

ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) ความหลากหลายของพื้นที่และพันธุกรรมของตะเคียน (*Albizia lebbeck* (L.) Benth.) ในประเทศไทย ต่อคุณค่าทางโภชนาการและประโยชน์เชิงสุขภาพ

(ภาษาอังกฤษ) Diversity of area and genetic of Ta-Kuk (*Albizia lebbeck* (L.) Benth.) in Thailand on nutrition and health benefit

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2556 จำนวนเงิน 1,232,100 บาท (หนึ่งล้านสองแสนสามหมื่นสองพันหนึ่งร้อยบาทถ้วน)

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี เริ่มทำการวิจัย เดือนพฤษภาคม 2557 ถึงเดือนพฤษภาคม 2558

ชื่อผู้วิจัย หน่วยงานและผู้ดำเนินการวิจัยพร้อมหน่วยงานที่สังกัดและหมายเลขโทรศัพท์

1.1 หัวหน้าโครงการ

หัวหน้าโครงการ ผศ.ดร. สมศรี เจริญเกียรติกุล
หน่วยงาน สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
สถานที่ติดต่อ 25/25 ถ.พุทธมนทลสาย 4 ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170
โทรศัพท์ 0-2800-2380 ต่อ 304 320
โทรสาร 0-2441-9344
E-mail somsri.chr@mahidol.ac.th
ความรับผิดชอบ: เขียนโครงการ วางแผนการวิจัย ลงพื้นที่ภาคสนาม เก็บและรวบรวมข้อมูล ตรวจสอบ ข้อมูลวิเคราะห์และประเมินข้อมูล สรุปและเขียนรายงาน คิดเป็น 35% ของงานทั้งหมด

1.2 ผู้ร่วมงานวิจัย

1. ผศ. ดร.ครรชิต จุตประสงค์
สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
โทร 662-800-2380 ต่อ 324 โทรสาร 662-441-9344
E-mail: kunchit.jud@mahidol.ac.th
ความรับผิดชอบ: ลงพื้นที่ภาคสนาม เก็บและรวบรวมข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการ ประเมินผลข้อมูล สรุปและเขียนรายงาน คิดเป็น 20% ของงานทั้งหมด
2. ผศ. ดร.ศิริพร ตันติโพธิพัฒน์
สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
โทร 662-800-2380 ต่อ 419 โทรสาร 662-441-9344
E-mail: siriporn,tun@mahidol.ac.th
ความรับผิดชอบ: ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบ รวบรวมและประเมินผลข้อมูล สรุปและเขียนรายงาน คิดเป็น 15% ของงานทั้งหมด
3. นางสาวภรณ์ยา ยิยะใจ
สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
โทร 662-800-2380 ต่อ 404 โทรสาร 662-441-9344
E-mail: parunya.thy@mahidol.ac.th

ความรับผิดชอบ: วิเคราะห์สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระ รวบรวม
และประเมินผลข้อมูล เขียนรายงาน คิดเป็น 20% ของงานทั้งหมด

4. นางสาว เกมิกา แพรงามธนาโชติ

สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

โทร 662-800-2380 ต่อ 419 โทรสาร 662-441-9344

E-mail: phawachaya.pra@mahidol.ac.th

ความรับผิดชอบ: ทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ รวบรวมและประเมินผลข้อมูล เขียน
รายงาน คิดเป็น 10% ของงานทั้งหมด

1.3 ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

นายพรชัย จุฑามาศ

รองผู้อำนวยการโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และ
หัวหน้าสำนักงานโครงการฯ

บทคัดย่อ

ตะคึก เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในแถบทวีปเอเชียเขตร้อน และแอฟริกา สามารถเจริญเติบโตได้ทุกภูมิภาคของประเทศไทย จากการสำรวจ และศึกษาตะคึกในพื้นที่ปลูกพันธุ์กรรมพืช พบว่าเป็นพืชอาหารที่น่าสนใจ แต่ยังมีการนำมาบริโภคค่อนข้างน้อย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และประโยชน์เชิงสุขภาพของตะคึกจากพื้นที่ต่างๆ ในประเทศไทย อีกทั้งยังศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และประโยชน์เชิงสุขภาพจากการลวกก่อนนำมาบริโภค จาก 3 พื้นที่ที่มีข้อมูลว่าพบและมีการนำตะคึกมาบริโภค ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี เพื่อเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลรหัสแท่งสารพันธุกรรม และสร้างแผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ และนำส่วนที่กินได้ของตะคึก (ยอด ใบอ่อน และดอก) ทั้งสด และลวก มาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ด้วยวิธีมาตรฐาน ของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) สารออกฤทธิ์ชีวภาพ ได้แก่ วิตามินซี คาโรทีนอยด์ และฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี HPLC เทียบกับสารมาตรฐาน สารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ 1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาสมบัติเชิงสุขภาพของตะคึกลวกในการลดอนุมูลอิสระ และลดการอักเสบในเซลล์ลำไส้มนุษย์ที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และการอักเสบ ผลการศึกษาพบว่าตะคึกจากทั้ง 3 จังหวัด ส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม ตะคึกเป็นแหล่งที่ดีของโปรตีน โยอาหาร เหล็ก และวิตามินซี คุณค่าทางโภชนาการของตะคึกบนพื้นฐานน้ำหนักแห้ง จากทั้ง 3 จังหวัด ไม่แตกต่างกัน ยกเว้นแคลเซียมของตะคึกจากจังหวัดกาญจนบุรี และสุพรรณบุรีสูงกว่านครราชสีมา และโซเดียมของตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรีสูงกว่าสุพรรณบุรี สารออกฤทธิ์ชีวภาพของตะคึกจาก 3 จังหวัดมีค่าไม่แตกต่างกัน ยกเว้นปริมาณวิตามินซี และ luteolin ของตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรีมีค่าสูงกว