที่อุนหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 5 นาที แล้วเพิ่มอุนหภูมิด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาทีจนถึง 270 องศาเซลเซียสคงอุนหภูมินี้ไว้ 30 นาที รวมเวลาวิเคราะห์ตัวอย่าง 59 นาที

การบ่งชี้ชนิดของไฟโตสเตอรอลทำโดยการเปรียบเทียบค่า retention time จากสารมาตรฐาน ที่ได้จากการนำสารละลายมาตรฐานมาทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะเดียวกัน หาพื้นที่ใต้พีคของสารแล้วคำนวณหาปริมาณไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิด โดยการเปรียบเทียบพื้นที่ใต้พีคของไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดกับพื้นที่ใต้พีคของ internal standard (5 $\alpha$ -cholestane) ที่ทราบปริมาณแน่นอน และคำนวณปริมาณไฟโตสเตอรอลดังสมการในภาคผนวกข้อที่ 4 รายงานเป็นความเข้มข้นสัมพัทธ์ของสารนั้นๆ ในตัวอย่างต่อน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/100 กรัม)

## 2. การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้านบางชนิด

### 2.1 การเตรียมผักพื้นบ้าน

ผักพื้นบ้านที่ใช้ในการทดลองนี้มีทั้งหมด 6 ชนิดคือผักปลังขาว ใบข่อย ผักบุ้งแดง ผักโขมหนาม ใบชะพลู และผักชีฝรั่ง (Vinespinach, Indian leaf, Swamp morning glory, Wild blite, Betel leaf และ False coriander) จากตลาดสดอมรพันธ์ บางเขน กรุงเทพฯ ในช่วงเดือน กรกฎาคม 2548 โดยนำ ผักปลังขาว ผักบุ้งแดง ผักโขมหนาม ใบข่อย ผักชีฝรั่ง และใบชะพลู ซึ่งคัดเลือกโดยพิจารณาจากลักษณะภายนอกเช่น รอยชำ ขนาด และความสด นำผักที่ผ่านการล้างทำความสะอาด

และใช้จนแห้งมาคัดแยกเฉพาะส่วนที่บริเวณ ผักปลังขาว ผักบุ้งแดง และผักโขมหนามใช้ทั้ง ส่วนลำต้นและใบโดยใช้ตั้งแต่ส่วนยอดลงมาทั้งหมด 20 เซนติเมตร ส่วนใบขอยและใบชะพลูใช้ ส่วนใบที่ 2 3 4 และ 5 จากยอด จากนั้นหั่นเป็นชิ้นยาวประมาณ 1 เซนติเมตร

## 2.2 การสกัดไฟโตสเตอรอลจากผักพื้นบ้าน

ซึ่งผักปลังขาว ผักบุ้งแดง ผักโขมหนาม ใบขอย ผักชีฝรั่ง และใบชะพลู ที่ได้จากข้อ 2.1 จำนวน 10 กรัม ในเครื่องบดผสม เทในโตรเจนเหลวประมาณ 200 มิลลิลิตรลงในตัวอย่าง และบดจนละเอียด ซึ่งตัวอย่างที่ได้จำนวน 1 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร และนำไป สกัดตามวิธีที่หาได้ในข้อ 1.2 ดังนี้เติม absolute ethanol 5 มิลลิลิตร และ internal standard (5- $\alpha$ -cholestane ความเข้มข้น 0.56 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร) 50 ไมโครลิตรในตัวอย่าง ทำการย่อยสลายด้วย กรด โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 5 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน นำไป เขย่าในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นด้วยการแช่ในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง เติม absolute ethanol 5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการสกัด ไขมันด้วย Hexane : Diethyl ether อัตราส่วน 1:1 จำนวน 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันด้วย แท่งกวน แม่เหล็กเป็นเวลา 10 นาที และตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น ดูดชั้นสารละลายอินทรีย์ ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ 12 มิลลิลิตร และเป่าสารสกัดด้วยแก๊สไนโตรเจนจนตัวทำละลายระเหยหมด เติม absolute ethanol 8 มิลลิลิตรเพื่อละลายสารสกัดไขมันข้างต้น ทำการย่อยสลายด้วยด่าง โดย การเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปเขย่าในอ่าง ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 80 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 60 นาที ทำให้เย็นด้วย การแช่ในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง เติมน้ำปราศจากไอออน 12 มิลลิลิตร และ cyclohexane 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันด้วยแท่งกวนแบบแม่เหล็กเป็นเวลา 10 นาที และตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อให้เกิดการแยก ชั้น ดูดชั้นสารละลายอินทรีย์ ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ 12 มิลลิลิตร เติม anhydrous sodium sulphate 1 กรัม เพื่อกำจัดน้ำในตัวอย่าง กรองผ่านใยแก้ว ทำให้แห้งด้วยการเป่าสารสกัดด้วยแก๊สไนโตรเจน จนตัวทำละลายระเหยหมด ละลายตัวอย่างอีกครั้งด้วย hexane 1 มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างในขวดแก้ว สีชาที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียสเพื่อใช้เตรียมอนุพันธ์ และวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลด้วย แก๊สโครมาโตกราฟีเช่นเดียวกับข้อ 1.3 และ 1.4 ตามลำดับ

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในข้าวกล้อง 5 สายพันธุ์

#### 3.1 การเตรียมตัวอย่างข้าวกล้อง

นำข้าวเปลือก 5 สายพันธุ์ คือ ข้าวดอกมะลิ 105 ปทุมธานี1 ชัยนาท1 สุพรรณบุรี1 และ สุพรรณบุรี2 จากหน่วยวิจัยพันธุ์ข้าวบางเขน คัดแยกสิ่งปลอมปน กระเทาะเปลือกด้วยเครื่อง กระเทาะข้าวเปลือก ระยะห่างลูกกลิ้งประมาณ 1 มิลลิเมตร นำข้าวกล้องที่ได้มาคัดแยกสิ่งปลอมปนและแกลบออกอีกครั้ง และบรรจุในถุงอลูมิเนียมลามิเนตและปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการวิเคราะห์นำข้าวกล้องมาบดผสมและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 35 เมช 2 ครั้งเพื่อให้วัตถุดิบมีขนาดสม่ำเสมอ นำไปวิเคราะห์ทันที หรือบรรจุลงถุงอลูมิเนียมลามิเนต ปิดผนึกและเก็บที่ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

#### 3.2 การสกัดไฟโตสเตอรอลจากข้าวกล้อง

ชั่งน้ำหนักข้าวกล้องข้าวดอกมะลิ 105, ปทุมธานี1, ชัยนาท1, สุพรรณบุรี1 และ สุพรรณบุรี2 ที่ผ่านการเตรียมจากข้อ 3.1 จำนวน 1 กรัม สกัดและวิเคราะห์ปริมาณเช่นเดียวกับข้อ 2.2

### 4. การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย

#### 4.1 การเตรียมตัวอย่างพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย

นำพืชตระกูลถั่ว 5 ชนิดคือถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วแดงหลวง และลูกเดือย ตราไรท์พี คัดแยกสิ่งปลอมปน จากนั้นชั่งตัวอย่างพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย 30 กรัม เติมน้ำมันโตรจนเหลว 200 มิลลิลิตรเพื่อลดความร้อนระหว่างการบดผสม บดด้วยเครื่องบดผสมจนละเอียดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 35 เมช 2 ครั้งเพื่อให้วัตถุดิบมีขนาดสม่ำเสมอ นำไปวิเคราะห์ทันที หรือบรรจุลงถุงอลูมิเนียมลามิเนตปิดผนึกและเก็บที่ -40 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

#### 4.2 การสกัดไฟโตสเตอรอลจากพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย

ชั่งน้ำหนัก ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วแดงหลวง และลูกเดือย ที่ผ่านการเตรียมจากข้อ 4.1 จำนวน 1 กรัม สกัดและวิเคราะห์ปริมาณเช่นเดียวกับข้อ 2.2

### 5. ผลของการให้ความร้อนต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชตระกูลถั่ว

#### 5.1 การเตรียมตัวอย่างพืชตระกูลถั่ว

นำพืชตระกูลถั่ว 4 ชนิดคือถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วแดงหลวง ตราไรท์พิช (จากห้างสรรพสินค้าท็อป ซูเปอร์มาร์เก็ต สาขา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) คัดแยกสิ่งปลอมปน จากนั้นชั่งถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วแดงหลวง 35 กรัม ลงในขวด duran ขนาด 50 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท

#### 5.2 การให้ความร้อนพืชตระกูลถั่ว

นำตัวอย่างจากข้อ 5.1 จำนวน 8 ตัวอย่างใส่ลงในเครื่องหม้อนึ่งแรงดัน อุณหภูมิ ตัวอย่างเริ่มต้นที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) ตั้งค่าให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20, 30 และ 60 นาที โดยเริ่มนับเวลาตั้งแต่หม้อนึ่งความดันมีอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และเมื่อครบเวลาที่กำหนดลดความดันของหม้อนึ่งแรงดัน รอจนแรงดันเป็น 0 บรรยากาศ จึงนำตัวอย่างออกจากเครื่อง ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไฟโตสเตอรอลต่อไป

#### 5.3 การสกัดไฟโตสเตอรอลจากพืชตระกูลถั่วที่ผ่านการให้ความร้อน

นำ ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วแดงหลวง จากข้อ 5.3 ใส่ลงในเครื่องบดผสม เติมน้ำมันโตรเจนเหลว 200 มิลลิลิตรเพื่อลดความร้อนระหว่างการบดผสม บดด้วยเครื่องบดผสมจนละเอียดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 35 mesh 2 ครั้งเพื่อให้วัตถุดิบมีขนาดสม่ำเสมอ ชั่งน้ำหนัก จำนวน 1 กรัม สกัดและวิเคราะห์ปริมาณเช่นเดียวกับข้อ 2.2

## 6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดลองในข้อที่ 1 3 และ 4 ทำ 3 ซ้ำ (replications) และวัดค่าซ้ำ (repeat measurement) 2 ครั้งในแต่ละการทำซ้ำ (n=6) ส่วนการทดลองในข้อที่ 2 และ 5 ทำ 2 ซ้ำ (replications) และวัดค่าซ้ำ (repeat measurement) 2 ครั้งในแต่ละการทำซ้ำ (n=4) การวางแผนการทดลองใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) โดยการทดลองในข้อที่ 1 จัดการทดลองแบบแฟกทอเรียล (factorial experiment) และวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละการทดลองโดยวิธีผลต่างน้อยที่สุด (The least significant difference, LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS (version 12)

## 7. สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

## 8. ระยะเวลาการทำวิจัย

เริ่มทำการทดลองเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2547 สิ้นสุดเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2548

## ผลและวิจารณ์

### 1. การศึกษาสถานะการย่อยสลายด้วยกรดและด่างที่เหมาะสมในการสกัดไฟโตสเตอรอล

วิธีการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลพัฒนาขึ้นจากวิธีการวิเคราะห์คลอเรสเตอรอลในอาหารของ AOAC ปี 1984 ต่อมา Klatt *et al.* (1995) ได้เสนอวิธีการวิเคราะห์คลอเรสเตอรอลด้วยการย่อยสลายด้วยด่างโดยไม่สกัดไขมันทั้งหมดในอาหารหลายชนิด ซึ่งวิธีการดังกล่าวพัฒนาเป็นวิธีการวิเคราะห์คลอเรสเตอรอลของ AOAC ปี 1995 และสามารถใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผลิตภัณฑ์พาสต้าได้เช่นกัน (Toivo *et al.*, 2000) ซึ่งการย่อยสลายด้วยด่างนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อสลายพันธะเอสเทอร์ที่ยึดโมเลกุลไฟโตสเตอรอลกับโมเลกุลอื่น แต่เนื่องจากไฟโตสเตอรอลยังสามารถยึดเกาะกับโมเลกุลน้ำตาล hexose หรือ 6-fatty acyl hexose ด้วยพันธะ glycosidic ในเนื้อเยื่อพืชบางชนิดซึ่งไม่สามารถย่อยสลายได้ด้วยด่าง ไฟโตสเตอรอลคอนจูเกตชนิดดังกล่าวจึงไม่สามารถสกัดได้ด้วยการย่อยสลายด้วยด่างเพียงอย่างเดียวดังวิธีที่ใช้วิเคราะห์คลอเรสเตอรอล (Toivo *et al.*, 2000) ซึ่งการย่อยสลายด้วยกรดก่อนการย่อยสลายด้วยด่างสามารถทำลายพันธะ glycoside ดังกล่าวได้ ส่งผลทำให้ปริมาณไฟโตสเตอรอลอิสระที่สกัดได้สูงขึ้น (Piironen *et al.*, 2002) การศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาผลของการย่อยสลายด้วยด่างเพียงอย่างเดียวต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลโดยแปรผันระยะเวลาเป็น 30 และ 60 นาที และจากนั้นจึงเปรียบเทียบกับผลของการย่อยสลายด้วยกรดรวมกับการย่อยสลายด้วยด่าง โดยแปรผันระยะเวลาการย่อยสลายด้วยกรดเป็น 30 และ 60 นาที และทำการย่อยสลายด้วยด่างเป็นระยะเวลา 30 และ 60 นาที เพื่อหาสถานะการสกัดที่สามารถสกัดไฟโตสเตอรอลได้ใกล้เคียงกับปริมาณไฟโตสเตอรอลในตัวอย่างมากที่สุด โดยใช้จมูกข้าวกล้องเป็นตัวแทนตัวอย่างในการศึกษา ซึ่งผลปริมาณไฟโตสเตอรอลที่สกัดได้จากสถานะการสกัดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 5

**ตารางที่ 5** ปริมาณไฟโตสเตอรอลในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อยสลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาทีร่วมกับค่าเป็นเวลา 30 และ 60 นาที<sup>1/</sup>

| เวลาย่อยสลาย |            | ไฟโตสเตอรอล (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) |                   |                  |                   |                    |
|--------------|------------|---------------------------------------------|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|
| กรด (นาที)   | ค่า (นาที) | $\beta$ -sitosterol                         | campesterol       | stigmasterol     | stigmastanol      | รวม                |
| 0            | 30         | 60.2 <sup>b</sup>                           | 21.1 <sup>b</sup> | 3.3 <sup>a</sup> | 21.6 <sup>b</sup> | 106.2 <sup>b</sup> |
| 30           | 30         | 67.0 <sup>bc</sup>                          | 23.3 <sup>c</sup> | 4.6 <sup>a</sup> | 20.0 <sup>b</sup> | 114.9 <sup>b</sup> |
| 60           | 30         | 64.7 <sup>bc</sup>                          | 22.5 <sup>b</sup> | 4.1 <sup>a</sup> | 19.3 <sup>b</sup> | 110.6 <sup>b</sup> |
| 0            | 60         | 38.3 <sup>a</sup>                           | 13.9 <sup>a</sup> | 4.5 <sup>a</sup> | 14.0 <sup>a</sup> | 70.7 <sup>a</sup>  |
| 30           | 60         | 71.5 <sup>c</sup>                           | 24.2 <sup>b</sup> | 4.4 <sup>a</sup> | 21.5 <sup>b</sup> | 121.6 <sup>b</sup> |
| 60           | 60         | 70.9 <sup>bc</sup>                          | 24.8 <sup>b</sup> | 4.6 <sup>a</sup> | 20.2 <sup>b</sup> | 120.5 <sup>b</sup> |

**หมายเหตุ** <sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 5) พบว่าปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmastanol และไฟโตสเตอรอลรวมที่สกัดได้จากแต่ละสภาวะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) โดยที่สภาวะการย่อยสลายด้วยกรด 30 นาที ก่อนการย่อยสลายด้วยค่า 60 นาที สามารถสกัดไฟโตสเตอรอลรวมได้ปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับที่สภาวะการสกัดอื่น โดยการย่อยสลายด้วยกรดก่อนการย่อยสลายด้วยค่าจะทำให้สามารถสกัด  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmastanol และไฟโตสเตอรอลรวมได้ปริมาณแตกต่างกับการย่อยสลายด้วยค่าเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และเมื่อระยะเวลาการย่อยสลายด้วยกรดเพิ่มขึ้นจาก 30 นาทีเป็น 60 นาที พบว่าระยะเวลาการย่อยสลายด้วยกรดที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, stigmastanol และปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม ( $p > 0.05$ ) นอกจากนี้เมื่อสกัดไฟโตสเตอรอลด้วยการย่อยสลายด้วยกรดก่อนการย่อยสลายด้วยค่า โดยย่อยสลายด้วยกรดเป็นระยะเวลา 30 และ 60 นาที สามารถสกัดไฟโตสเตอรอลรวมได้เพิ่มมากขึ้นจากการย่อยสลายด้วยค่าเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 30 นาทีถึงร้อยละ 8.1 และ 4.1 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุเนื่องจากการย่อยสลายด้วยกรดทำให้สามารถย่อยสลายพันธะ glycoside ได้มากขึ้นส่งผลให้สามารถสกัดไฟโตสเตอรอล

อิสระได้มากขึ้นเช่นกัน (Piironen *et al.*, 2002) ซึ่งสอดคล้องกับ Normen *et al.* (1999) ที่พบว่าการสกัดด้วยยอยสลายด้วยกรดร่วมกับค้างสามารถเพิ่มปริมาณไฟโตสเตอรอลที่สกัดได้จากผักและผลไม้ ต่อมา Toivo *et al.* (2000) ที่พบว่าการยอยสลายด้วยกรดร่วมกับการยอยสลายด้วยค้างสามารถเพิ่มปริมาณไฟโตสเตอรอลที่สกัดในแป้งสาลีที่ไม่ผ่านการขัดสี ได้ถึงร้อยละ 20 อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมของสภาวะการสกัดด้วยกรดร่วมกับค้างแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับสภาวะการสกัดด้วยการยอยสลายด้วยค้างเพียงอย่างเดียว อาจเนื่องมาจากในไขมันพืชนั้นมักจะมี steryl fatty acid ester (SE) เป็นส่วนใหญ่และมักมี steryl glycoside (SG) และ acylated steryl glycoside (ASG) ส่วนน้อยเท่านั้น (Moreau *et al.*, 2002) ส่วนการยอยสลายด้วยค้างไม่มีผลต่อปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmastanol และไฟโตสเตอรอลรวม ( $p > 0.05$ )

อย่างไรก็ตามที่สภาวะการสกัดด้วยการยอยสลายด้วยกรดเป็นระยะเวลา 30 นาทีร่วมกับการยอยสลายด้วยค้างเป็นระยะเวลา 60 นาทีสามารถสกัด  $\beta$ -sitosterol ได้ปริมาณมากที่สุดเมื่อเทียบกับสภาวะการทดลองอื่นดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ซึ่ง  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดหลักและพบมากที่สุดในพืช อีกทั้งที่สภาวะดังกล่าวสามารถสกัดไฟโตสเตอรอลรวมได้ปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับสภาวะการทดลองอื่น และอาจสามารถสกัดไฟโตสเตอรอลได้ใกล้เคียงกับปริมาณที่มีอยู่จริงในตัวอย่างมากที่สุดจึงเลือกสภาวะการสกัดดังกล่าวเพื่อการศึกษาต่อไป

## 2. การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้านบางชนิด

จากการศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอล 4 ชนิด คือ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmastanol และไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) ในผักพื้นบ้าน 6 ชนิดคือ ผักปลั่งขาว (*Basella rubra* Linn. Syn. *B. alba* Linn.) ผักโขมหนาม (*Amaranthus viridis*) ใบชะพลู (*Piper sarmentosum*, Roxb. Ex Hunter) ใบผักชีฝรั่ง (*Eryngium foetidum* Linn.) ผักบุ้งแดง (*Ipomoea reptans* Poir. Syn. *I. Aquatica* Forsk.) และใบยอ (*Morinda citrifolia*, Linn.) โดยแบ่งผักที่วิเคราะห์ออกเป็น 2 กลุ่มคือ ผักพื้นบ้านที่บริโภคไม่แพร่หลาย ซึ่งผักที่อยู่ในกลุ่มนี้คือ ผักปลั่งขาว ผักโขมหนาม และใบยอ กลุ่มที่สองคือกลุ่มผักพื้นบ้านที่นิยมบริโภคอย่างแพร่หลาย เช่น เป็นเครื่องเคียง หรือผักแกล้ม ผักในกลุ่มนี้ได้แก่ ใบ

ชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และ ผักบุ้งแดง พบว่าผักทั้ง 6 ชนิดมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมอยู่ระหว่าง 162.3-318.7 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยผักบุ้งแดงมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุดคือ 318.7 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ส่วนผักปลังขาว ใบชะพลู ใบขมิ้น ใบผักชีฝรั่ง และ ผักโขม หนามมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 262.2, 238.8, 235.1, 197.6 และ 162.3 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขมิ้น ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และ ผักบุ้งแดง<sup>1/</sup>

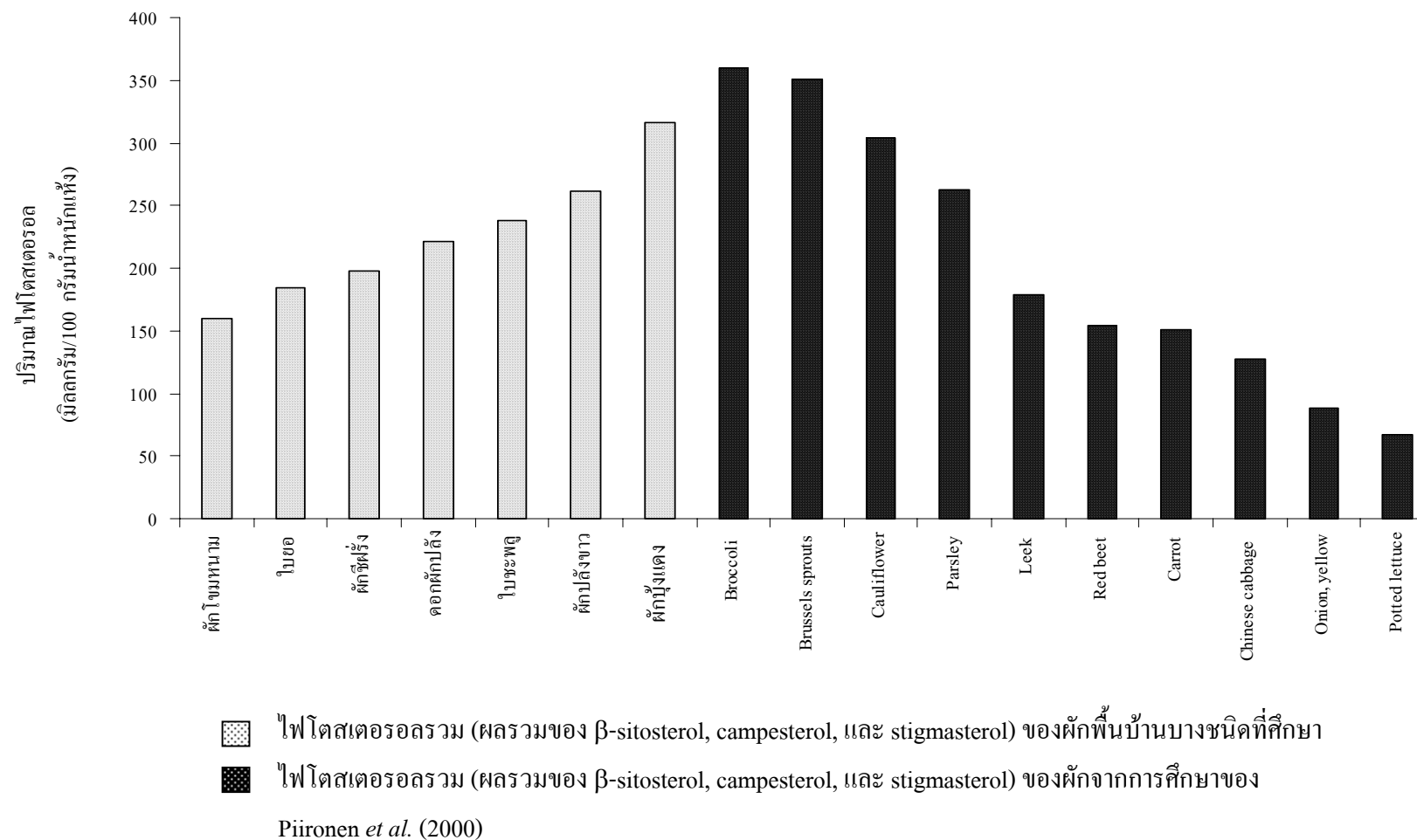
| ชนิดผัก    | ไฟโตสเตอรอล (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) |                   |                    |                   |                     |
|------------|---------------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
|            | $\beta$ -Sitosterol                         | Campesterol       | Stigmasterol       | Stigmastanol      | รวม                 |
| ผักปลังขาว | 89.8 <sup>ab</sup>                          | 48.0 <sup>a</sup> | 123.4 <sup>b</sup> | 1.0 <sup>a</sup>  | 262.2 <sup>bc</sup> |
| ผักโขมหนาม | 49.3 <sup>a</sup>                           | 42.8 <sup>a</sup> | 68.2 <sup>a</sup>  | 2.0 <sup>a</sup>  | 162.3 <sup>a</sup>  |
| ใบขมิ้น    | 85.2 <sup>ab</sup>                          | 47.7 <sup>a</sup> | 51.2 <sup>a</sup>  | 51.0 <sup>b</sup> | 235.1 <sup>ab</sup> |
| ใบชะพลู    | 115.7 <sup>b</sup>                          | 50.9 <sup>a</sup> | 71.7 <sup>a</sup>  | 0.5 <sup>a</sup>  | 238.8 <sup>ab</sup> |
| ผักชีฝรั่ง | n.d.                                        | n.d.              | 197.6 <sup>c</sup> | n.d.              | 197.6 <sup>ab</sup> |
| ผักบุ้งแดง | 180.7 <sup>c</sup>                          | 70.4 <sup>a</sup> | 65.2 <sup>a</sup>  | 2.4 <sup>a</sup>  | 318.7 <sup>c</sup>  |

หมายเหตุ <sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดังแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

n.d. = not detectable

Piironen *et al.* (2000) ศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอลใน ผัก ผลไม้ และ เบอรี่ และสกัดไฟโตสเตอรอลด้วยการย่อยสลายด้วยกรดร่วมกับด่าง และวิเคราะห์ brassicasterol, campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, avenasterols, stanols และสเตอรอลชนิดอื่นๆ พบว่าผักและผลไม้มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมอยู่ระหว่าง (ผลรวมของ brassicasterol, campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, avenasterols, stanols และสเตอรอลชนิดอื่นๆ) 25-410 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง โดยในผักดอกกะหล่ำ (Cauliflower) มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุดคือมากกว่า 400 มิลลิกรัม/

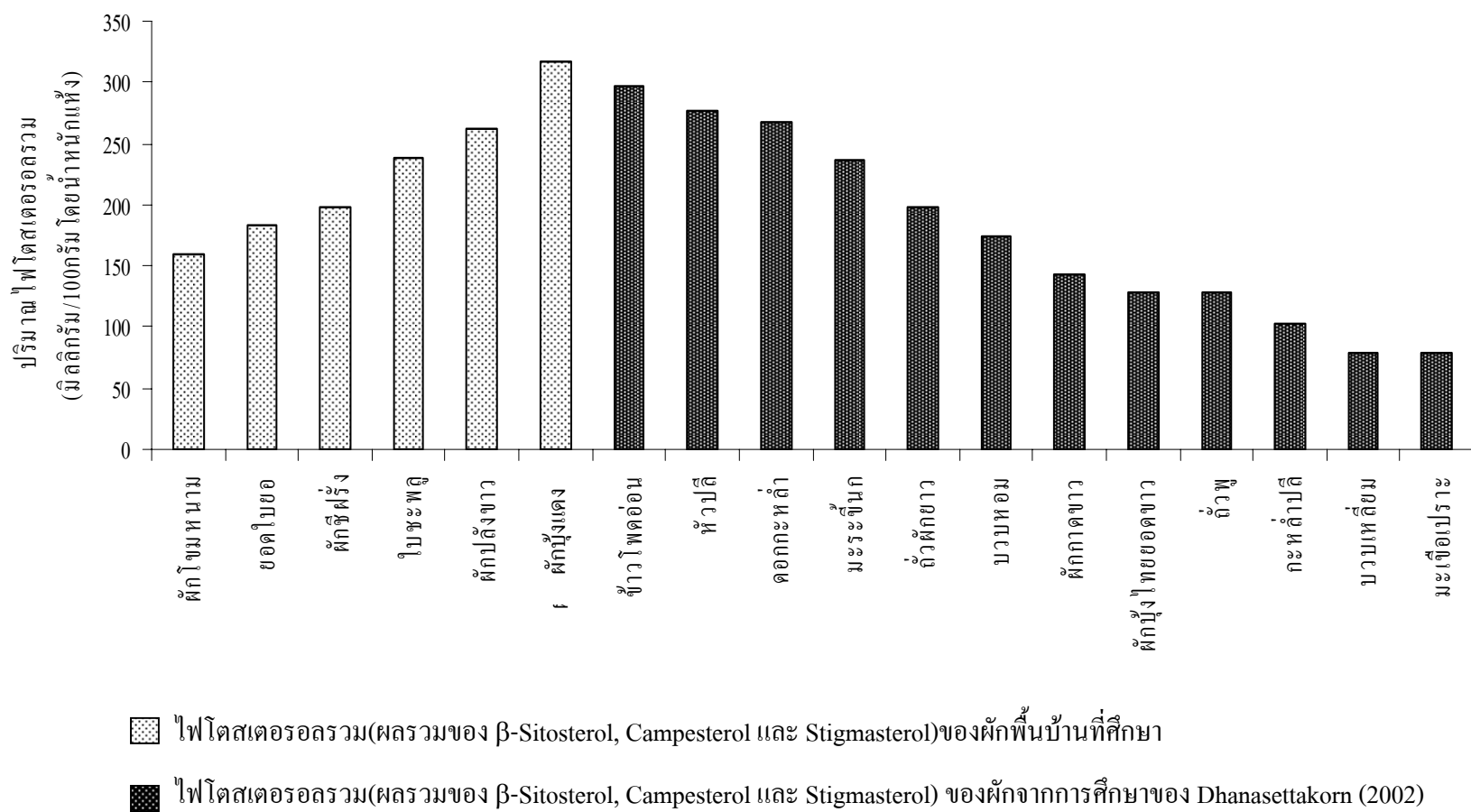
100 กรัมน้ำหนักแห้ง Broccoli มีปริมาณไฟโตสเตอรอล 300-400 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง Brussels sprouts, กะหล่ำปลี, dill, แดงกวา, potted lettuce และพริกหวาน (Sweet pepper, red) มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 200-300 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง แม้ว่าการศึกษาดังกล่าวศึกษาปริมาณของไฟโตสเตอรอลหลายชนิด (brassicasterol, campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, avenasterols, stanols และสเตอรอลชนิดอื่นๆ) แต่ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม(ผลรวมของ brassicasterol, campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, avenasterols, stanols และ สเตอรอลชนิดอื่นๆ) ของผักจากการศึกษาดังกล่าวพบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมของผักพื้นบ้านที่ศึกษาไฟโตสเตอรอลเพียง 4 ชนิด ( $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) เช่น ผักบุ้งแดง ใบยอ ใบชะพลู และผักปลังขาว และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol และ stigmasterol ของผักพื้นบ้าน และผักจากการศึกษา Piironen *et al.* (2000) จากภาพที่ 11 พบว่าผักบุ้งแดงมีปริมาณไฟโตสเตอรอลทั้งสามชนิดดังกล่าวใกล้เคียงกับ Broccoli (360 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) Brussels sprouts ( 351 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และ Cauliflower (304 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และสูงกว่าผักที่นิยมบริโภคบางชนิด เช่น Parsley (263 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) Carrot (151 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) Chinese cabbage (127 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) และ Potted lettuce (67 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง)



ภาพที่ 11 ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมโดยน้ำหนักแห้งของผักพื้นบ้านบางชนิดเปรียบเทียบกับผักจากการศึกษาของ Piironen et al. (2000)

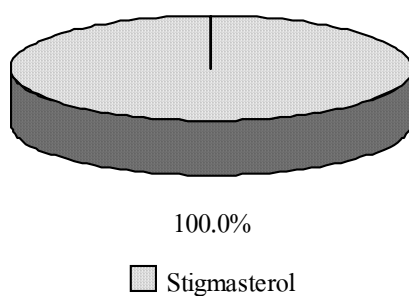
นอกจากนี้ Dhanasettakorn (2002) ศึกษาปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol และ stigmasterol ในผักกาดขาว กะหล่ำปลี ผักบุ้งไทย(ยอดขาว) ดอกกะหล่ำ หัวปลี ถั่วฝักยาว ถั่วพุ่ม บวบหอม บวบเหลี่ยม มะระจีนก มะเขือเปราะ ข้าวโพดอ่อน พบว่าผักดังกล่าวมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ $\beta$ -sitosterol, campesterol และ stigmasterol) 78.2-296.5 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งข้าวโพดฝักอ่อนมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุด (296.5 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) เมื่อเปรียบเทียบกับผักบุ้งแดง ผักปลังขาวใบชะพลู ผักชีฝรั่ง ใบขมิ้น และผักโขมหนาม ที่มีไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ $\beta$ -Sitosterol, Campesterol และ Stigmasterol) 316.2, 261.2, 238.3, 197.6, 184.1 และ 160.3 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ดังภาพที่ 11 พบว่าผักพื้นบ้านทั้ง 6 ชนิดมีปริมาณ ไฟโตสเตอรอลรวมสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผักที่นิยมบริโภค เช่น ผักกาดขาว (142.3 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) กะหล่ำปลี (103.3 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) และถั่วฝักยาว (198.3 มิลลิกรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมของผักบุ้งไทยยอดขาว (128.2 มิลลิกรัม/100 กรัมโดยน้ำหนักเปียก) จากรายงานของ Dhanasettakorn (2002) พบว่ามีปริมาณต่ำกว่าผักบุ้งแดง (316.2 มิลลิกรัม/100 กรัมโดยน้ำหนักเปียก) มากถึง 2.5 เท่า ทั้งนี้ปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชแต่ละชนิดอาจแตกต่างกันเนื่องจากโครงสร้างทางกายวิภาคของเนื้อเยื่อพืช พันธุกรรม ระดับความความแก่อ่อน สภาพการเพาะปลูก เช่น การขาดน้ำระหว่างการเพาะปลูก และการเปลี่ยนแปลงหลังเก็บเกี่ยว เช่น สภาพก่อนการเก็บรักษา (pre-storage treatment) และ สภาพการเก็บรักษา (Piironen *et al.*, 2002; 2003)

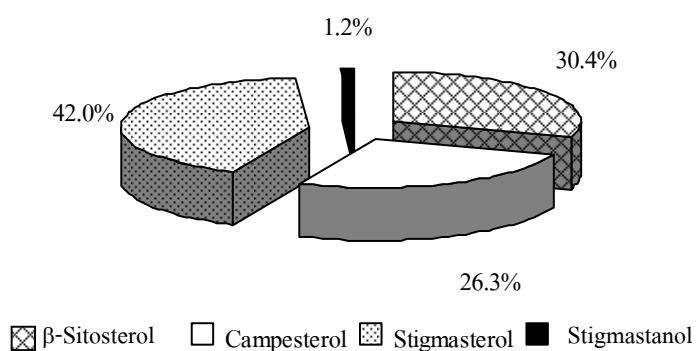


ภาพที่ 11 ไฟโตสเตอรอลรวมโดยน้ำหนักแห้งของผักพื้นบ้านเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Dhanasettakorn (2002)

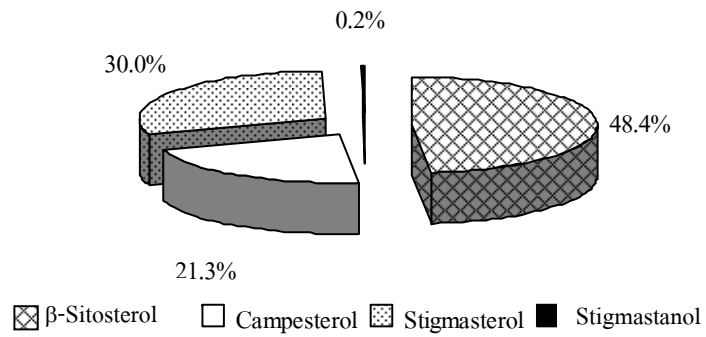
เมื่อพิจารณาไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิด พบว่าผักพื้นบ้านมีปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ตั้งแต่ไม่พบ (ผักชีฝรั่ง) จนถึง 180.7 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง คิดเป็นร้อยละ 0.0-56.7 (ภาพที่ 13-18)



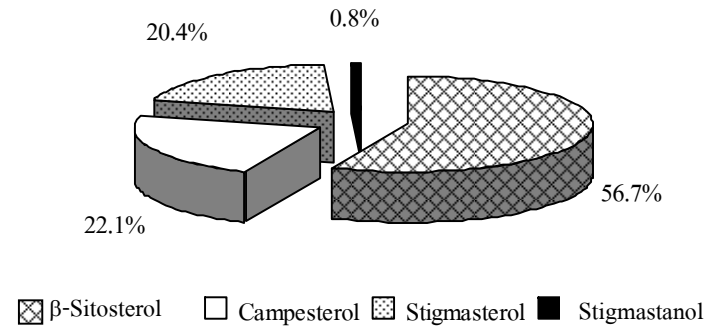
ภาพที่ 13 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในผักชีฝรั่ง



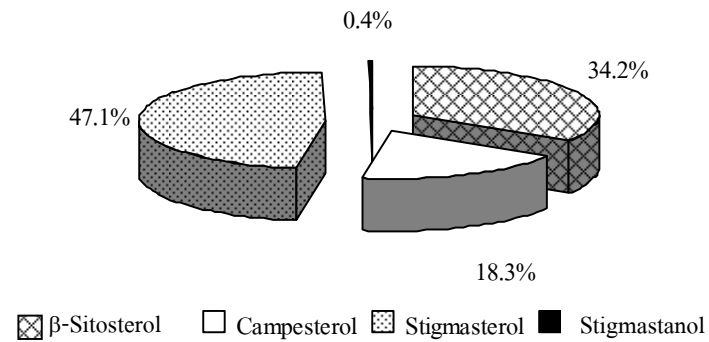
ภาพที่ 14 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในผักโขมหนาม



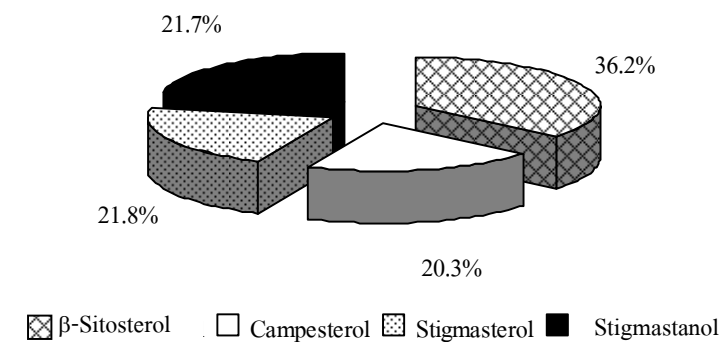
ภาพที่ 15 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในใบชะพลู



ภาพที่ 16 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในผักนึ่งแดง



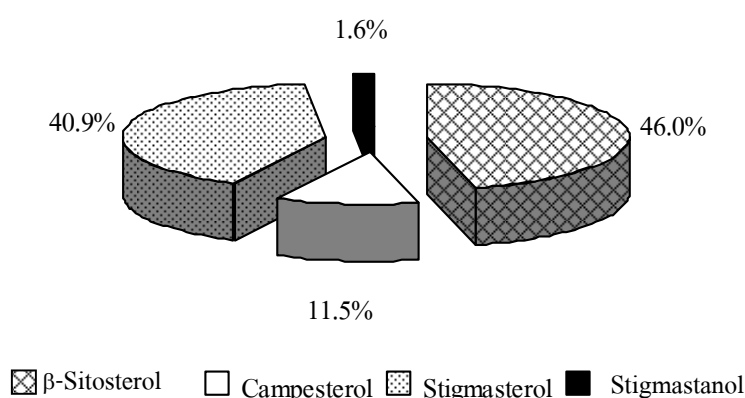
ภาพที่ 17 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในยอดผักปลังขาว



ภาพที่ 18 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในใบขอ

จากภาพที่ 13-18 พบว่าผักบึงแดงมีสัดส่วน  $\beta$ -sitosterol สูงสุดเมื่อเทียบผักพื้นบ้านชนิดอื่น ซึ่ง  $\beta$ -sitosterol นั้นเป็นไฟโตสเตอรอลที่พบมากที่สุดและพบในพืชแทบทุกชนิด (Clifton, 2002; Dhanasettakorn, 2002; Hicks and Moreau, 2001) Normén *et al.* (1999) รายงานว่าผักผลไม้แทบทุกชนิดยกเว้นเห็ด พบ  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดหลัก เช่นเดียวกับการศึกษาของ Dhanasettakorn (2002) ที่พบ  $\beta$ -sitosterol ในผักทุกชนิดที่ทำการศึกษาสูงกว่าไฟโตสเตอรอลชนิดอื่นๆ เช่นในผักกาดขาวพบ  $\beta$ -sitosterol ถึงร้อยละ 85 ของไฟโตสเตอรอลรวม และจากการศึกษาของ Piironen *et al.* (2000) พบว่าผักทุกชนิดในการศึกษามี  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดหลักซึ่งมีสัดส่วนมากถึง ร้อยละ 43-86 ยกเว้นแตงกวา และผักโขมที่มี  $\Delta^7$ -sterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดหลัก แต่เป็นที่น่าแปลกใจว่าการศึกษาครั้งนี้ไม่พบ  $\beta$ -sitosterol ในผักชีฝรั่ง รวมทั้ง campesterol และ stigmasterol ก็ไม่สามารถตรวจพบในใบผักชีฝรั่งได้เช่นกันเช่นกัน มีเพียง stigmasterol เท่านั้นที่พบในใบผักชีฝรั่งและพบในปริมาณมากถึง 197.57 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งอาจเนื่องมาจากอายุของเนื้อเยื่อพืช ดังผลการศึกษาของ Adler and Kasprzyk (1975) พบว่าเมื่อพืชอายุมากขึ้นจะมีปริมาณ stigmasterol สูงกว่าไฟโตสเตอรอลชนิดอื่น

จากการศึกษาเบื้องต้นของปริมาณและสัดส่วนของไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในยอดดอกของผักปลังขาวพบว่าดอกผักปลังขาวมี  $\beta$ -sitosterol เป็นองค์ประกอบสูงสุดเมื่อเทียบกับไฟโตสเตอรอลชนิดอื่นในดอกผักปลังขาว (ร้อยละ 46.0 ของไฟโตสเตอรอลรวม) ดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 สัดส่วนของไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดของดอกผักปลังขาว

แต่เมื่อเปรียบเทียบกับยอดผักปลัง พบว่ายอดผักปลังมี stigmasterol ในสัดส่วนมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับไฟโตสเตอรอลชนิดอื่น (ภาพที่ 17) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าส่วนต่างๆ ของผักที่นำมาวิเคราะห์มีผลต่อสัดส่วนของไฟโตสเตอรอล ทั้งนี้คาดว่าเป็นเพราะความแก่อ่อนของ เซลล์ผัก มีรายงานว่า stigmasterol ส่งผล disordering effect ต่อผนังเซลล์ และอัตราส่วนของ stigmasterol กับไฟโตสเตอรอลชนิดอื่นๆในplasma membrane เพิ่มขึ้นระหว่างการแก่ชราของพืช (senescence) (Moreau *et al.*, 2002) Adler and Kasprzyk (1974) พบว่า ในเนื้อเยื่อของ *Calendula officinalis* เมื่ออายุน้อยจะมี  $\beta$ -sitosterol โคเค้นและปริมาณมาก แต่เมื่อพืชอายุมากขึ้นจะมีปริมาณ stigmasterol สูงกว่าสเตอรอลชนิดอื่น

สำหรับปริมาณ stigmasterol ที่พบในใบขอ ผักบุ้งแดง ผักโขมหนาม ใบชะพลู และ ผักปลัง ขาวมีปริมาณ 51.2- 123.4 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง และมีสัดส่วนแตกต่างกันออกไปตั้งแต่ ร้อยละ20 จนถึงร้อยละ47 (ไม่รวมผักชีฝรั่งที่มีสัดส่วน stigmasterol ร้อยละ100) ส่วนปริมาณ campesterol ในผักพื้นบ้านนั้นพบว่ามีปริมาณตั้งแต่ 42.8 - 70.4 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงสัดส่วน campesterol ต่อไฟโตสเตอรอลรวมพบว่า campesterol มีสัดส่วนตั้งแต่ไม่ พบเลยจนถึงร้อยละ26.3

เมื่อพิจารณาปริมาณ stigmasterol ในผักทั้ง 6 ชนิดพบว่าไม่สามารถตรวจพบ stigmasterol ในใบผักชีฝรั่งในขณะที่ ผักปลังขาว, ผักโขมหนาม, ใบชะพลู และ ผักบุ้งแดง มีปริมาณ stigmasterol เพียง 0.53-2.44 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 0.22-1.22 แต่เป็นที่ น่าแปลกใจที่ ใบขอมีปริมาณ stigmasterol สูงถึง 51.02 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง คิดเป็น สัดส่วนถึงร้อยละ 21.7 จากปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในใบขอ ซึ่ง stigmasterol จัดอยู่ในกลุ่มไฟ โตสเตอรอลซึ่งพบได้น้อยหรือแทบไม่พบเลยในธรรมชาติ โดยทั่วไปไฟโตสเตอรอลมักได้จาก ปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนของไฟโตสเตอรอล (Clifton, 2002; Hicks and Moreau, 2001; IFST, 2000) ไฟโตสเตอรอลที่มักพบได้บ้างคือ  $\beta$ -sitosterol และ campestanol ดังเช่นการศึกษาของ Normén *et al.* (1999) ที่พบ  $\beta$ -sitosterol และcampestanol ในผักและผลไม้ปริมาณเพียง 0-0.35 และ 0-0.8 มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักเปียก ตามลำดับ ส่วน stigmasterol นั้นไม่มีการศึกษา ซึ่งปริมาณ stigmasterol ที่พบได้มากในใบขอนั้นไม่เคยมีรายงานมาก่อนทั้งในใบขอและพืชผักชนิดอื่นๆ

เมื่อพิจารณาสัดส่วนของไฟโตสเตอรอลทั้งสี่ชนิดดังภาพที่ 12-17 พบว่าสามารถแบ่งผักที่ทำการวิเคราะห์ให้ได้ออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มี  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลหลัก ( $\beta$ -sitosterol ร้อยละ 36-57 ของไฟโตสเตอรอลรวม) และกลุ่มที่มี stigmasterol เป็นไฟโตสเตอรอลหลัก (stigmasterol ร้อยละ 42-100 ของไฟโตสเตอรอลรวม) กลุ่มแรกนั้นเป็นคุณสมบัติทั่วไปของพืชที่มักมี  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลหลัก (Moreau *et al.*, 2002) ซึ่งผักที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ใบขมิ้น ใบชะพลู และผักบุ้งแดง เช่นเดียวกับผักชนิดอื่น ๆ กลุ่มที่สองที่มี stigmasterol เป็นไฟโตสเตอรอลหลักนั้นยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน มีเพียงแต่รายงานของ Normén *et al.* (1999) ที่พบว่ามีเพียงต้นขึ้นฉ่ายฝรั่งเท่านั้นที่มีอัตราส่วนของ  $\beta$ -sitosterol และ stigmasterol ใกล้เคียงกัน ซึ่งผักที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ผักโขมหนามและ ผักปลังขาว

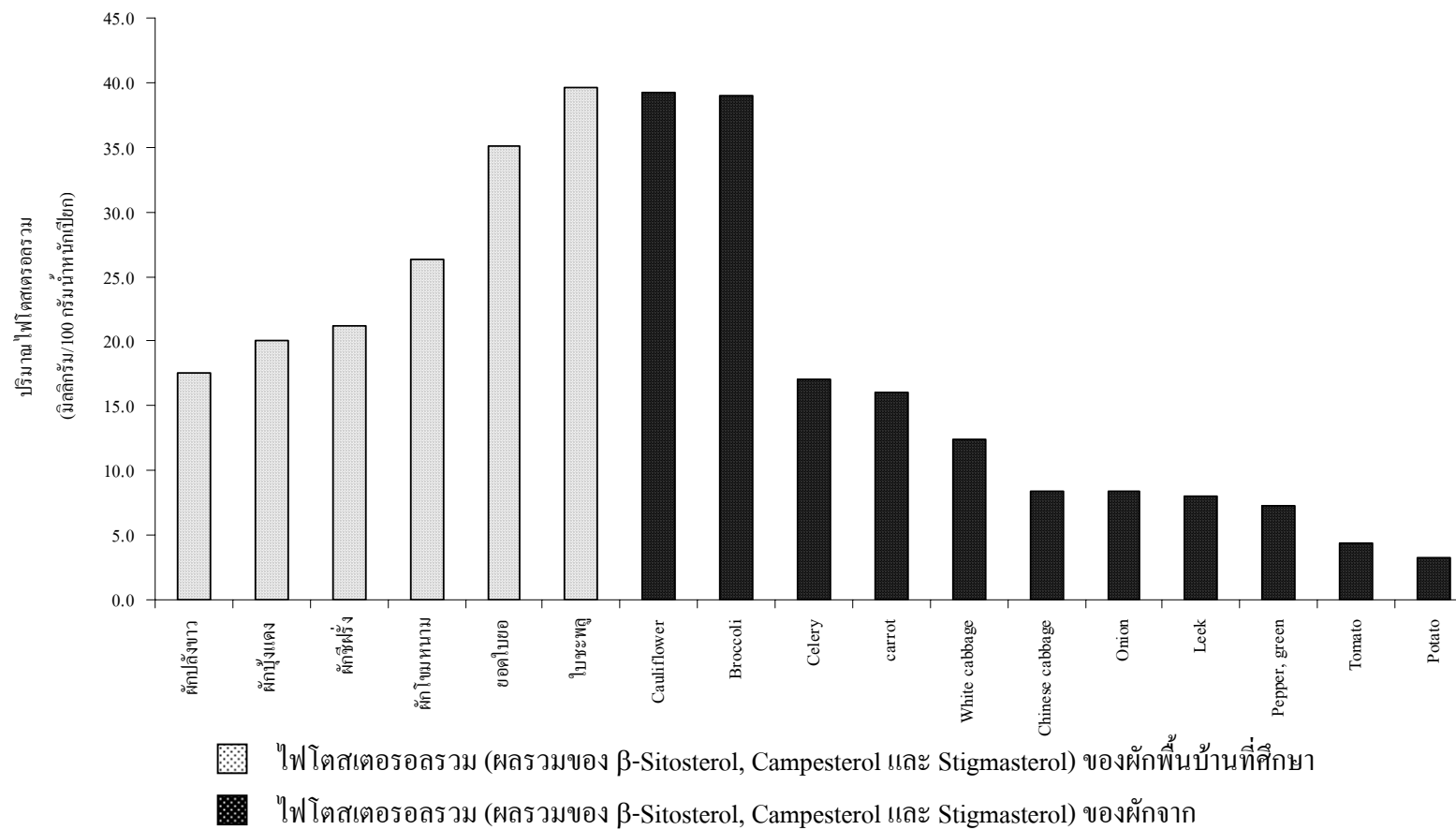
เมื่อพิจารณาปริมาณไฟโตสเตอรอลต่อน้ำหนักเปียก (ตารางที่ 7) พบว่าผักที่มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุดนั้นมีใช่ผักบุ้งแดงเนื่องจากมีปริมาณความชื้นสูงดังตารางภาคผนวกที่ 1 แต่กลับเป็นใบขมิ้นที่มีปริมาณไฟโตสเตอรอลสูงสุดคือ 44.91 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก ส่วนใบชะพลู ผักโขมหนาม ผักบุ้งแดงใบผักชีฝรั่ง และ ผักปลังขาว มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 39.67, 26.68, 23.36, 21.18 และ 17.64 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียกตามลำดับ Normén *et al.* (1999) รายงานปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในผักอยู่ระหว่าง 3.8-50 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก โดยพบว่าผักที่มีปริมาณไฟโตสเตอรอลสูงคือ บล็อกโคลี่ (39 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก), Brussels sprouts (43 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก) และดอกกะหล่ำ (40 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก) ซึ่งผักดังกล่าวมีปริมาณไฟโตสเตอรอลต่ำกว่าใบขมิ้น และมีปริมาณใกล้เคียงกับใบชะพลู และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ  $\beta$ -sitosterol campesterol และ stigmasterol ซึ่งเป็นไฟโตสเตอรอลชนิดที่พบมากที่สุดที่สุดในพืชในผักพื้นบ้านที่ทำการศึกษาและจากการศึกษาของ Normén *et al.* (1999) (ภาพที่ 19) พบว่าใบชะพลูนั้นมีปริมาณผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol campesterol และ stigmasterol ใกล้เคียงกับ Cauliflower (39.2 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก) และ Broccoli (39 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก) และผักพื้นบ้านทุกชนิดที่ทำการศึกษามีปริมาณผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol campesterol และ stigmasterol สูงกว่า Celery (17 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก) Carrot (16 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก) White cabbage (12.4 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก) Tomato (4.38 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก) Potato (3.31 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก)

ตารางที่ 7 ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และ ผักบุ้งแดง (น้ำหนักเปียก)<sup>1/</sup>

| เวลาการย่อยสลาย<br>กรด/ต่าง(นาทีก) | ไฟโตสเตอรอล (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก) |                  |                   |                  |                    |
|------------------------------------|----------------------------------------------|------------------|-------------------|------------------|--------------------|
|                                    | $\beta$ -Sitosterol                          | Campesterol      | Stigmasterol      | Stigmastanol     | รวม                |
| ผักปลังขาว                         | 6.0 <sup>a</sup>                             | 3.2 <sup>a</sup> | 8.3 <sup>ab</sup> | 0.1 <sup>a</sup> | 17.6 <sup>a</sup>  |
| ผักโขมหนาม                         | 8.1 <sup>ab</sup>                            | 7.0 <sup>a</sup> | 11.2 <sup>b</sup> | 0.3 <sup>a</sup> | 26.7 <sup>ab</sup> |
| ขอดีขอ                             | 16.3 <sup>bc</sup>                           | 9.1 <sup>a</sup> | 9.8 <sup>b</sup>  | 9.7 <sup>b</sup> | 44.9 <sup>c</sup>  |
| ใบชะพลู                            | 19.2 <sup>c</sup>                            | 8.5 <sup>a</sup> | 11.9 <sup>b</sup> | 0.1 <sup>a</sup> | 39.7 <sup>bc</sup> |
| ผักชีฝรั่ง                         | n.d.                                         | n.d.             | 21.2 <sup>c</sup> | n.d.             | 21.2 <sup>a</sup>  |
| ผักบุ้งแดง                         | 11.4 <sup>abc</sup>                          | 4.5 <sup>a</sup> | 4.1 <sup>a</sup>  | 0.2 <sup>a</sup> | 20.2 <sup>a</sup>  |

หมายเหตุ <sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

n.d. = not detectable



การศึกษาของ Normén *et al.* (1999)

ภาพที่ 20 ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมโดยน้ำหนักเปียกของผักพื้นบ้านบางชนิดในประเทศไทยเปรียบเทียบกับผักจากการศึกษาของ Normén *et al.* (1999)

จากข้อมูลการศึกษาข้างต้นอาจกล่าวได้ว่าผักรับประทานของไทยเป็นแหล่งของไฟโตสเตอรอลเมื่อพิจารณาจากน้ำหนักแห้ง ซึ่งอาจเหมาะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพทดแทนไฟโตสเตอรอลจากแหล่งวัตถุดิบราคาแพง นอกจากนี้เมื่อพิจารณาไฟโตสเตอรอลในผักรับประทานต่อน้ำหนักเปียกหรือเพื่อการบริโภคโดยทั่วไป เช่น การบริโภคสด ต้ม นึ่ง และผัด การบริโภคผักรับประทานนั้นทำให้สามารถได้รับปริมาณไฟโตสเตอรอลสูงกว่าหรือใกล้เคียงกับผักที่นิยมบริโภค เช่น แครอท ผักกาดขาว กะหล่ำปลี ดอกกะหล่ำและบล็อคโคลี่

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในข้าวกล้อง 5 สายพันธุ์

จากการศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอลทั้งในรูปอิสระและคอนจูเกต 4 ชนิด คือ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmastanol และไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) ในข้าวกล้อง (*Oryza sativa* L.) 5 สายพันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ 105 ปทุมธานี 1 ชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 และสุพรรณบุรี 2 ซึ่งมีคุณสมบัติดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ชนิดและคุณสมบัติประจำพันธุ์ของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์

| ชื่อพันธุ์ข้าว | ชนิด        | ปริมาณมิลลิกรัม (ร้อยละ) | คุณภาพข้าวสุก                 |
|----------------|-------------|--------------------------|-------------------------------|
| ขาวดอกมะลิ 105 | ข้าวเจ้าหอม | 12-17                    | อ่อนนุ่ม หอม                  |
| ปทุมธานี 1     | ข้าวเจ้าหอม | 17.8                     | ค่อนข้างเหนียว มีกลิ่นหอมอ่อน |
| สุพรรณบุรี 2   | ข้าวเจ้า    | 22-23                    | อ่อนนุ่ม                      |
| ชัยนาท 1       | ข้าวเจ้า    | 26-27                    | ร่วนและแข็ง                   |
| สุพรรณบุรี 1   | ข้าวเจ้า    | 29                       | ร่วนและแข็ง                   |

ที่มา : สถาบันวิจัยข้าว (ม.ป.ป.)

จากตารางที่ 8 สามารถแบ่งข้าวออกเป็นสองกลุ่มตามชนิดของข้าวคือ ข้าวเจ้าและข้าวเจ้าหอม และเมื่อพิจารณาตามคุณภาพข้าวสุกสามารถแบ่งออกเป็นสองกลุ่มเช่นกัน คือ ข้าวที่หุงแล้วมีลักษณะอ่อนนุ่ม และข้าวที่เมื่อหุงสุกแล้วมีลักษณะร่วนและแข็ง ซึ่งลักษณะดังกล่าวอาจสืบเนื่องมาจากปริมาณอมิโลสที่เป็นองค์ประกอบของข้าว นอกจากนี้ข้าวอาจสามารถแบ่งตามปริมาณอมิโลสได้เช่นกันดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปริมาณอมิโลสในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์

| ประเภทข้าว    | ปริมาณอมิโลส (ร้อยละ) | ชื่อพันธุ์ข้าว              |
|---------------|-----------------------|-----------------------------|
| อมิโลสต่ำ     | 12-20                 | ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี1 |
| อมิโลสปานกลาง | 20-25                 | สุพรรณบุรี2                 |
| อมิโลสสูง     | 25-33                 | ชัยนาท1 และสุพรรณบุรี1      |

ที่มา : สถาบันวิจัยข้าว (2542); Juliano (1992)

จากตารางที่ 9 สามารถแบ่งข้าวกล้องที่ใช้ในการทดลองออกเป็นสามประเภท ได้แก่ ข้าวที่มีอมิโลสต่ำ ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี1 ข้าวที่มีอมิโลสปานกลาง ได้แก่ ข้าวสุพรรณบุรี2 และข้าวที่มีอมิโลสสูง ได้แก่ ข้าวชัยนาท 1 และข้าวสุพรรณบุรี 1 และข้าวกล้อง 5 สายพันธุ์มีปริมาณความชื้นและไขมัน (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ปริมาณความชื้นและไขมันของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์<sup>1/</sup>

| พันธุ์ข้าวกล้อง | ความชื้น (ร้อยละ)  | ไขมัน (ร้อยละ)     |
|-----------------|--------------------|--------------------|
| ขาวดอกมะลิ105   | 12.56 <sup>a</sup> | 3.03 <sup>a</sup>  |
| ปทุมธานี1       | 12.90 <sup>b</sup> | 3.31 <sup>a</sup>  |
| สุพรรณบุรี2     | 12.99 <sup>b</sup> | 3.57 <sup>ab</sup> |
| ชัยนาท 1        | 12.57 <sup>a</sup> | 3.89 <sup>b</sup>  |
| สุพรรณบุรี1     | 12.59 <sup>a</sup> | 3.98 <sup>b</sup>  |

หมายเหตุ <sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งแสดงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 ( $p < 0.05$ )

จากตารางที่ 10 พบว่าข้าวแต่ละสายพันธุ์มีความชื้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และมีความชื้นเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 12.56-12.99 ปริมาณความชื้นดังกล่าวอยู่ในช่วงเดียวกับมาตรฐานข้าวหอมมะลิปี 2544 (กำหนดว่าควรมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 14) (สถาบันวิจัยข้าว, ม.ป.ป.) เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์ พบว่าข้าวกล้องทั้ง 5 สายพันธุ์มีไขมันอยู่ระหว่างร้อยละ 3.03 - 3.98 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งข้าวขาวดอกมะลิ105 มีปริมาณร้อยละไขมันต่ำสุดที่ร้อยละ 3.03 ของน้ำหนักแห้ง แต่ปริมาณร้อยละไขมันดังกล่าวมีปริมาณแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) กับข้าวสายพันธุ์ปทุมธานีและสุพรรณบุรี 2 ส่วนสายพันธุ์สุพรรณบุรี1 และชัยนาท 1 มีปริมาณร้อยละไขมันสูงกว่าข้าวกล้องสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสามารถแบ่งข้าวแต่ละสายพันธุ์ตามร้อยละไขมันออกได้เป็น 3 กลุ่มคือข้าวกล้องที่มีร้อยละของไขมันต่ำคือสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และปทุมธานี ข้าวกล้องร้อยละไขมันปานกลางคือสายพันธุ์สุพรรณบุรี 2 และข้าวกล้องร้อยละของไขมันสูงสุพรรณบุรี1 และชัยนาท ซึ่งผลของร้อยละไขมันในข้าวกล้องดังกล่าวอาจส่งผลเนื่องมาจากสัดส่วนของรำข้าวหรือเยื่อหุ้มเมล็ด (tegmen หรือ seed coat) ซึ่งเป็นที่อยู่ของสารประเภทไขมัน (fatty material) และเยื่ออาลูโรน (aleurone) และ embryo (คัพภะ) แต่ละสายพันธุ์ไม่เท่ากัน

จากการศึกษาปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmastanol และไฟโต-สเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) พบว่าวิธีการวิเคราะห์ ไฟโตสเตอรอลที่ใช้ในการทดลองมีความเหมาะสมและแม่นยำ โดยผลการวิเคราะห์ ปริมาณไฟโต-สเตอรอลรวมในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์มีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรผัน (Coefficient of Variation, CV) ร้อยละ 6.55-8.38 ดังตารางที่ 11

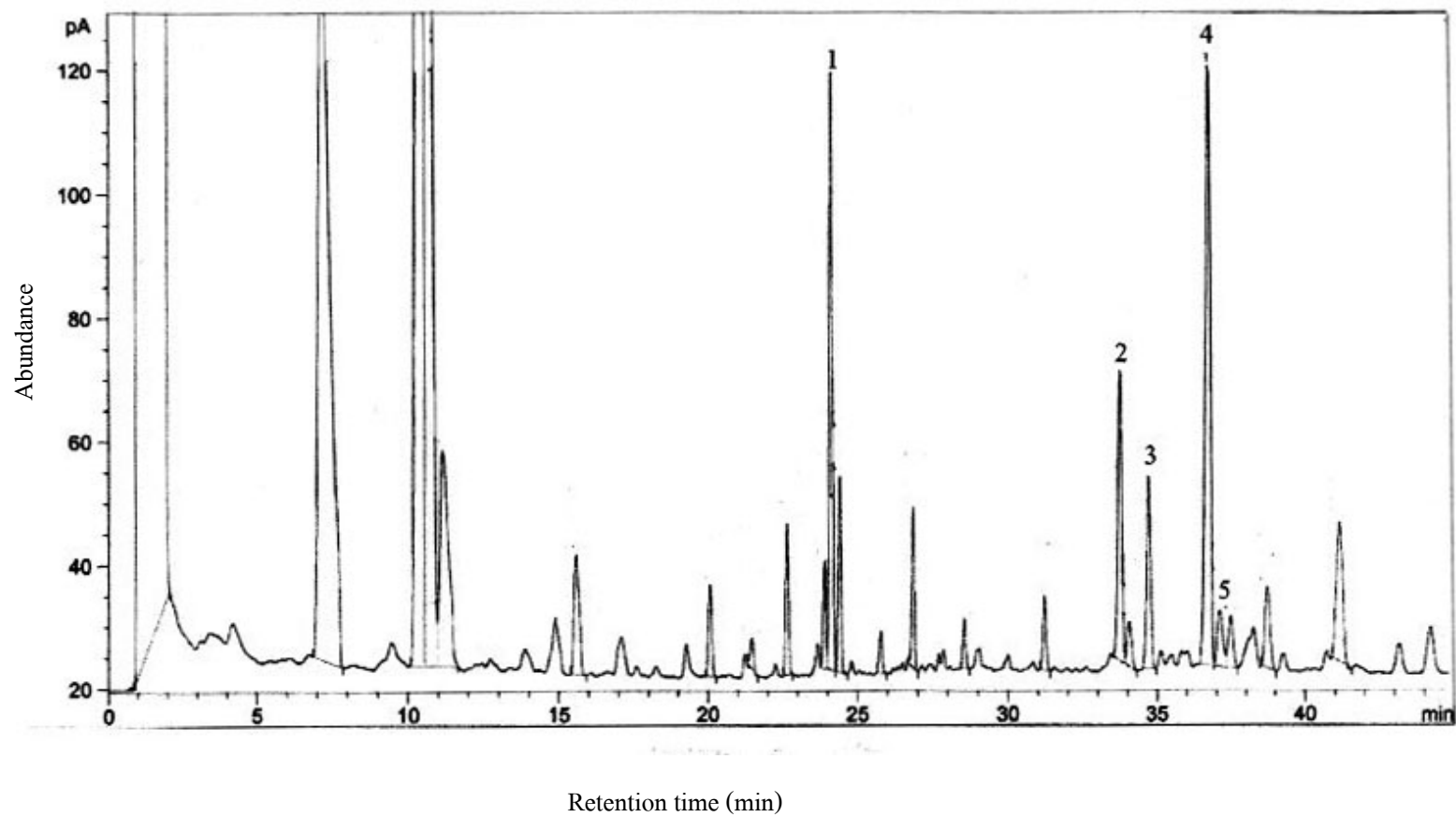
ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลรวมของข้าวกล้องที่ใช้ในการทดลอง

| พันธุ์ข้าว     | ไฟโตสเตอรอลรวม<br>(มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักแห้ง) | Range         | SD    | CV (ร้อยละ) |
|----------------|--------------------------------------------------|---------------|-------|-------------|
| ขาวดอกมะลิ 105 | 35.4                                             | 34.02-38.09   | 2.32  | 6.55        |
| ปทุมธานี1      | 83.2                                             | 79.74-91.60   | 5.95  | 6.97        |
| สุพรรณบุรี2    | 96.7                                             | 92.37-104.50  | 6.76  | 6.99        |
| ชัยนาท1        | 131.8                                            | 120.11-142.12 | 11.03 | 8.38        |
| สุพรรณบุรี1    | 78.8                                             | 74.25-86.23   | 6.47  | 8.21        |

หมายเหตุ SD หมายถึง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

CV หมายถึง สัมประสิทธิ์ของความแปรผัน (Coefficient of Variation)

จากการวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในข้าวกล้องด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีให้ผลการวิเคราะห์ดังโครมาโตแกรมในภาพที่ 21



ภาพที่ 21 โครมาโตแกรมของข้าวกล้องขาวดอกมะลิ 105

หมายเหตุ พีกที่ 1 คือ 5 $\alpha$ -cholestane (internal standard), พีกที่ 2 คือ campesterol, พีกที่ 3 คือ stigmasterol, พีกที่ 4 คือ  $\beta$ -sitosterol, และพีกที่ 5 คือ stigmasterol

ปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmasterol และไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmasterol) ของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์แสดงดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ปริมาณและสัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์<sup>1/</sup>

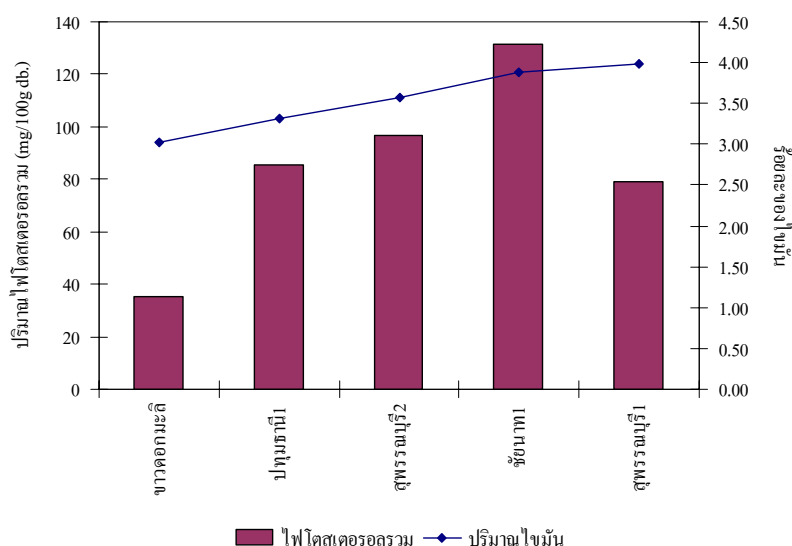
| พันธุ์ข้าว     | ไฟโตสเตอรอล (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) |                    |                   |                   |                    |
|----------------|---------------------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
|                | $\beta$ -Sitosterol                         | Campesterol        | Stigmasterol      | Stigmasterol      | รวม                |
| ขาวดอกมะลิ 105 | 19.0 <sup>a</sup>                           | 7.3 <sup>a</sup>   | 6.3 <sup>a</sup>  | 2.8 <sup>a</sup>  | 35.4 <sup>a</sup>  |
| ปทุมธานี 1     | 39.3 <sup>b</sup>                           | 23.8 <sup>c</sup>  | 17.8 <sup>c</sup> | 2.2 <sup>a</sup>  | 83.2 <sup>bc</sup> |
| สุพรรณบุรี 2   | 51.3 <sup>c</sup>                           | 21.6 <sup>bc</sup> | 18.3 <sup>c</sup> | 5.5 <sup>b</sup>  | 96.7 <sup>c</sup>  |
| ชัยนาท 1       | 68.0 <sup>d</sup>                           | 30.4 <sup>d</sup>  | 23.5 <sup>d</sup> | 10.0 <sup>d</sup> | 131.8 <sup>d</sup> |
| สุพรรณบุรี 1   | 40.6 <sup>b</sup>                           | 18.3 <sup>b</sup>  | 14.5 <sup>b</sup> | 5.4 <sup>b</sup>  | 78.8 <sup>b</sup>  |

หมายเหตุ <sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดังหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

จากตารางที่ 12 พบว่าข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดและไฟโตสเตอรอลรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ข้าวกล้องทั้ง 5 สายพันธุ์มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมระหว่าง 131.8 - 35.4 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง โดยปริมาณข้าวกล้องสายพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุดที่ 131.8 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ส่วนข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ปทุมธานี 1 สุพรรณบุรี 1 และขาวดอกมะลิ 105 มีไฟโตสเตอรอลรวม 96.7, 83.2, 78.8 และ 35.4 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ เมื่อพิจารณาตามประเภทของข้าวกล้องพบว่าข้าวที่มีอมิโลสต่ำ เช่น ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวปทุมธานี 1 มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมต่ำกว่าข้าวชนิดอื่น ส่วนข้าวที่มีอมิโลสสูงอย่างข้าวชัยนาท 1 นั้นมีปริมาณ

ไฟโตสเตอรอลรวมสูงกว่าข้าวชนิดอื่น Piironen *et al.* (2002) รายงานปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol และ stigmasterol ในข้าวกล้อง 71.84 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับข้าวกล้องสุพรรณบุรี 1 Normen *et al.* (2002) รายงานว่าข้าวกล้องหุงสุกมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 26.8 มิลลิกรัม/100 กรัมของส่วนที่บริโภค ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกล้องหุงสุกมีความชื้นประมาณร้อยละ 64.5 (คณะกรรมการสวัสดิการกรมอนามัย, 2545) ข้าวกล้องจากรายงานของ Normen *et al.* (2002) จะมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม ประมาณ 75.5 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และพันธุ์สุพรรณบุรี 1

จากตารางที่ 12 จะเห็นได้ว่าข้าวที่นิยมบริโภคอย่างข้าวขาวดอกมะลิ 105 นั้นกลับมี ไฟโตสเตอรอลต่ำกว่าข้าวที่มีมิโลสสูงที่ไม่เป็นที่นิยมบริโภคอย่างข้าวสายพันธุ์ชัยนาท 1 มากถึง 3.7 เท่า อาจเนื่องจากไฟโตสเตอรอลสามารถพบได้ในส่วนที่ละลายได้ในไขมันของพืช ซึ่งข้าวขาวดอกมะลิ 105 นั้นมีสัดส่วนปริมาณไขมันต่ำกว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันในข้าวกล้องและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์ดังภาพที่ 22

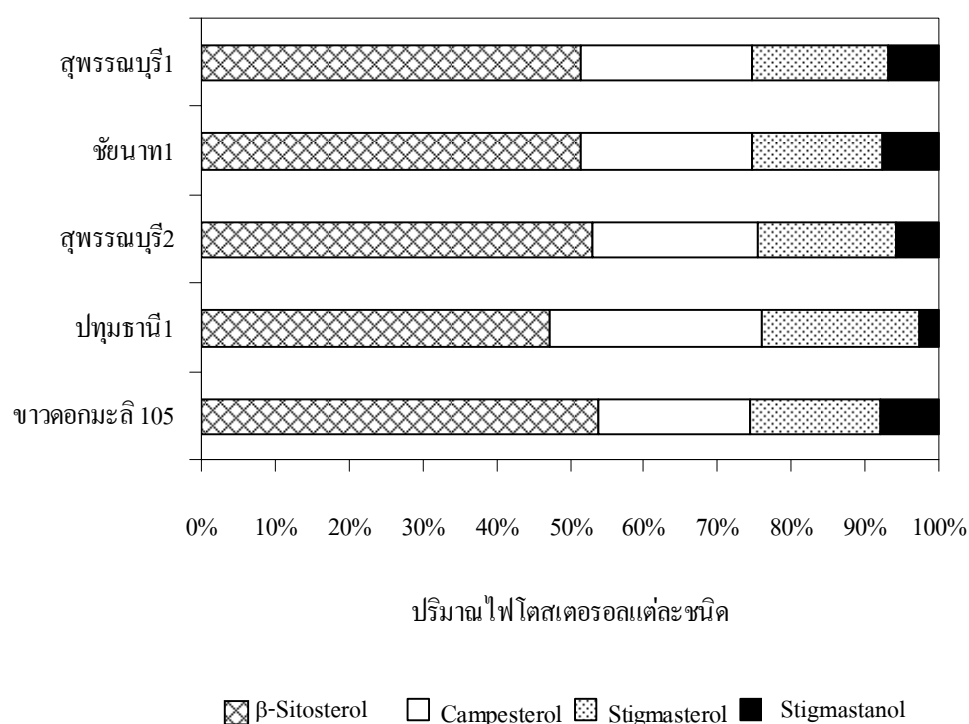


ภาพที่ 22 ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -Sitosterol, Campesterol, Stigmasterol และ Stigmastanol) และร้อยละไขมันในข้าวกล้อง

จากการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation) พบว่าปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในข้าวกล้องมีความสัมพันธ์กัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination,  $R^2$ ) เท่ากับ 0.569 และ 0.324 ตามลำดับ ดังตารางผนวกที่ ค28 และเมื่อวิเคราะห์การถดถอย (Regression analysis) ระหว่างปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในข้าวกล้องพบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังสมการ  $y = 41.40x - 62.075$  เมื่อ  $y$  คือ ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในข้าวกล้อง (มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง) และ  $x$  คือ ปริมาณร้อยละไขมันในข้าวกล้อง ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าเมื่อปริมาณไขมันในข้าวกล้องเพิ่มขึ้นปริมาณไฟโตสเตอรอลในข้าวกล้องเพิ่มขึ้นเช่นกัน ดังเช่นการศึกษาของ Piironen *et al.* (2002) พบว่าในส่วนของรำข้าวสาลีและรำข้าวไรน์มีปริมาณไฟโตสเตอรอลมากกว่าแป้งที่ผลิตจากข้าวทั้งสองชนิดนี้อยู่ถึงร้อยละ 15 จากปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมทั้งนี้เนื่องจากส่วนที่เป็นรำข้าวมีไขมันเป็นองค์ประกอบสูงกว่าส่วนที่เป็นแป้ง

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้นไฟโตสเตอรอลรวมของข้าวทั้ง 5 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Määtä *et al.* (1999) ที่พบว่าสายพันธุ์ของข้าวโอ๊ตมีผลต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่สถานที่เพาะปลูกนั้นไม่ส่งผลต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลในข้าวโอ๊ต ต่อมา Amaral *et al.* (2003) พบว่าสายพันธุ์ส่งผลต่อสัดส่วนและชนิดไฟโตสเตอรอล (profile) ของถั่ววอลนัท

ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมที่แตกต่างกันของข้าวแต่ละสายพันธุ์นั้นเนื่องมาจากปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้  $\beta$ -sitosterol ยังเป็นไฟโตสเตอรอลหลักในข้าวซึ่งมีมากถึง 67.95-19.04 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง หรือร้อยละ 46.05-53.77 ของไฟโตสเตอรอลรวม รองลงมาคือ campesterol มีปริมาณ 7.30-30.39 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง หรือร้อยละ 20.62-27.90 ของไฟโตสเตอรอลรวม และ stigmasterol ที่มีปริมาณ 6.31-23.53 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง หรือร้อยละ 17.82-20.84 ของไฟโตสเตอรอลรวม ส่วน stigmastanol พบในปริมาณที่น้อยเพียง 2.22-9.97 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง หรือเพียงร้อยละ 1.60-7.82 เท่านั้น (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 23 ปริมาณสัดส่วนของไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดต่อไฟโตสเตอรอลรวมของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงสัดส่วนของ  $\beta$ -sitosterol : campesterol : stigmasterol ซึ่งเป็นไฟโตสเตอรอลชนิดหลักของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์ดังภาพที่ 22 พบว่าข้าวทุกสายพันธุ์มีสัดส่วน  $\beta$ -sitosterol : campesterol : stigmasterol โดยประมาณเท่ากับ 3 : 1 : 1 ยกเว้นสายพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่มีสัดส่วนแตกต่างออกไปคือ 2 : 1 : 1

นอกจาก  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol ที่สามารถพบได้ในข้าวแล้ว cycloartanol และ 24-methylene cycloartenol หรือที่เรียกว่า oryzanol ยังสามารถพบได้ในปริมาณมากในข้าวเช่นกัน (Moreau *et al.*, 2002) จากข้อมูลการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นเมื่อพิจารณาจากปริมาณไฟโตสเตอรอลที่พบในข้าวกล้อง การนำข้าวไปใช้เพื่อการบริโภคเป็นข้าวสุกนั้น การบริโภคข้าวปทุมธานี 1 ทำให้ได้รับปริมาณไฟโตสเตอรอลในมากกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105

ถึง 2.4 เท่า โดยมีคุณสมบัติข้าวสุกที่อ่อนนุ่ม และความหอมใกล้เคียงกัน (สถาบันวิจัยข้าว, ม.ป.ป.) ส่วนข้าวชัณนาท1 ที่มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงกว่าข้าวชนิดอื่น แต่เป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีอมิโลสสูง (คุณภาพข้าวหุงสุกร่วนและแข็ง) จึงไม่เหมาะกับการบริโภค แต่เนื่องจากข้าวพันธุ์ชัณนาท1 มีปริมาณไฟโตสเตอรอลสูงและราคาถูกจึงเหมาะแก่การนำไปแปรรูปเพื่อผลิตอาหารเพื่อสุขภาพ

#### 4. การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย

จากการศึกษาปริมาณไฟโตสเตอรอลไฟโตสเตอรอลทั้งในรูปอิสระและคอนจูเกต 4 ชนิด คือ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmastanol และไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) ในพืชตระกูลถั่ว 5 ชนิดคือถั่วดำ (*Bruguiera parviflora* Weight ) ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek ) ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr ) ถั่วลิสง *Arachis hypogaea* L และ ถั่วแระหลวง (*Phaseolus vulgaris* Linn) และลูกเดือย (*Coix lachryma-jobi* L) พบว่ามีปริมาณความชื้นและไขมันดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ปริมาณความชื้นและไขมันในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย<sup>1</sup>

| ชนิดธัญชาติ | ความชื้น (ร้อยละ)  | ไขมัน (ร้อยละ)    |
|-------------|--------------------|-------------------|
| ถั่วเขียว   | 11.1 <sup>bc</sup> | 0.9 <sup>a</sup>  |
| ถั่วแระหลวง | 12.5 <sup>d</sup>  | 1.3 <sup>a</sup>  |
| ถั่วดำ      | 13.2 <sup>c</sup>  | 1.4 <sup>a</sup>  |
| ถั่วเหลือง  | 11.3 <sup>c</sup>  | 20.0 <sup>c</sup> |
| ถั่วลิสง    | 7.9 <sup>a</sup>   | 32.9 <sup>d</sup> |
| ลูกเดือย    | 10.8 <sup>b</sup>  | 8.2 <sup>b</sup>  |

หมายเหตุ <sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

จากตารางที่ 11 พบว่าพืชตระกูลถั่วและลูกเดี๋ยมีความชื้นประมาณร้อยละ 7.9-13.2 และมีไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่ในช่วงร้อยละ 0.9 -32.9 ซึ่งถั่วเขียวมีปริมาณไขมันต่ำสุด (ร้อยละ 0.9 น้ำหนักแห้ง) แต่ปริมาณไขมันดังกล่าวมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) กับ ถั่วดำและถั่วแดงหลวง ในขณะที่ถั่วลิสงมีปริมาณไขมันสูงสุดที่ (ร้อยละ 32.9 น้ำหนักแห้ง) และมีความแตกต่างกับพืชตระกูลถั่วชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p\leq 0.05$ ) เมื่อทำการแบ่งกลุ่มพืชตระกูลถั่วและลูกเดี๋ยที่นำมาทดลองโดยใช้ปริมาณไขมันเป็นเกณฑ์ พบว่าสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 การแบ่งกลุ่มพืชตระกูลถั่วและลูกเดี๋ยตามปริมาณไขมัน

| ประเภท                          | ชนิด                            |
|---------------------------------|---------------------------------|
| พืชตระกูลถั่วไขมันต่ำ (pulse)   | ถั่วเขียว ถั่วแดงหลวง และถั่วดำ |
| พืชตระกูลถั่วไขมันสูง (oilseed) | ถั่วเหลือง และถั่วลิสง          |

ที่มา : Salunkhe and Kadam (1989)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmasterol และไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmasterol) ของพืชตระกูลถั่ว และลูกเดี๋ยแสดงดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ปริมาณไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย<sup>1/</sup>

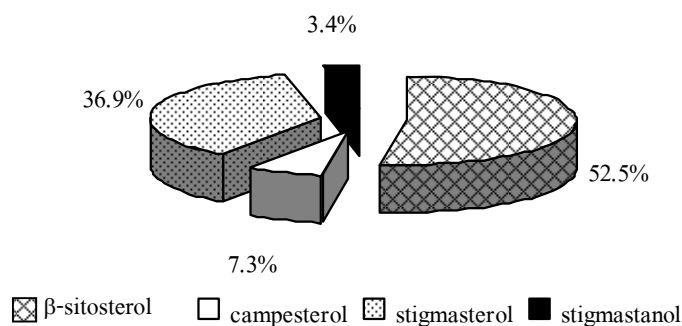
| ชนิดตัวอย่าง | ไฟโตสเตอรอล (มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง) |                   |                   |                   |                     |
|--------------|---------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
|              | $\beta$ -Sitosterol                         | Campesterol       | Stigmasterol      | Stigmastanol      | รวม                 |
| ถั่วเขียว    | 47.1 <sup>b</sup>                           | 6.5 <sup>a</sup>  | 33.1 <sup>c</sup> | 3.0 <sup>a</sup>  | 89.7 <sup>a</sup>   |
| ถั่วแดงหลวง  | 63.2 <sup>bc</sup>                          | 5.6 <sup>a</sup>  | 56.1 <sup>d</sup> | 1.6 <sup>a</sup>  | 126.4 <sup>b</sup>  |
| ถั่วดำ       | 25.0 <sup>a</sup>                           | 6.1 <sup>a</sup>  | 53.6 <sup>d</sup> | 3.1 <sup>a</sup>  | 87.9 <sup>a</sup>   |
| ถั่วเหลือง   | 55.4 <sup>bc</sup>                          | 19.1 <sup>c</sup> | 24.7 <sup>b</sup> | 3.6 <sup>a</sup>  | 102.8 <sup>ab</sup> |
| ถั่วลิสง     | 65.7 <sup>c</sup>                           | 18.0 <sup>c</sup> | 15.9 <sup>a</sup> | 10.4 <sup>b</sup> | 110.0 <sup>ab</sup> |
| ลูกเดือย     | 69.7 <sup>c</sup>                           | 12.7 <sup>b</sup> | 12.6 <sup>a</sup> | 21.0 <sup>c</sup> | 115.9 <sup>ab</sup> |

หมายเหตุ <sup>1/</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดังหมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

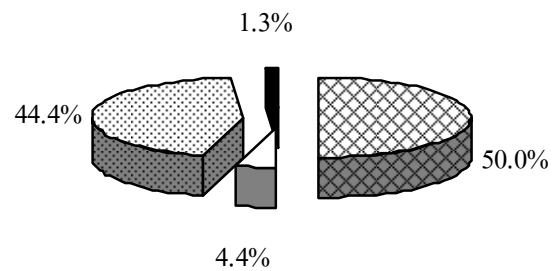
จากตารางที่ 15 พบว่าพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) อยู่ระหว่าง 87.9-126.4 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยถั่วแดงหลวงมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุดคือ 126.4 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ส่วนลูกเดือย ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วดำมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 115.9, 110.0, 102.8, 89.7 และ 87.9 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ ให้ผลสอดคล้องกับ Phillips *et al.* (2005) ที่ศึกษา  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol,  $\Delta^5$ -avenasterol, sitostanol, campestanol และไฟโตสเตอรอลชนิดอื่น ในนัทและเมล็ดธัญพืช พบว่าถั่วลิสงคั่วและอบมีปริมาณไฟโตสเตอรอลมากถึง 135-137 มิลลิกรัม/100 กรัมเปลือก แต่งานวิจัยดังกล่าวทำการศึกษาไฟโตสเตอรอลหลายชนิด ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมมีค่าสูง นอกจากนี้ยังรายงานว่ นัทและเมล็ดธัญพืชมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 95-400 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปลือก โดยเมล็ดงา มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมมากถึง 400 มิลลิกรัม/100 กรัมเปลือก และไฟโตสเตอรอลหลักที่พบมากในนัทและเมล็ดธัญพืช คือ  $\beta$ -sitosterol, campesterol และ  $\Delta^5$ -avenasterol ต่อมา U.S. Department of Agriculture. (2006) รายงานว่าถั่วลิสง ถั่วเหลือง และถั่วเขียวมีปริมาณไฟโตสเตอรอล 235, 176 และ 25 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ อย่างไรก็ตามจากรายงานดังกล่าวไม่สามารถ

เปรียบเทียบกับการศึกษาชิ้นอื่นๆ ได้เนื่องจากไม่บ่งบอกชนิดไฟโตสเตอรอลที่ทำการวิเคราะห์ นอกจากนี้ Piironen *et al.* (2002) รายงานปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในธัญพืชอยู่ระหว่าง 95.5-44.7 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักเปียก

เมื่อพิจารณาสัดส่วนของไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิด พบว่าพืชตระกูลถั่วและลูกเดือยที่ทำการศึกษามีปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol 25.0-69.7, 5.6-19.1, 12.6-56.1 และ 1.6-21.0 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่ง  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดที่พบมากที่สุดในพื้นที่ปลูก โดยถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วแดง ถั่วลิสง และลูกเดือย มีปริมาณ  $\beta$ -sitosterol มากถึงร้อยละ 50.0-60.1 ของไฟโตสเตอรอลรวม และ stigmasterol (ร้อยละ 10.9-44.4 ของไฟโตสเตอรอลรวม), campesterol (ร้อยละ 4.4-18.6 ของไฟโตสเตอรอลรวม) และ stigmastanol (ร้อยละ 1.3-18.1 ของไฟโตสเตอรอลรวม) ตามลำดับดังภาพที่ 24-29

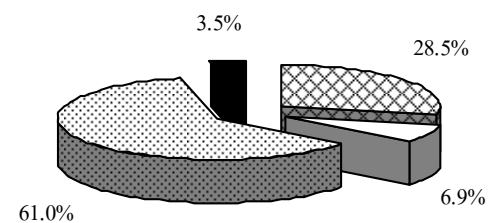


ภาพที่ 24 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วเขียว



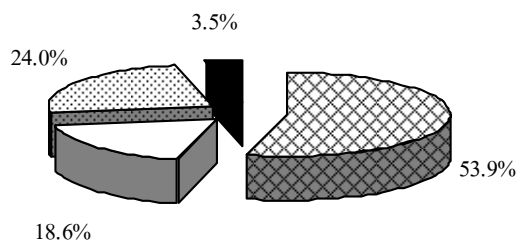
$\beta$ -sitosterol
  campesterol
  stigmasterol
  stigmastanol

ภาพที่ 25 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วแดงหลวง



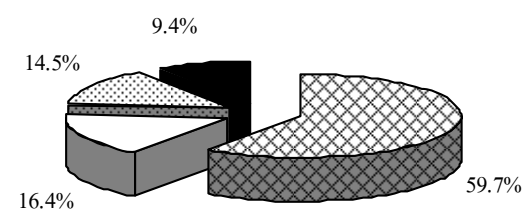
$\beta$ -sitosterol
  campesterol
  stigmasterol
  stigmastanol

ภาพที่ 26 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วดำ



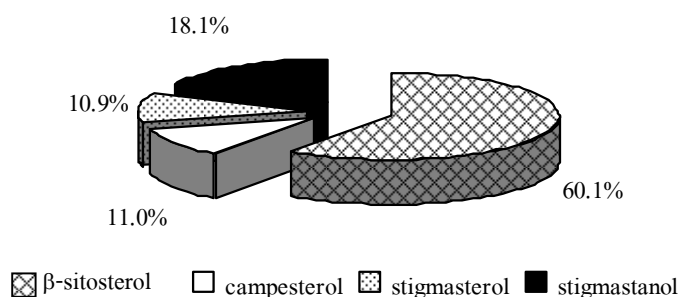
$\beta$ -sitosterol
  campesterol
  stigmasterol
  stigmastanol

ภาพที่ 27 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วเหลือง



$\beta$ -sitosterol
  campesterol
  stigmasterol
  stigmastanol

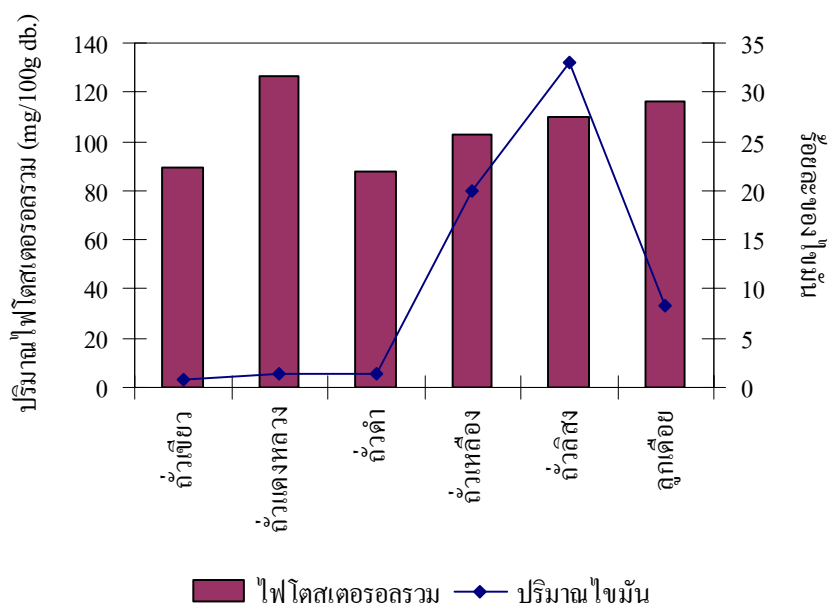
ภาพที่ 28 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในถั่วลิสง



ภาพที่ 29 สัดส่วนไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดในลูกเคียว

แต่ในถั่วดำ  $\beta$ -sitosterol เป็นองค์ประกอบเพียงร้อยละ 28.5 ของไฟโตสเตอรอลรวม (ภาพที่ 25) และพบ stigmasterol มากถึงร้อยละ 61.0 ของไฟโตสเตอรอลรวม ซึ่งแตกต่างจากพืชตระกูลถั่วชนิดอื่นที่มักพบ  $\beta$ -sitosterol, campesterol และ  $\Delta^5$ -avenasterol เป็นไฟโตสเตอรอลหลัก (Maatta *et al.*, 1999; Normen *et al.*, 2002; Amaral *et al.*, 2003; Phillips *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าลูกเคียวมีปริมาณ stigmasterol มากถึงร้อยละ 18.1 ของไฟโตสเตอรอลรวม ซึ่งไฟโตสเตอรอลพบได้น้อยหรือไม่พบเลยในธรรมชาติ และสามารถพบได้ในเนื้อเยื่อของธัญพืชบางชนิดเท่านั้น (Moreau *et al.*, 2002) แต่ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาที่พบ stigmasterol ในปริมาณมากมาก่อน (ภาพที่ 29)

เมื่อพิจารณาปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmasterol) ในพืชตระกูลถั่วและลูกเคียว พบว่าปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วแดงหลวงมีปริมาณมากถึง 126.4 มิลลิกรัม/ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่มีปริมาณไขมันเพียงร้อยละ 1.3 ในทางตรงข้ามถั่วลิสงมีปริมาณไขมันมากถึงร้อยละ 32.9 แต่กลับมีไฟโตสเตอรอลรวมเพียง 110.0 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งดังภาพที่ 30

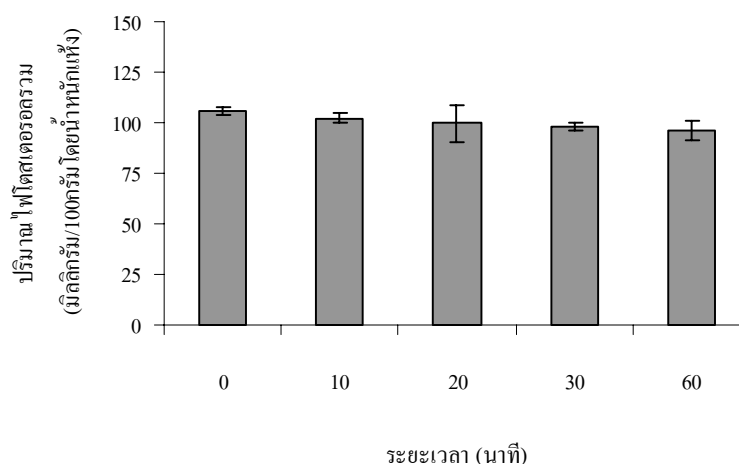


ภาพที่ 30 ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมและไขมันในพืชตระกูลถั่ว

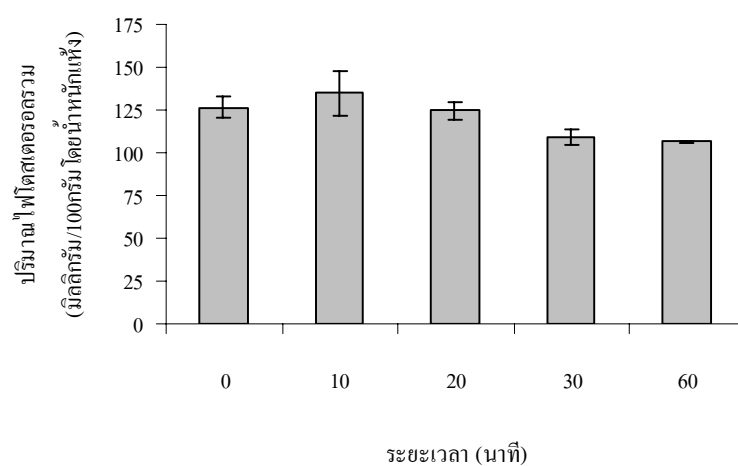
จากภาพที่ 30 เมื่อวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation) พบว่าปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมพืชตระกูลถั่วและลูกเคียวไม่มีความสัมพันธ์กัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination,  $R^2$ ) เท่ากับ 0.174 และ 0.030 ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์การถดถอย (Regression analysis) ระหว่างปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมของพืชตระกูลถั่วและลูกเคียวพบว่าไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ดังตารางผนวกที่ 36 อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ไฟโตสเตอรอลจะสามารถพบได้ในส่วนของไขมันพืชทั่วไป แต่ไฟโตสเตอรอลนั้นทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในผนังเซลล์พืช (Moreau *et al.*, 2002; Dhanasettakakorn, 2002) ส่งผลให้ปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชแต่ละชนิดอาจแตกต่างกันเนื่องจากโครงสร้างทางกายวิภาคของเนื้อเยื่อพืช ยกตัวอย่าง เช่น เนื้อเยื่อ meristematic และ chlorenchyma มีผนังเซลล์มาก ส่วนเนื้อเยื่อ vascular และเนื้อเยื่อสะสมแป้งนั้นเป็นส่วนที่มีผนังเซลล์น้อยกว่า นอกจากนี้ไขมันพืชแต่ละชนิดยังมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ดังนั้นปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชอาจไม่ขึ้นกับปริมาณไขมันในพืชเสมอไป

## 5. ผลของการให้ความร้อนต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลในพืชตระกูลถั่ว

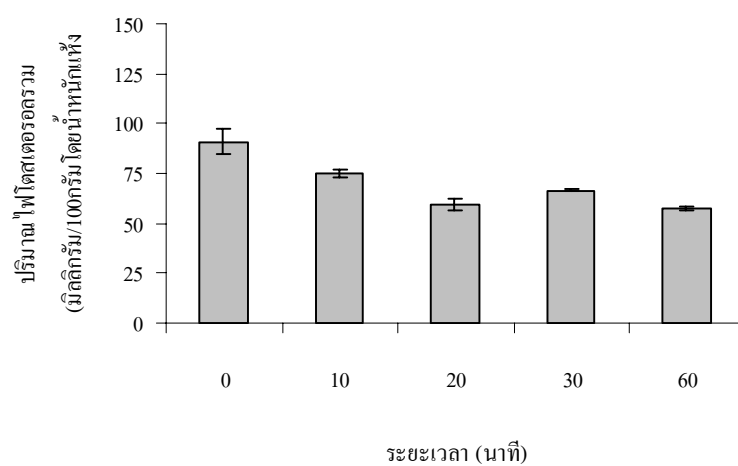
จากการศึกษาเบื้องต้นเมื่อให้ความร้อนกับถั่วเขียว ถั่วเหลือง ถั่วแดง และถั่วดำ หนัก 35 กรัม ที่บรรจุในขวด duran ขนาด 50 มิลลิลิตรด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดัน ที่ระดับความร้อน 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10, 20, 30 และ 60 นาที พบว่าการให้ความร้อนในสภาวะดังกล่าวเป็นระยะเวลา 60 นาที ส่งผลให้ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) ของถั่วแดง ถั่วดำ และถั่วเขียว ลดลงจากปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วแดง ถั่วดำ และถั่วเขียวที่ไม่ได้ผ่านการให้ความร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเหลือง ถั่วแดง ถั่วดำ และถั่วเขียวลดลงร้อยละ 9.7, 15.7, 20.3 และ 36.5 ของปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเหลือง ถั่วแดง ถั่วดำ และถั่วเขียวที่ไม่ได้ผ่านการให้ความร้อนตามลำดับ ดังภาพที่ 31-34



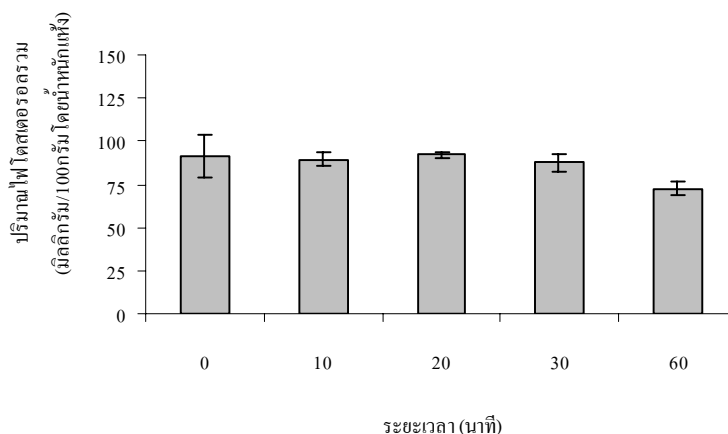
ภาพที่ 31 ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 10, 20, 30 และ 60 นาที



ภาพที่ 32 ปริมาณไฟโตเคอโรลรวมในถั่วแดงที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 10, 20, 30 และ 60 นาที



ภาพที่ 33 ปริมาณไฟโตเคอโรลรวมในถั่วเขียวที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 10, 20, 30 และ 60 นาที



**ภาพที่ 34** ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วดำที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 10, 20, 30 และ 60 นาที

จากภาพที่ 31-34 ไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเขียวลดลงสูงสุดที่ร้อยละ 36.5 (33.22 มิลลิกรัม/100กรัม น้ำหนักแห้ง) ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเหลือง ถั่วแดง ถั่วดำ และถั่วเขียว ที่ลดลงอาจเนื่องจากไฟโตสเตอรอลในถั่วเหลือง ถั่วแดง ถั่วดำ และถั่วเขียว เกิดออกซิเดชันของระหว่างการให้ความร้อน ซึ่งไฟโตสเตอรอลดังกล่าวอาจเกิดเป็นผลิตภัณฑ์จากการออกซิเดชัน เช่น 7-hydroxysterols 7-ketosterols 5,6-epoxysterols triols และ 25-hydroxysterols ซึ่งยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม ผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Spupas *et al.* (2004) พบว่าอุณหภูมิ ระยะเวลาในการให้ความร้อน โครงสร้างของไฟโตสเตอรอล รวมถึงระบบของไขมันมีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของไฟโตสเตอรอล โดยพบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานานทำให้ stigmasterol ถูกออกซิเดชันถึงร้อยละ 20 นอกจากนี้ยังพบว่าในสเปรดที่อุดมไปด้วยไฟโตสเตอรอล เอสเทอร์พบว่าร้อยละ 0.1 ของไฟโตสเตอรอลถูกออกซิไดซ์ นอกจากนี้ยังพบว่าในขนมปังเสริม ไฟโตสเตอรอล (ร้อยละ 1.5) บด (crust) และปิ้ง  $\beta$ -sitosterol ในอาหารดังกล่าวถูกออกซิไดซ์ร้อยละ 0.3 และ 0.1 และ campesterol ถูกออกซิไดซ์ร้อยละ 0.4 และ 0.1 ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ที่อุดมไปด้วยไฟโตสเตอรอลที่ใช้ในการทอด เช่น น้ำมันพืช (0.5-10.6 กรัมต่อ กิโลกรัม) ต้องพบกับสภาวะระหว่างการแปรรูป และอุณหภูมิสูง ซึ่งส่งผลกระทบต่อความคงตัวของไฟโตสเตอรอลต่อการออกซิเดชัน นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่มีไฟโตสเตอรอลสูงชนิดอื่น เช่น เมล็ดธัญพืชที่มีไฟโต-

สเตอรอล 0.33-1.8 กรัมต่อกิโลกรัม โดยเฉพาะมาการีนที่อุดมไปด้วยไฟโตสเตอรอล อาจมีโอกาสดังกล่าวเกิดขึ้นได้เช่นกัน (Lampi *et al.*, 2002; Saynajoki *et al.*, 2003; Apprich and Ulberth, 2004; Spupas *et al.*, 2004)

นอกจากนี้ Normen *et al.* (1999) ได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักสดและผักต้มสุก พบว่าผักสดแตกต่างกันไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับผักที่ผ่านการต้มหรือให้ความร้อน โดยปริมาณไฟโตสเตอรอลที่เปลี่ยนแปลงอาจเป็นผลเนื่องจากปริมาณน้ำในผักเปลี่ยนแปลง (เมื่อพิจารณาปริมาณไฟโตสเตอรอลต่อน้ำหนักเปียก) ซึ่งมีเพียงบล็อกโคลี่เท่านั้นที่ปริมาณไฟโตสเตอรอลเพิ่มมากขึ้นหลังจากผ่านการต้ม ซึ่ง Normen *et al.* (1999) กล่าวว่าอาจทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โปรตีน หรือแร่ธาตุ ในบล็อกโคลี่สูญเสียไป ส่งผลให้ปริมาณไฟโตสเตอรอลต่อน้ำหนักแห้งเพิ่มสูงขึ้นหลังจากการต้ม ต่อมา Dhanasettakorn (2002) พบว่าการลวกมีผลต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักบางชนิด เช่นกะหล่ำปลี มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อผ่านการลวก แต่ในขณะเดียวกันผักบางชนิดเมื่อผ่านการลวกปริมาณไฟโตสเตอรอลไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

## 6. ปริมาณไฟโตสเตอรอลที่ได้รับจากการบริโภคผักพื้นบ้านและข้าวกล้องต่อส่วนบริโภค

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักพื้นบ้าน 6 ชนิด คือ ผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง ผักบุ้งแดง และใบยอ พบว่าผักพื้นบ้านเป็นแหล่งที่ดีของไฟโตสเตอรอล (เมื่อพิจารณาเป็นน้ำหนักแห้ง) อย่างไรก็ตามการบริโภคผักโดยทั่วไปนั้นมักบริโภคเป็นผักสด ต้ม ลวก นึ่ง หรือผัด ซึ่งเป็นการบริโภคผักในรูปน้ำหนักเปียกทั้งสิ้น ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงปริมาณไฟโตสเตอรอลที่ได้รับจากการบริโภคจึงน้อยมาก เนื่องจากผักมีปริมาณความชื้นสูง (ร้อยละ 80.92-93.67) ทำให้ต้องบริโภคเป็นจำนวนมากเพื่อที่จะได้ปริมาณไฟโตสเตอรอลที่ต้องการ แต่เมื่อคิดต่อปริมาณหนึ่งส่วนบริโภคอ้างอิง (portion size) ซึ่งเท่ากับ 1 ทัพพี หรือประมาณ 40 กรัม (คณะทำงานจัดทำข้อปฏิบัติการกินอาหารเพื่อสุขภาพที่ดีของคนไทย, 2542) การบริโภคผักพื้นบ้าน 1 ส่วนบริโภคสามารถได้รับไฟโตสเตอรอล 7.1- 18.0 มิลลิกรัมโดยประมาณ เมื่อพิจารณาจากธงโภชนาการ (Nutrition Flag) ซึ่งเป็นภาพจำลองการแนะนำการบริโภคอาหารของคนไทย ได้กำหนดชนิดและปริมาณอาหารที่คนไทยควรกินใน 1 วัน สำหรับผู้ที่ต้องการพลังงาน 2,000 กิโลแคลอรี ว่าควรบริโภคผัก 5 ส่วนบริโภค/วัน จากการบริโภคผักพื้นบ้านในปริมาณดังกล่าวทำให้ได้รับปริมาณ

ไฟโตสเตอรอลมากถึง 35.3-89.8 มิลลิกรัม/ วัน (ตารางที่ 16) คิดเป็นร้อยละ 3.5-9.0 ของปริมาณไฟโตสเตอรอลที่แนะนำให้บริโภคต่อวันเพื่อลดระดับคอเลสเตอรอล (Institute of Food Science & Technology (2005) แนะนำว่าควรบริโภคไฟโตสเตอรอลหรือไฟโตสแตนอลอย่างน้อย 1 กรัม/วัน) จากตารางที่ 14 พบว่าการบริโภคใบยอ นั้นทำให้ได้รับปริมาณไฟโตสเตอรอลสูงสุดเมื่อเทียบกับผักพื้นบ้านชนิดอื่น และเมื่อพิจารณาปริมาณไฟโตสเตอรอลที่ได้รับต่อวันในผักพื้นบ้านพบว่ามีปริมาณสูงเมื่อเทียบกับผักที่นิยมบริโภคโดยทั่วไป เช่น แครอท ผักกาดขาว กะหล่ำปลี ถั่วฝักยาว และดอกกะหล่ำ ที่มีปริมาณไฟโตสเตอรอล 32.00, 9.40, 13.60, 38.20 และ 43.60 มิลลิกรัม/วัน ตามลำดับ (Norman *et al.*, 1999; Dhanasettakorn, 2002 ) จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าเมื่อพิจารณาถึงปริมาณไฟโตสเตอรอลในผักแล้วการบริโภคผักพื้นบ้านที่ราคาถูกและหาบริโภคได้ทั่วไปนั้นทำให้ได้รับปริมาณไฟโตสเตอรอลมากกว่าหรือทัดเทียมกับผักที่นิยมบริโภคโดยทั่วไปเช่น ผักกาดขาว กะหล่ำปลี ดอกกะหล่ำและบล็อคโคลี่

ตารางที่ 16 ปริมาณไฟโตสเตอรอลได้รับจากการบริโภคผักพื้นบ้านและข้าวกล้องตามส่วนบริโภค/วัน

| ชนิด                    | ไฟโตสเตอรอลรวม<br>(มิลลิกรัม/100กรัมน้ำหนักเปียก) | 1 ส่วน<br>(1portion size) | จำนวน<br>ส่วนบริโภค/วัน <sup>1</sup> | ไฟโตสเตอรอลที่<br>ได้รับ/วัน (มิลลิกรัม) |
|-------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------|
| ผักปลังขาว              | 17.6                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 35.3                                     |
| ผักโขมหนาม              | 26.7                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 53.4                                     |
| ใบชะพลู                 | 39.7                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 79.3                                     |
| ผักชีฝรั่ง              | 21.2                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 42.4                                     |
| ผักบุ้งแดง              | 20.2                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 46.7                                     |
| ใบยอ                    | 44.9                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 89.8                                     |
| แครอท <sup>2</sup>      | 16.0                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 32.0                                     |
| กะหล่ำปลี <sup>2</sup>  | 6.8                                               | 40 กรัม                   | 5                                    | 13.6                                     |
| ผักกาดขาว <sup>2</sup>  | 4.7                                               | 40 กรัม                   | 5                                    | 9.4                                      |
| ถั่วฝักยาว <sup>2</sup> | 19.1                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 38.2                                     |
| ดอกกะหล่ำ <sup>2</sup>  | 21.8                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 43.6                                     |
| ปทุมธานี <sup>3</sup>   | 30.3                                              | 40 กรัม                   | 5                                    | 181.9                                    |
| ขาวดอกมะลิ <sup>3</sup> | 12.6                                              | 60 กรัม                   | 10                                   | 75.4                                     |
| สุพรรณบุรี <sup>3</sup> | 34.3                                              | 60 กรัม                   | 10                                   | 206.0                                    |
| ชัยนาท <sup>3</sup>     | 46.7                                              | 60 กรัม                   | 10                                   | 280.2                                    |
| สุพรรณบุรี <sup>3</sup> | 28.0                                              | 60 กรัม                   | 10                                   | 167.9                                    |

หมายเหตุ <sup>1</sup> หมายถึง พิจารณาจากปริมาณที่ควรได้รับของแต่ละคน ขึ้นกับ อายุ เพศ กิจกรรมที่ทำแต่ละวัน 2000 กิโลแคลอรี (คณะทำงานจัดทำข้อปฏิบัติการกินอาหารเพื่อสุขภาพที่ดีของคนไทย, 2542 )

<sup>2</sup> หมายถึง ผักจากการศึกษาของ Norman *et al.* (1999) และ Dhanasettakorn (2002 )

<sup>3</sup> หมายถึง ข้าวกล้องหุงสุกมีความชื้นร้อยละ 64.5 (คณะกรรมการสวัสดิการกรมอนามัย, 2545)

เมื่อพิจารณาปริมาณไฟโตสเตอรอลที่ได้รับจากการบริโภคข้าวกล้องตามข้อเสนอแนะของรชโภชนาการ (600 กรัม/วันหรือ 10 ทพพี) (Sranacharoenpong, 1998) พบว่าจากการบริโภคข้าวกล้องในปริมาณดังกล่าวสามารถได้รับปริมาณไฟโตสเตอรอลจากข้าวกล้องมากถึง 75.4-280.2 มิลลิกรัม/วัน โดยข้าวกล้องหอมมะลิซึ่งเป็นข้าวที่นิยมบริโภคนั้นทำให้ได้รับไฟโตสเตอรอลเพียง 75.4 มิลลิกรัม/วันเท่านั้น ในทางตรงข้ามเมื่อบริโภคข้าวสายพันธุ์อื่น อย่างเช่นข้าวชัยนาท1 กลับทำให้ปริมาณไฟโตสเตอรอลที่ได้รับมากถึง 280.2 มิลลิกรัม/วัน หรือ ร้อยละ 28.0 ของปริมาณไฟโตสเตอรอลที่แนะนำให้บริโภคต่อวันเพื่อลดระดับคอเลสเตอรอล เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไฟโตสเตอรอลที่ได้รับจากการบริโภคขนมปังซึ่งตามรชโภชนาการแนะนำให้บริโภค 10 ส่วนๆละ 30 กรัม ทำให้ได้รับปริมาณไฟโตสเตอรอลเพียง 150 มิลลิกรัม/วันโดยประมาณ ทั้งนี้ปริมาณไฟโตสเตอรอลในขนมปังจะแปรผันตามชนิดของแป้งและไขมันที่ใช้ผลิตขนมปัง (Normen et al., 2002) จากผลการศึกษาดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการบริโภคข้าวกล้องนั้นทำให้ได้รับไฟโตสเตอรอลปริมาณสูงกว่าการบริโภคอาหารตะวันตกเช่นขนมปัง

## สรุป

1. จากการศึกษาหาสภาวะการสกัดไฟโตสเตอรอลที่เหมาะสม พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือการย่อยสลายด้วยกรดเป็นระยะเวลา 30 นาที ร่วมกับการย่อยสลายด้วยด่างเป็นระยะเวลา 60 นาที ซึ่งสภาวะดังกล่าวสามารถสกัด  $\beta$ -sitosterol และไฟโตสเตอรอลรวม (ผลรวมของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol) จากจมูกข้าวกล้องได้เท่ากับ 71.5 และ 121.56 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าที่สภาวะการสกัดอื่น

2. ผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขมิ้น ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และ ผักบุ้งแดง มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมอยู่ระหว่าง 162.3-318.7 มิลลิกรัม/100 กรัมโดยน้ำหนักแห้ง โดยผักบุ้งแดงมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุด ส่วนผักปลังขาว ใบชะพลู ใบขมิ้น ใบผักชีฝรั่ง และ ผักโขมหนามมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 262.2, 238.8, 235.2, 197.6 และ 162.3 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ

ในการวิเคราะห์ใบผักชีฝรั่ง พบว่ามี stigmasterol มากถึง 197.6 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้งแต่ไม่พบ  $\beta$ -sitosterol, campesterol และ stigmastanol นอกจากนี้ในใบขมิ้นพบว่ามีปริมาณ stigmastanol สูงถึง 51.0 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง คิดเป็นสัดส่วนถึงร้อยละ 21.8 ของปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในใบขมิ้น ซึ่งปริมาณ stigmastanol ที่พบได้มากในใบขมิ้นนั้นไม่เคยมีรายงานการวิเคราะห์มาก่อนทั้งในใบขมิ้นและพืชผักชนิดอื่น ๆ

เมื่อพิจารณาสัดส่วนของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol พบว่าสามารถแบ่งผักที่ทำการวิเคราะห์ได้ออกเป็น 2 กลุ่มคือ ผักที่มี  $\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดหลัก ( $\beta$ -sitosterol ร้อยละ 36.2-56.7 ของไฟโตสเตอรอลรวม) ได้แก่ใบขมิ้น ใบชะพลู และผักบุ้งแดง และผักที่มี stigmasterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดหลัก (stigmasterol ร้อยละ 42.0-100.0 ของไฟโตสเตอรอลรวม) ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ผักโขมหนามและ ผักปลังขาว

3. เมื่อพิจารณาปริมาณไฟโตสเตอรอลต่อน้ำหนักเปียก พบว่าผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบข่อย ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และ ผักบุ้งแดง มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมอยู่ระหว่าง 17.64 -44.91 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก ใบข่อยมีปริมาณไฟโตสเตอรอลสูงสุด ส่วนใบชะพลู ผักโขมหนาม ใบผักชีฝรั่ง ผักบุ้งแดง และ ผักปลังขาว มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 39.7, 26.7, 21.2, 20.2 และ 17.6 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียกตามลำดับ

4. จากการวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลของข้าวกล้องสายพันธุ์ต่างๆ พบว่าสายพันธุ์ข้าวกล้องมีผลต่อปริมาณ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol, stigmastanol และไฟโตสเตอรอลรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยข้าวกล้องมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมระหว่าง 131.6-35.4 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ข้าวกล้องสายพันธุ์ชัชานา 1 มีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุดที่ 131.6 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ส่วนข้าวสายพันธุ์สุพรรณบุรี 2 ปทุมธานี 1 สุพรรณบุรี 1 และข้าวดอกมะลิ 105 มีไฟโตสเตอรอลรวม 96.7, 85.4, 78.8 และ 35.4 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ

$\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดหลักในข้าวที่มีมากถึง 19.0 -68.0 มิลลิกรัม/100 กรัม โดยน้ำหนักแห้ง หรือร้อยละ 46.1-53.8 ของไฟโตสเตอรอลรวม รองลงมาคือ campesterol และ stigmasterol ส่วน stigmastanol พบในปริมาณ 2.2-10.0 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้งหรือเพียงร้อยละ 2.6-7.8 ของไฟโตสเตอรอลรวมเท่านั้น

ข้าวทุกสายพันธุ์มีสัดส่วน  $\beta$ -sitosterol : campesterol : stigmasterol โดยประมาณเท่ากับ 3 : 1 : 1 ยกเว้นสายพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่มีสัดส่วนแตกต่างออกไปคือ 2 : 1 : 1

5. ถั่วแดงหลวง ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วดำ ถั่วลิสง และลูกเดือยมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมอยู่ระหว่าง 87.9-126.4 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง โดยถั่วแดงหลวงมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมสูงสุดคือ 126.4 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง ส่วนลูกเดือย ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ถั่วเขียวและ ถั่วดำมีปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม 115.9, 110.0, 102.8, 89.7 และ 87.9 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้งตามลำดับ

$\beta$ -sitosterol เป็นไฟโตสเตอรอลชนิดที่พบมากที่สุดในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือยที่ศึกษา โดยถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วแดง ถั่วลิสง และลูกเดือยมีปริมาณ  $\beta$ -sitosterol มากถึง 47.1-69.7 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง หรือร้อยละ 50-60 ของไฟโตสเตอรอลรวม รองลงมาคือ stigmasterol, campesterol และ stigmastanol 1.6-21.0 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง หรือร้อยละ 1.3-18.1 ของไฟโตสเตอรอลรวม แต่ถั่วดำพบ stigmasterol มากถึงร้อยละ 61.0 ของไฟโตสเตอรอลรวม และพบ  $\beta$ -sitosterol เพียงร้อยละ 28.5 ของไฟโตสเตอรอลรวม

ลูกเดือยมีปริมาณ stigmastanol มากถึง 21.0 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง หรือร้อยละ 18.1 ของไฟโตสเตอรอลรวม ซึ่งปริมาณ stigmastanol ที่พบได้มากในลูกเดือยนั้นไม่เคยมีรายงานการวิเคราะห์มาก่อนทั้งในลูกเดือยและพืชผักชนิดอื่น ๆ

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

คณะทำงานจัดทำข้อปฏิบัติการกินอาหารเพื่อสุขภาพที่ดีของคนไทย. 2542. คู่มือกินพอดีสุขใจทั่วไทย. กองโภชนาการ กรมอนามัย, นนทบุรี.

คณะกรรมการสวัสดิการกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2545. ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย. สามเจริญพานิชย์, กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 2541. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 182 ) พ.ศ.2541 เรื่อง ฉลากโภชนาการ. ที่มา : <http://www.fda.moph.go.th/fda-net/html/product/food/ntfmoph/ntf182.htm>, 1 กุมภาพันธ์, 2548 .

รัฐกรณ์ จานงค์ผล. 2547. การพัฒนาคุณภาพโอเลอินของไขมันไก่โดยกระบวนการแยกส่วน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาบันวิจัยข้าว. ม.ป.ป. พันธุ์ข้าว. แหล่งที่มา : <http://www.doa.go.th/rri/rice tech.htm>, 20 มกราคม 2549.

สถาบันวิจัยข้าว. 2542. แกะสารแนะนำข้าวและรัฐพืชเมืองหนาวพันธุ์ดี 75 พันธุ์ของกรมวิชาการเกษตร.

สำนักงานสถิติแห่งชาติ. 2545. ข้อมูลจำแนกตามสถิติ. สำนักงานสถิติแห่งชาติ. กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร.แหล่งที่มา : <http://www.nso.go.th>, 1 กุมภาพันธ์, 2548 .

Abidi, S.L. 2001. Review chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. **J Chromatogr A** . 935: 173-201.

- Adler, G. and Z. Kasprzyk. 1975. Free sterols, steryl esters, glucosides, acylated glucosides and water-soluble complexes in *Calendula officinalis*. **Phytochemistry**. 14: 627-631.
- Amaral, J.S., S Casal, J.A. Pereira, R.M. Seabra and B.P.P. Oliveira. 2003. Determination of sterol and fatty acid compositions, oxidative stability, and nutritional value of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars grown in Portugal. **J Agric Food Chem**. 51: 7698-7702.
- Anonymous. 2000. Phytosterol esters (plant sterol and stanol esters). **IFST: current hot topics**. Available Source: <http://www.ifst.org/hottop29.htm>, August 29, 2003.
- Anonymous. n.d. Instructions BSTFA N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide. **PIERCE**. Available Source: <http://www.piercenet.com/files/0255TB-1.PDF>, August 29, 2003.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. **Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17<sup>th</sup> ed, Washington, D.C. Association of official Analytical Chemists.
- Apprich, S. and F. Ulberth. 2004. Gas chromatographic properties of common cholesterol and phytosterol oxidation products. **J Chromatogr A**. 1055: 169-176.
- Beveridge, T.H., T.S.C. Li and J.C.G. Drover. 2002. Phytosterol content in American ginseng seed oil. **J Agric Food Chem**. 50: 744-750.

- Bortolomeazzi, R., F. Cordaro, L. Pizzale and L.S. Conte. 2003. Presence of phytosterol oxides in crude vegetable oils and their fate during refining. **J Agric Food Chem.** 51: 2394-2401.
- Cercaci, L., M.T. Rodriguez-Estrada and G. Lercker. 2003. Solid-phase extraction-thin-layer chromatography-gas chromatography method for the detection of hazelnut oil in olive oils by determination of esterified sterols. **J Chromatogr A** . 985: 211-220.
- Choong, Y.-M., H.-J. Lin, C.W. Chen and M.-L. Wang. 1999. A rapid gas chromatographic method for direct determination of free sterols in animal and vegetable fats and oils. **J. of Food and Drug Analysis.** 7(4): 279-290.
- Clifton, P. 2002. Plant sterol and stanols--comparison and contrasts. Sterols versus stanols in cholesterol-lowering: is there a difference?. **Atheroscler Suppl.** 3(3):5-9.
- Colgan, H.A., S. Floyd, E.J. Noone, M.J. Gibney and H.M. Roche. 2004. Increased intake of fruit and vegetables and low-fat plant sterol-enriched spread consumption : effects on plasma lipoprotein and carotenoid metabolism. **J. Hum Nutr Diet.** 17: 561-569.
- Debella, A., O. Kunert, M.G. Schmid, G. Minchl, F. Bucar, D. Abebe and E.Haslinger. 2000. A diterpene, a flavonol glycoside, and a phytosterol glycoside from *Securidaca longipedunculata* and *Entada abyssinica*. **Monatshefte für Chemie.** 131:401-408.

- Dhanasettakorn, K. 2002. **Phytosterol content and antioxidant activities in common Thai vegetables**. M.S. thesis, Mahidol University.
- Dutta, P.C. and L. Normén. 1998. Capillary column gas-liquid chromatographic separation of  $\Delta^5$ -unsaturate and saturated phytosterols. **J Chromatogr A**. 816:177-184.
- Du, M. and D.U. Ahn. 2002. Simultaneous analysis of tocopherols, cholesterol, and phytosterols using gas chromatography. **J. of Food Science**. 67(5): 1696-1700.
- Elenkov, I., S. Popov, S. Andreev. 1999. Sterols from two black sea sponges (*Haliclona* sp.). **Comparative Biochemistry and Physiology B**. 23 (4): 357-360
- Goad, L.J. and T. Akihisa. 1997. **Analysis of sterols**. Blackie Academic & Professional, London.
- Gonella, M. 2003. Plant sterols and stanols : An additional therapy for cholesterol management. **Nutrition Bytes**. 9(1): 1-6.
- Grunwald, C. 1975. Plant sterols. **Ann. Rev. Plant Physiol**. 26 : 209-236.
- Gutiérrez, A., J.C. del Rio, F.J. González-Vila and F. Martin. 1998. Analysis of lipophilic extractives from wood and pitch deposits by solid-phase extraction and gas chromatography. **J Chromatogr A**. 823: 449-455.
- Gylling, H., P. Puska, E. Vartiainen, and T. A. Miettinen. 1999. Serum sterols during stanol ester feeding in a mildly hypercholesterolemic population. **J Lipid Res**. 40(4): 593-600.

- Hallikainen, MA. and MI. Uusitupa. 1999. Effects of 2 low-fat stanol ester-containing margarines on serum cholesterol concentrations as part of a low-fat diet in hypercholesterolemic subjects. **Am J Clin Nutr.** 69 (3): 403-410.
- Hendriks, HF., JA Weststrate , T. van Vliet and GW. Meijer. 1999. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. **Eur J Clin Nutr.** 53(4):319-27.
- Hicks, K.B. and R.A. Moreau. 2001. Phytosterols and phytostanols: functional food cholesterol busters. **Food Technol.** 55(1): 63-67.
- Institute of Food Science & Technology. 2005. **IFST updated Information Statement on Phytosterol Esters (Plant Sterol and Stanol Esters).** Available Source: [http://www.innovations-report.de/html/berichte/agrar\\_forstwissenschaften/bericht-39214.html](http://www.innovations-report.de/html/berichte/agrar_forstwissenschaften/bericht-39214.html), February 10, 2006.
- Jeong, W.-S. and P.A. Lachance. 2001. Phytosterols and fatty acids in fig (*Ficus arica*, var Mission) fruit and tree components. **J. of Food Science.** 66(2): 278-281.
- Jong, A.D., J. Plat, R.P. Mensink. 2003. Metabolic effects of plant sterols and stanols (review). **J Nutr Biochem.** 14: 362-369.
- Johnsson, L. and P.C. Dutta. 2005. Separation of phytosterol oxidation products by combination of different polarity gas chromatography capillary columns. **J Chromatogr A.** 1064: 213-217.

- Juliano, B.O. 1992. Structure, chemistry, and function of the rice grain and its fraction. **Cereal Food World**. 37(10) : 772-774.
- Klatt, L.V., B.A. Mitchell and R.L. Smith. 1995. Cholesterol analysis in foods by direct saponification—gas chromatographic method: collaborative study. **J. Ass. Off. Anal. Chem. Int.**, 78, 75-79.
- Lampi, A.-M., L. Juntunen, J. Toivo and V. Piironen. 2002. Determination of thermo-oxidation products of plant sterols. **J Chromatogr B**. 777: 83-92.
- Lampi, A.-M., R.A. Moreau, V. Piironen and K.B. Hicks. 2004. Pearling barley and rye to produce phytosterol-rich fractions. **Lipids**. 39(8): 783-787.
- Lechner, M., B. Reiter and E. Lorbeer. 1999. Determination of tocopherols and sterols in vegetable oils by solid-phase extraction and subsequent capillary gas chromatographic analysis. **J Chromatogr A**. 857: 231-238.
- Ling, W.H. and P.J.H. Jones. 1995. Minireview dietary phytosterols: a review of metabolism, benefits and side effect. **Life Sciences**. 57(3): 195-206.
- Mandl, A., G. Reich and W. Lindner. 1999. Detection of adulteration of pumpkin seed oil by analysis of content and composition of specific  $\Delta^7$ -phytosterols. **Eur Food Res Technol**. 209: 400-406.
- Mattila, P., A.-M. Lampi, R. Ronkainen, J. Toivo and V. Piironen. 2002. Sterol and vitamin D2 contents in some wild and cultivated mushrooms. **Food Chem**. 76: 293-298.

- Mazzuca, M. and V. Balzaretto. 2003. Fatty acids, sterols and other steroids from seeds of Patagonian *Prosopis* species. **J Sci Food Agric.** 83: 1072-1075.
- Määttä, K., A.M. Lampi, J. Pettersson, B.M. Fogelfors, V. Piironen and A. Kamel-Eldin. 1999. Phytosterol content in seven oat cultivars grown at three locations in Sweden. **J Sci Food Agric.** 79: 1021-1027.
- Mezine, I., H. Zhang, C. Macku and R. Lijana. 2003. Analysis of plant sterol and stanol esters in cholesterol-lowering spreads and beverages using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectroscopy. **J Agric Food Chem.** 51: 5639-5646.
- Moreau, R.A., B.D. Whitaker and K.B. Hicks. 2002. Review phytosterols, phytosterols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. **Prog Lipid Res.** 41: 457-500.
- Moreau, R.A., M.J. Powell and K.B. Hicks. 1996. Extraction and quantitative analysis of oil from commercial corn fiber. **J Agric Food Chem.** 44: 2149-2154.
- National heart foundation of Australia. 2003. Plant sterols and stanols. **Information from the heart foundation.** Available Source: <http://www.heartfoundation.com.au>, August 29, 2003
- Normén, L., M. Johnsson, H. Andersson, Y. Van Gameren. 1999. Plant sterols in vegetables and fruits commonly consumed in Sweden. **Eur J. Nutr.** 38: 84-89.

- Normén, L., S. Bryngelsson, M. Johnsson, P. Evheden, L. Ellegård, H. Brants, H. Andersson and P. Dutta. 2002. The phytosterol content of some cereal foods commonly consumed in Sweden and in the Netherlands. **J Food Composition Anal.** 15: 693-704.
- Ostlund, R.E. 2002. Phytosterols in human nutrition. **Annu. Rev. Nutr.** 22: 533-549.
- Peng, L., Y. Kawagoe, P. Hogan and D. Delmer. 2002. Sitosterol- $\beta$ -glucoside as primer for cellulose synthesis in plants. **Science.** 295: 147-150.
- Phillips, K.M., D.M. Ruggio, J.L. Toivo, M.A. Swank and A.H. Simpkins. 2002. Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. **J Food Composition Anal.** 15: 123-142.
- Phillips, K.M., D.M. Ruggio, J.L. and M. Ashrai-Khorassani. 2004. Analysis of sterol glycosides in foods and dietary supplements by solid-phase extraction and gas chromatography. **J Food Lipids.** 12: 124-140.
- Phillips, K.M., D.M. Ruggio and M. Ashraf-Khorassani. 2005. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the united states. **J Agric Food Chem.** 53: 9436-9445.
- Piironen, V., J. Toivo and A.M. Lampi. 2000. Study review natural sources of dietary plant sterols. **J Food Composition Anal.** 13: 619-624.
- Piironen, V., J. Toivo and A.M. Lampi. 2002. Plant sterols in cereals and cereal products. **Cereal Chem.** 79(1): 148-154.

- Piironen, V., J. Toivo, R. Puupponen-Pimia and A.M. Lampi. 2003. Plant sterols in vegetables, fruits and berries. **J Sci Food Agric.** 83: 330-337.
- Quilez, J., P. Garcia-lorda, J. Salas-salvado. 2003. Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. **Clin Nutr.** 22(4): 343-351.
- Rozenberg, R., N.L. Ruibal-Mendieta, G. Petitjean, P. Cani, D.L. Delacroix, N.M. Delzenne, M. Meurens, J. Quetin-Leclercq and J.-L. Habib-Jiwan. 2003. Phytosterol analysis and characterization in spelt (*Triticum aestivum* ssp. *Spelta* L.) and wheat (*T. aestivum* L.) lipids by LC/APCI-MS. **J Cereal Sci.** 38: 189-197.
- Salunkhe, D.K., S.S. Kadam. 1989. **Handbook of World Food Legumes: Nutrition Chemistry, Processing Technology, and Utilization. Vol I.** CRC Press, Inc., Florida.
- Säynäjoki, S., S. Sundberg, L. Soupas, A. Lampi and V. Piironen. 2003. Analytical, nutritional and clinical methods section determination of stigmasterol primary oxidation products by high-performance liquid chromatography. **Food Chem.** 80: 415-421.
- Seki, S., I. Hidaka, K. Kojima, H. Yoshino, T. Aoyama, M. Okazaki and K. Kondo. 2003. Effects of phytosterol ester-enriched vegetable oil on plasma lipoproteins in healthy men. **Asia Pac J Clin Nutr.** 12: 282-91.
- Soupas, L., L. Juntunen, A. Lampi and V. Piironen. 2004. Effects of sterol structure, temperature, and lipid medium on phytosterol oxidation. **J Agric Food Chem.** 52: 6485-6491.

- Sranacharoenpong, K. 1998. **The development of Thai food based dietary guidance: quantification of food for daily consumption.** M.S. thesis, Mahidol University.
- Sugawara, T., T. Miyazawa. 1999. Separation and determination of glycolipids from edible plant sources by high-performance liquid chromatography and evaporative light-scattering detection. **Lipids.** 34: 1231-1237.
- Toivo, J. A.-M. Lampi, S. Aalto and V. Piironen. 2000. Analytical, nutritional and clinical methods section factors affecting sample preparation in the gas chromatographic determination of plant sterols in whole wheat flour. **Food Chem.** 68: 239-245.
- Toivo, J. K. Phillips, A.M. Lampi and V. Piironen. 2001. Determination of sterols in foods: recovery of free, esterified, and glycosidic sterols. **J Food Composition Anal.** 14: 631-643.
- U.S. Department of Agriculture. 2006. The USDA national nutrient database for standard reference. **Agricultural Research Service** . Available Source: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/> , February 1, 2006.
- Verleyen, T., M. Forcades, R. Verhe, K. Dewettinck, A. Huyghebaert, and W. De Greyt. 2002. Analysis of Free and Esterified Sterols in Vegetable Oils. **JAOCS.** 79 : 117-122.
- Yamauchi, R., K. Aizawa, T. Inakuma and K. Kato. 2001. Analysis of molecular species of glycolipids in fruit pastes of red bell pepper (*Capsicum annum* L.) by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **J Agric Food Chem.** 49: 622-627.

Yang, Baoru, J. Koponen, R. Tahvonen and H. Kallio. 2003. Plant sterols in seeds of two species of *Vaccinium* (*V. myrtillus* and *V. vitis-idaea*) naturally distributed in finland. **Eur Food Res Technol.** 216: 34-38.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
การวิเคราะห์ทางเคมี

## 1. วิธีวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ในผักพื้นบ้าน (AOAC, 2000)

ชั่งตัวอย่างให้แน่นอน 2-3 กรัม ใส่ถ้วยอลูมิเนียมที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 2-3 ชั่วโมงนำออกและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมาชั่งน้ำหนักและนำไปอบอีกครั้งจนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาร้อยละของความชื้นในตัวอย่างดังนี้

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{100 \times (a-b)}{C}$$

เมื่อ a = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้งรวมกับน้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียม (กรัม)  
 b = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้งรวมกับน้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียม (กรัม)  
 c = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง (กรัม)

## 2. วิธีวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย (AOAC, 2000)

ชั่งตัวอย่างให้แน่นอน 2-3 กรัม ใส่ถ้วยอลูมิเนียมที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่วโมงนำออกและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมาชั่งน้ำหนักและคำนวณหาร้อยละของความชื้นในตัวอย่างดังนี้

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{100 \times (a-b)}{C}$$

เมื่อ a = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้งรวมกับน้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียม (กรัม)  
 b = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบแห้งรวมกับน้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียม (กรัม)  
 c = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง (กรัม)

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ข้าวกล้อง และพืชตระกูลถั่ว (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000)

ทำการวิเคราะห์ไขมันโดยใช้เครื่อง SOCTEC System HT 1043 Extraction Unit ซึ่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งและบดละเอียด 2 กรัม (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่กระดาษกรองเบอร์ 1 และใส่ใน thimble และนำไปใส่ใน thimble holder และนำไปใส่เครื่อง Extraction Unit ซึ่งเปิดเครื่องควบคุมความเย็น โดยควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส เปิดสวิตช์ให้น้ำไหลเข้าเครื่อง Extractor ตั้งอุณหภูมิที่เครื่อง Thermostatic cut-out ไว้ที่ 100 องศาเซลเซียส นำ Extraction cup หกใบ (บรรจุ Glass bead) ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 40 มิลลิลิตร ลงใน Extraction cup แต่ละใบ แล้วนำไปวางที่เครื่องให้ตรงกับ thimble แต่ละอัน ยกคันบังคับไปที่ปุ่ม boiling นาน 20 นาทีเมื่อครบเวลาให้ยก thimble ขึ้นตำแหน่งที่ rinsing นาน 10 นาที แล้วจึงระเหยตัวทำละลายเก็บไว้ใช้ต่อไป นำ Extraction cup มาอบด้วยตู้อบลมร้อนที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีนำออกและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมาชั่งน้ำหนักและคำนวณหาร้อยละของความชื้นในตัวอย่างดังนี้

$$\text{ร้อยละไขมัน} = \frac{(W_3 - W_2)}{W_1} \times 100$$

เมื่อ  $W_1$  = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

$W_2$  = น้ำหนัก Extraction cup กับ Glass bead ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (กรัม)

$W_3$  = น้ำหนัก Extraction cup กับ Glass bead ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนและน้ำมันที่สกัดได้ (กรัม)

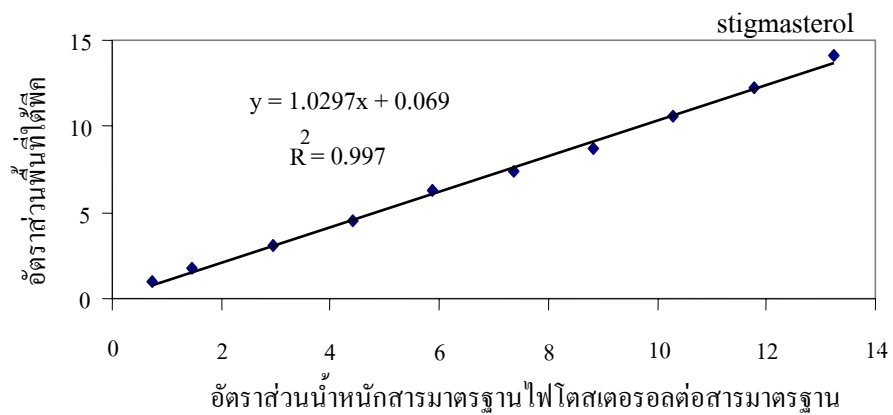
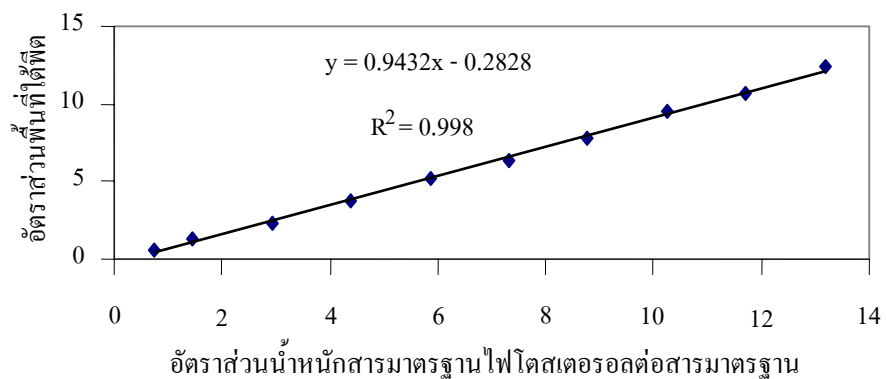
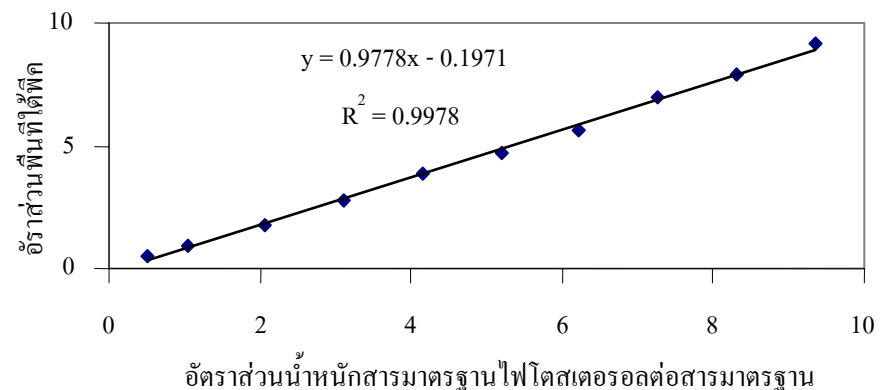
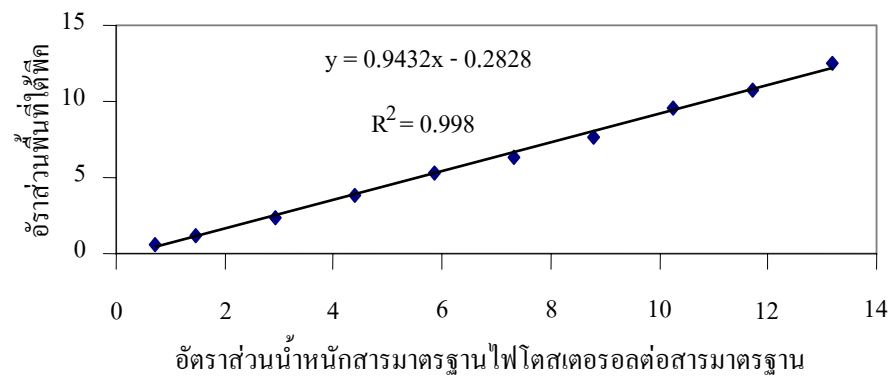
#### 4. การคำนวณความเข้มข้นสัมพัทธ์ของไฟโตสเตอรอล

$$C_s = \frac{C_i \times A_s \times V_i \times r}{A_i \times W_s \times 10}$$

เมื่อ  $C_s$  = ปริมาณไฟโตสเตอรอลของตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อ100กรัม)  
 $C_i$  = ความเข้มข้นของ internal standard (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)  
 $A_s$  = พื้นที่ใต้พีคของตัวอย่าง  
 $A_i$  = พื้นที่ใต้พีคของ internal standard  
 $V_i$  = ปริมาณของ internal standard ที่ใช้ (ไมโครลิตร)  
 $W_s$  = น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)  
 $r$  = response factor ของสารไฟโตสเตอรอลที่คำนวณจากกราฟมาตรฐานของสาร  
 มาตรฐาน นั้นๆโดย  $r$  ของ  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ  
 stigmastanol เท่ากับ 1.03, 0.98, 0.94 และ 0.98 ตามลำดับ

#### 5. การทำกราฟมาตรฐานของไฟโตสเตอรอลมาตรฐาน

เตรียมสารละลายของสารไฟโตสเตอรอลมาตรฐาน  $\beta$ -sitosterol, campesterol, stigmasterol และ stigmastanol ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน โดยเติมสารละลายผสมของสารไฟโตสเตอรอลมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0.68, 3.10, 3.06, และ 2.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในตัวทำละลายเฮกเซน HPLC grade ) 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 ไมโครลิตรลงในขวดที่มีสารละลาย internal standard (cholestane 0.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 50 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรรวมให้ได้ 140 ไมโครลิตรด้วยเฮกเซน HPLC grade เติมสาร derivative reagent แล้ววิเคราะห์ตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร ด้วยเครื่อง GC-FID เพื่อหาพื้นที่ใต้พีคของสารไฟโตสเตอรอลแต่ละชนิดกับ internal standard คำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคและปริมาณของสารไฟโตสเตอรอลต่อของ internal standard ที่แต่ละระดับความเข้มข้นแล้วสร้างกราฟมาตรฐาน (เลือกช่วงความเข้มข้นของสารไฟโตสเตอรอลมาตรฐานแต่ละชนิดให้ครอบคลุมปริมาณสารนั้นๆ ในตัวอย่าง) ดังภาพผนวกที่1 เพื่อหาความชัน แล้วคำนวณเป็นค่า response factor



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานของไฟโตสเตอรอลมาตรฐาน

## 6. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในผักพื้นบ้าน

ตารางผนวกที่ ก1 ปริมาณความชื้นในผักปลังขาว ผักโสมหนาม ใบชะพลู ผักชีฝรั่ง ผักบุ้งยอดแดงและใบขอ

| ชนิดผัก       | ความชื้น (ร้อยละ) |
|---------------|-------------------|
| ผักปลังขาว    | $93.27 \pm 2.11$  |
| ผักโสมหนาม    | $83.56 \pm 0.58$  |
| ใบชะพลู       | $83.39 \pm 1.88$  |
| ผักชีฝรั่ง    | $89.28 \pm 0.40$  |
| ผักบุ้งยอดแดง | $93.67 \pm 0.39$  |
| ขอดีใบขอ      | $80.92 \pm 2.53$  |

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเมื่อ  $n = 9$  (ทำ 3 ซ้ำแต่ละครั้งวัด 3 ครั้ง)

#### ภาคผนวก ข

การศึกษาผลของปริมาณจุกข้าวกลิ้งที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่อปริมาณโฟโตสเทอรอล  
การทำอนุพันธ์ของโฟโตสเทอรอล และการวิเคราะห์โฟโตสเทอรอลด้วย  
แก๊สโครมาโตกราฟี

### 1. ผลของปริมาณมูลขี้วัวลี้ยงที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่อปริมาณไฟโตสเตอรอล

เมื่อเพิ่มปริมาณตัวอย่างมูลขี้วัวที่ใช้ในการสกัดไฟโตสเตอรอลจาก 1 กรัมเป็น 2 กรัม โดยสกัดที่สภาวะการย่อยสลายด้วยกรด 30 นาที และย่อยสลายด้วยด่าง 60 นาที พบว่าปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมลดลงมากถึงร้อยละ 30.8 (ตารางที่ 6)

ตารางผนวกที่ ข1 ผลของปริมาณมูลขี้วัวลี้ยงที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่อปริมาณไฟโตสเตอรอล<sup>1</sup>

| เวลาการย่อยสลายกรด/ด่าง<br>(นาที) | ไฟโตสเตอรอลรวม<br>(มิลลิกรัม/100 กรัมโดยน้ำหนักแห้ง) |                   | ไฟโตสเตอรอลที่ลดลง<br>(ร้อยละ) |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------|
|                                   | 1 กรัม                                               | 2 กรัม            |                                |
| 30/60                             | 121.6 <sup>a</sup>                                   | 84.2 <sup>b</sup> | 30.8                           |

หมายเหตุ <sup>1</sup> ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

ซึ่งผลดังกล่าวอาจเนื่องมาจากการเพิ่มตัวอย่างในการสกัดส่งผลให้ตัวอย่างมีปริมาณมากเกินไป สำหรับสภาวะที่ใช้ในการสกัด จึงทำให้ตัวอย่างขี้วัวลี้ยงที่สกัดเกาะกันเป็นก้อนทำให้ตัวทำละลาย และกรดที่ใช้ในการสลายพันธะไม่สามารถเข้าสู่ตัวอย่างได้อย่างทั่วถึง เป็นผลให้ย่อยสลายไม่สมบูรณ์ ในขณะที่การใช้ตัวอย่างเพียง 1 กรัม ตัวทำละลายสามารถเข้าย่อยสลายตัวอย่างได้มากกว่าตัวอย่างจึงไม่มีลักษณะเป็นก้อน ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ

Toivo *et al.* (2000) ที่พบว่าปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดไฟโตสเตอรอลส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดโดยการใช้ตัวอย่างเพียง 1 กรัมในการสกัดไฟโตสเตอรอล สามารถสกัดไฟโตสเตอรอลได้ปริมาณสูงกว่าการใช้ตัวอย่าง 2 กรัม

## 2. การทำอนุพันธ์ของไฟโตสเตอรอล

การวิเคราะห์ปริมาณไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี ต้องวิเคราะห์ในรูปอนุพันธ์ของไฟโตสเตอรอล โดยการทำปฏิกิริยา Silylation เพื่อเพิ่มความสามารถในการระเหย และเพิ่มความคงตัวของไฟโตสเตอรอลที่ต้องการวิเคราะห์ นอกจากนี้การเปลี่ยนไฟโตสเตอรอลให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการแยก และวิเคราะห์สาร และป้องกันการเกิด peak tailing ระหว่างการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีอีกด้วย ((Moreau *et al.*, 2002) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีของ Toivo *et al.* (2000) โดยระเหยตัวทำละลาย (hexane) ด้วยแก๊สไนโตรเจน จากนั้นเติมไพริดีนปราศจากน้ำ (anhydrous pyridine) 100 ไมโครลิตร เพื่อละลายไฟโตสเตอรอล และเติม derivatize reagent (99% BSTFA และ 1% TMCS) 50 ไมโครลิตร และให้ไฟโตสเตอรอลทำปฏิกิริยากับสารทำอนุพันธ์โดยทิ้งไว้ข้ามคืนหรือให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ระเหยไพริดีนที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาออกจากตัวอย่างด้วยแก๊สไนโตรเจน เนื่องจากไพริดีนที่เหลือในตัวอย่างที่วิเคราะห์สามารถทำลายคอลัมน์ของแก๊สโครมาโตกราฟี จากนั้นจึงละลายไฟโตสเตอรอลที่ผ่านการทำอนุพันธ์แล้วใน Hexane 100 ไมโครลิตรเพื่อย้ายการใช้งานของคอลัมน์ จากวิธีดังกล่าวพบว่าไพริดีนระเหยออกจากตัวอย่างได้ยาก (ใช้เวลามากกว่า 30 นาที) และการระเหยไพริดีนอาจส่งผลให้สูญเสียไฟโตสเตอรอลบางส่วน นอกจากนี้ไฟโตสเตอรอลเกิดการตกผลึกเมื่อทำอนุพันธ์แล้ว ดังนั้นจึงทำการปรับวิธีการทำอนุพันธ์ โดยใช้ Hexane เป็นตัวทำละลายไฟโตสเตอรอลแทนไพริดีน เนื่องจาก Hexane เป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วสามารถทำลายไฟโตสเตอรอลได้ดี และเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมเนื่องจากไม่มี active hydrogen atoms ที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารทำอนุพันธ์ (Anonymous, n.d.) จากผลการศึกษาพบว่า Hexane สามารถละลายตัวอย่างแห้งได้ดี และไม่เกิดการตกผลึกของไฟโตสเตอรอลหลังจากการทำอนุพันธ์ ดังนั้นจึงเลือก Hexane เป็นตัวทำละลายในการทำอนุพันธ์ไฟโตสเตอรอลสำหรับการศึกษาขั้นต่อไป โดยมีขั้นตอนการทำอนุพันธ์เนื่องจาก derivatize reagent สามารถทำปฏิกิริยาและไวต่อไฮโดรเจนอะตอม จึงเลือกคอลัมน์แก๊สโครมาโตกราฟีที่เฟสคงที่ไม่มี functional group ซึ่ง silicone เป็นเฟสคงที่ที่เหมาะสมสำหรับการทำอนุพันธ์ด้วยวิธี TMS derivative ซึ่งเฟสดังกล่าวมีความเหนียวและคงตัวต่อสารทำอนุพันธ์ส่งผลให้เกิดการแยกของไฟโตสเตอรอลดียิ่งขึ้น ดังนั้นในการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีจึงใช้คอลัมน์ ultra-1 ซึ่งมี cross-linked silicone เป็นเฟสคงที่ (Anonymous, n.d.)

### 3. การวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี

วิธีการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีดัดแปลงมาจากวิธีของ รัฐกรณ์ (2547) โดยวิธีการดังกล่าวเป็นวิธีการวิเคราะห์คลอเรสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี ซึ่งต่อกับ Flame Ionization Detector (FID) และมีสถานะในการวิเคราะห์ดังนี้ ฉีดตัวอย่างแบบ split ด้วย อัตราส่วน 1 : 8 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร อุณหภูมิ injector 270 องศาเซลเซียส การแยกไฟโตสเตอรอลใช้แคปิลารีคอลัมน์ HP ultra-1 ขนาด 25 เมตร x 0.32 มิลลิเมตร x 0.52 ไมโครเมตร ใช้ ก๊าซฮีเลียมความบริสุทธิ์ ร้อยละ 99.999 เป็นแก๊สนำพา (carrier gas) โดยมีอัตราการไหล 4.0 มิลลิตร/นาที่ อุณหภูมิที่ใช้ในการแยกสารที่ 260 องศาเซลเซียส คงไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 20 นาที พบว่าที่สภาวะดังกล่าวสามารถแยกสารมาตรฐานแต่ละชนิดได้ที่เวลาดังนี้ stigmasterol 13.357 นาที  $\beta$ -sitosterol 15.155 นาที stigmastanol 15.538 นาที และ 5 $\alpha$ -cholestane 5.242 นาที แต่เมื่อนำสารมาตรฐานผสมกัน พบว่าไม่สามารถแยกสาร  $\beta$ -sitosterol และ stigmastanol ออกจากกัน ได้ ดังนั้นจึงลดอัตราการไหลมาที่ 3 มิลลิตร/นาที่ พบว่ายังไม่สามารถแยกสาร  $\beta$ -sitosterol และ stigmastanol ออกจากกัน ได้ เมื่อลดอัตราการไหลมาที่ 2 และ 1.5 มิลลิตร/นาที่ พบว่าสามารถแยกสารมาตรฐานทุกตัวออกจากกันได้

แต่เมื่อทดลองวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลที่สกัดได้จากจุกข้าวที่สภาวะดังกล่าว พบว่าไม่สามารถแยกไฟโตสเตอรอลที่ต้องวิเคราะห์จากสารอื่น เช่น ไม่สามารถแยกสาร  $\beta$ -sitosterol และ stigmastanol ออกจากกัน ได้ ดังนั้นจึงปรับปรุงสภาวะการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีเป็นการใช้ temperature program ที่สภาวะในการวิเคราะห์ดังนี้ ฉีดไฟโตสเตอรอล ปริมาตร 1 ไมโครลิตร split ด้วยอัตราส่วน 1: 8 อุณหภูมิ injector 270 องศาเซลเซียส อัตราการไหลแก๊สนำพา 2.0 มิลลิตร/นาที่ อุณหภูมิที่ใช้ในการแยกสารเริ่มที่ 200 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 5 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียส/นาที่ จนถึง 270 องศาเซลเซียสคงอุณหภูมิไว้ 30 นาที รวมเวลาวิเคราะห์ตัวอย่าง 59 นาที พบว่าสามารถแยก campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol และ stigmastanol ได้ที่เวลา 33.934, 34.927, 36.993 และ 37.370 นาที ตามลำดับ

ตารางผนวกที่ ข2 ผลการศึกษาสภาวะการวิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี

| สภาวะ                               | สารไฟโตสเตอรอลมาตรฐาน |             |              |              |     | ไฟโตสเตอรอล<br>ในจมูกข้าว |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------|--------------|--------------|-----|---------------------------|
|                                     | $\beta$ -Sitosterol   | Campesterol | Stigmasterol | Stigmastanol | รวม |                           |
| รัฐกรณ์ (2547)                      | +                     | +           | +            | +            | -   | -                         |
| รัฐกรณ์ (2547) <sup>1</sup>         | +                     | +           | +            | +            | -   | -                         |
| รัฐกรณ์ (2547) <sup>2</sup>         | +                     | +           | +            | +            | +   | -                         |
| Temperature<br>program <sup>3</sup> | +                     | +           | +            | +            | +   | +                         |

หมายเหตุ + หมายถึง สามารถแยกสารไฟโตสเตอรอลได้

- หมายถึง ไม่สามารถแยกสารไฟโตสเตอรอลได้

<sup>1</sup> หมายถึง วิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีด้วยสภาวะของ  
รัฐกรณ์ (2547) แต่ปรับอัตราการไหลที่ 3 มิลลิลิตร/นาที

<sup>2</sup> หมายถึง วิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีด้วยสภาวะของ  
รัฐกรณ์ (2547) แต่ปรับอัตราการไหลที่ 2 และ 1.5 มิลลิลิตร/นาที

<sup>3</sup> หมายถึง วิเคราะห์ไฟโตสเตอรอลด้วยแก๊สโครมาโตกราฟีที่สภาวะ injector  
270 องศาเซลเซียส อัตราการไหล 2.0 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิที่ใช้ในการแยก  
สารที่ 200 องศาเซลเซียส 5 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 3 องศา  
เซลเซียส/นาที จนถึง 270 องศาเซลเซียสคงไว้ 30 นาที

**ภาคผนวก ค**  
**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

**ตารางผนวกที่ ค1** การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและด่างต่อปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Acid      | 2                      | 1488.254            | 744.123          | 23.257  | .000         |
| Base      | 1                      | 62.757              | 62.757           | 1.961   | .187         |
| Acid*Base | 2                      | 739.329             | 369.664          | 11.554  | .002         |
| Error     | 12                     | 383.943             | 31.995           |         |              |
| Total     | 17                     | 2674.274            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค2** การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและด่างต่อปริมาณ campesterol ในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Acid      | 2                      | 153.368             | 76.684           | 18.186  | .000         |
| Base      | 1                      | 7.709               | 7.709            | 1.828   | .201         |
| Acid*Base | 2                      | 78.922              | 39.461           | 9.359   | .004         |
| Error     | 12                     | 50.599              | 4.217            |         |              |
| Total     | 17                     | 290.598             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค3** การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและด่างต่อปริมาณ stigmasterol ในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Acid      | 2                      | 1.126               | .563             | .702    | .515         |
| Base      | 1                      | 1.253               | 1.253            | 1.563   | .235         |
| Acid*Base | 2                      | 1.197               | .599             | .746    | .495         |
| Error     | 12                     | 9.623               | .802             |         |              |
| Total     | 17                     | 13.200              |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค4** การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและด่างต่อปริมาณ stigmastanol ในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Acid      | 2                      | 27.010              | 13.505           | 3.527   | .062         |
| Base      | 1                      | 13.022              | 13.002           | 3.401   | .090         |
| Acid*Base | 2                      | 77.708              | 38.854           | 10.148  | .003         |
| Error     | 12                     | 45.946              | 3.829            |         |              |
| Total     | 17                     | 163.686             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค5** การวิเคราะห์ทางสถิติอิทธิพลของการสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดและด่างต่อปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในจมูกข้าวกล้องที่สกัดได้

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Acid      | 2                      | 3250.716            | 1625.358         | 21.175  | .000         |
| Base      | 1                      | 174.160             | 174.160          | 2.269   | .158         |
| Acid*Base | 2                      | 1925.472            | 962.736          | 12.542  | .001         |
| Error     | 12                     | 921.110             | 76.759           |         |              |
| Total     | 17                     | 6271.459            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค6** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อยสลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาทีร่วมกับด่างเป็นเวลา 30 และ 60 นาที (สัมพันธ์กับตารางที่ 5)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 2290.331            | 458.066          | 14.317  | .000         |
| Error     | 12                     | 383.943             | 31.995           |         |              |
| Total     | 17                     | 2674.274            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค7** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ campesterol ในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อย  
 สลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาที ร่วมกับด่างเป็นเวลา 30 และ 60 นาที  
 (สัมพันธ์กับตารางที่ 5)

| Source    | Degree of<br>Freedom (df) | Sum of<br>Squares (SS) | Mean Square<br>(MS) | F value | Sig<br>(p<0.05) |
|-----------|---------------------------|------------------------|---------------------|---------|-----------------|
| Treatment | 5                         | 239.999                | 48.000              | 11.384  | .000            |
| Error     | 12                        | 50.599                 | 4.217               |         |                 |
| Total     | 17                        | 290.598                |                     |         |                 |

**ตารางผนวกที่ ค8** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อย  
 สลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาที ร่วมกับด่างเป็นเวลา 30 และ 60 นาที  
 (สัมพันธ์กับตารางที่ 5)

| Source    | Degree of<br>Freedom (df) | Sum of<br>Squares (SS) | Mean Square<br>(MS) | F value | Sig<br>(p<0.05) |
|-----------|---------------------------|------------------------|---------------------|---------|-----------------|
| Treatment | 5                         | 3.577                  | .715                | .892    | .516            |
| Error     | 12                        | 9.623                  | .802                |         |                 |
| Total     | 17                        | 13.200                 |                     |         |                 |

**ตารางผนวกที่ ค9** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อยสลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาที ร่วมกับด่างเป็นเวลา 30 และ 60 นาที (สัมพันธ์กับตารางที่ 5)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 117.740             | 23.548           | 6.150   | .005         |
| Error     | 12                     | 45.946              | 3.829            |         |              |
| Total     | 17                     | 163.686             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค10** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในจมูกข้าวกล้องที่สภาวะการย่อยสลายด้วยกรดเป็นเวลา 0, 30 และ 60 นาที ร่วมกับด่างเป็นเวลา 30 และ 60 นาที (สัมพันธ์กับตารางที่ 5)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 5350.349            | 1070.070         | 13.941  | .000         |
| Error     | 12                     | 921.110             | 76.759           |         |              |
| Total     | 17                     | 6271.459            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค11** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขมิ้น ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (สัมพันธ์กับตารางที่ 6)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 19118.706           | 4779.646         | 10.999  | .011         |
| Error     | 5                      | 2172.813            | 434.563          |         |              |
| Total     | 9                      | 21291.519           |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค12** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ campesterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (สัมพันธ์กับตารางที่ 6)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 917.517             | 229.379          | .817    | .566         |
| Error     | 5                      | 1404.282            | 280.856          |         |              |
| Total     | 9                      | 2321.799            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค13** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (สัมพันธ์กับตารางที่ 6)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 30770.772           | 6154.154         | 35.865  | .000         |
| Error     | 5                      | 1029.548            | 171.591          |         |              |
| Total     | 9                      | 31800.320           |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค14** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmastanol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักบุ้งแดง (สัมพันธ์กับตารางที่ 6)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 3930.386            | 982.596          | 10.054  | .013         |
| Error     | 5                      | 488.683             | 97.737           |         |              |
| Total     | 9                      | 4419.069            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค15** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักนึ่งแดง (สัมพันธ์กับตารางที่ 6)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 28869.379           | 5773.876         | 6.169   | .023         |
| Error     | 5                      | 5615.559            | 935.927          |         |              |
| Total     | 9                      | 34484.939           |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค16** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักนึ่งแดง (น้ำหนักเปียก) (สัมพันธ์กับตารางที่ 7)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 241.889             | 60.472           | 4.353   | .069         |
| Error     | 5                      | 69.468              | 13.894           |         |              |
| Total     | 9                      | 311.356             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค17** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ campesterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบขอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักนึ่งแดง (น้ำหนักเปียก) (สัมพันธ์กับตารางที่ 7)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 51.479              | 12.870           | 1.712   | .283         |
| Error     | 5                      | 37.589              | 7.518            |         |              |
| Total     | 9                      | 89.068              |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค18** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบยอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักนึ่งแดง (น้ำหนักเปียก) (สัมพันธ์กับตารางที่ 7)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 241.889             | 60.472           | 4.353   | .069         |
| Error     | 6                      | 69.468              | 13.894           |         |              |
| Total     | 11                     | 311.356             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค19** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบยอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักนึ่งแดง (น้ำหนักเปียก) (สัมพันธ์กับตารางที่ 7)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 146.810             | 36.702           | 10.370  | .012         |
| Error     | 5                      | 17.696              | 3.539            |         |              |
| Total     | 9                      | 164.506             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค20** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในผักปลังขาว ผักโขมหนาม ใบยอ ใบชะพลู ใบผักชีฝรั่ง และผักนึ่งแดง (น้ำหนักเปียก) (สัมพันธ์กับตารางที่ 7)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 1276.489            | 255.298          | 7.899   | .013         |
| Error     | 6                      | 193.911             | 32.318           |         |              |
| Total     | 11                     | 1470.400            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค21** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณความชื้นของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์  
(สัมพันธ์กับตารางที่ 10)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | .511                | .128             | 28.764  | .000         |
| Error     | 10                     | .044                | .004             |         |              |
| Total     | 14                     | .555                |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค22** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไขมันของข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์  
(สัมพันธ์กับตารางที่ 10)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 1.879               | .470             | 5.402   | .014         |
| Error     | 10                     | .869                | .087             |         |              |
| Total     | 14                     | 2.748               |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค23** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วน  $\beta$ -sitosterol ในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์ (สัมพันธ์กับตารางที่ 12)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 3849.349            | 962.337          | 82.198  | .000         |
| Error     | 10                     | 117.076             | 11.708           |         |              |
| Total     | 14                     | 3966.425            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค24** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วน campesterol ในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์ (สัมพันธ์กับตารางที่ 12)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 866.890             | 216.722          | 61.533  | .000         |
| Error     | 10                     | 35.220              | 3.522            |         |              |
| Total     | 14                     | 902.110             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค25** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วน stigmasterol ในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์ (สัมพันธ์กับตารางที่ 12)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 483.572             | 120.893          | 59.054  | .000         |
| Error     | 10                     | 20.471              | 2.047            |         |              |
| Total     | 14                     | 504.043             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค26** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วน stigmastanol ในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์ (สัมพันธ์กับตารางที่ 12)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 105.674             | 26.418           | 17.764  | .000         |
| Error     | 10                     | 14.872              | 1.487            |         |              |
| Total     | 14                     | 120.546             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค27** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณและสัดส่วนไฟโตสเตอรอลรวมในข้าวกล้องแต่ละสายพันธุ์ (สัมพันธ์กับตารางที่ 12)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 4                      | 14402.057           | 3600.514         | 71.984  | .000         |
| Error     | 10                     | 500.181             | 50.018           |         |              |
| Total     | 14                     | 14902.238           |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค28** การวิเคราะห์การถดถอยระหว่างปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในข้าวกล้อง

| Model      | Untandardize Coefficients |           | Standardize Coefficients | t      | Sig (p<0.05) |
|------------|---------------------------|-----------|--------------------------|--------|--------------|
|            | B                         | Std.Error | Beta                     |        |              |
| (constant) | -62.075                   | 59.649    |                          | -1.041 | .317         |
| fat        | 41.398                    | 16.602    | .569                     | 2.494  | .027         |

หมายเหตุ R = .569     $R^2 = .324$

**ตารางผนวกที่ ค29** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณความชื้นในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย (สัมพันธ์กับตารางที่ 13)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 49.371              | 9.874            | 186.402 | .000         |
| Error     | 12                     | .636                | .053             |         |              |
| Total     | 17                     | 50.006              |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค30** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณไขมันในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย  
(สัมพันธ์กับตารางที่ 13 )

| Source    | Degree of<br>Freedom (df) | Sum of<br>Squares (SS) | Mean Square<br>(MS) | F value | Sig<br>(p<0.05) |
|-----------|---------------------------|------------------------|---------------------|---------|-----------------|
| Treatment | 5                         | 2574.453               | 514.891             | 112.555 | .000            |
| Error     | 12                        | 54.895                 | 4.575               |         |                 |
| Total     | 17                        | 2629.348               |                     |         |                 |

**ตารางผนวกที่ ค31** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย  
(สัมพันธ์กับตารางที่ 15)

| Source    | Degree of<br>Freedom (df) | Sum of<br>Squares (SS) | Mean Square<br>(MS) | F value | Sig<br>(p<0.05) |
|-----------|---------------------------|------------------------|---------------------|---------|-----------------|
| Treatment | 5                         | 4063.407               | 812.681             | 9.489   | .001            |
| Error     | 12                        | 1027.684               | 85.640              |         |                 |
| Total     | 17                        | 5091.091               |                     |         |                 |

**ตารางผนวกที่ ค32** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ campesterol ในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย  
(สัมพันธ์กับตารางที่ 15)

| Source    | Degree of<br>Freedom (df) | Sum of<br>Squares (SS) | Mean Square<br>(MS) | F value | Sig<br>(p<0.05) |
|-----------|---------------------------|------------------------|---------------------|---------|-----------------|
| Treatment | 5                         | 574.109                | 114.822             | 38.633  | .000            |
| Error     | 12                        | 35.665                 | 2.972               |         |                 |
| Total     | 17                        | 609.775                |                     |         |                 |

**ตารางผนวกที่ ค33** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย  
(สัมพันธ์กับตารางที่ 15)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 5207.844            | 1041.569         | 153.660 | .000         |
| Error     | 12                     | 81.341              | 6.778            |         |              |
| Total     | 17                     | 5289.185            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค34** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ stigmasterol ในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย  
(สัมพันธ์กับตารางที่ 15)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 835.376             | 167.075          | 25.184  | .000         |
| Error     | 12                     | 79.611              | 6.634            |         |              |
| Total     | 17                     | 914.988             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค35** การวิเคราะห์ทางสถิติปริมาณ ไฟโตสเตอรอลรวมในพืชตระกูลถั่ว และลูกเดือย  
(สัมพันธ์กับตารางที่ 15)

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 5                      | 3409.102            | 681.820          | 2.935   | .059         |
| Error     | 12                     | 2787.664            | 232.305          |         |              |
| Total     | 17                     | 6196.766            |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค36** การวิเคราะห์การถดถอยระหว่างปริมาณไขมันและปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม  
ในพืชตระกูลถั่วและลูกเดือย

| Model      | Untandardize Coefficients |           | Standardize Coefficients | t      | Sig<br>(p<0.05) |
|------------|---------------------------|-----------|--------------------------|--------|-----------------|
|            | B                         | Std.Error | Beta                     |        |                 |
| (constant) | 103.299                   | 9.111     |                          | 11.338 | .000            |
| fat        | .200                      | .566      | .174                     | .352   | .742            |

หมายเหตุ  $R = .174$   $R^2 = .030$

**ตารางผนวกที่ ค37** การวิเคราะห์ทางสถิติผลของปริมาณจมูกข้าวกล้องที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่อ  
ปริมาณไฟโตสเตอรอลรวม (สัมพันธ์กับตารางผนวกที่ ข1 )

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig<br>(p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|-----------------|
| Treatment | 1                      | 2096.270            | 2096.270         | 27.295  | .006            |
| Error     | 4                      | 307.202             | 76.801           |         |                 |
| Total     | 5                      | 2403.473            |                  |         |                 |

**ตารางผนวกที่ ค38** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 60 นาที

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig<br>(p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|-----------------|
| Treatment | 1                      | 107.952             | 107.952          | 1.623   | .331            |
| Error     | 2                      | 133.008             | 66.504           |         |                 |
| Total     | 3                      | 240.960             |                  |         |                 |

**ตารางผนวกที่ ค39** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วแดงที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 60 นาที

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 1                      | 474.504             | 474.504          | 14.415  | .032         |
| Error     | 3                      | 98.749              | 32.916           |         |              |
| Total     | 4                      | 573.253             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค40** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วดำที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 60 นาที

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 1                      | 373.456             | 374.456          | 19.046  | .049         |
| Error     | 2                      | 39.216              | 19.608           |         |              |
| Total     | 3                      | 412.672             |                  |         |              |

**ตารางผนวกที่ ค41** การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไฟโตสเตอรอลรวมในถั่วเขียวที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 60 นาที

| Source    | Degree of Freedom (df) | Sum of Squares (SS) | Mean Square (MS) | F value | Sig (p<0.05) |
|-----------|------------------------|---------------------|------------------|---------|--------------|
| Treatment | 1                      | 1103.568            | 1103.568         | 26.629  | .036         |
| Error     | 2                      | 82.884              | 41.442           |         |              |
| Total     | 3                      | 1186.452            |                  |         |              |

### ประวัติการศึกษา

ชื่อ : นางสาวพัชทอง สวัสดิเกียรติ  
สถานที่เกิด : จังหวัดขอนแก่น  
วัน เดือน ปีเกิด : 26 พฤษภาคม 2523  
ประวัติการศึกษา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีอาหาร)  
มหาวิทยาลัยขอนแก่น (พ.ศ. 2544)  
ทุนการศึกษาที่ได้รับ : ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท-เอก  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
ประจำปีงบประมาณ 2546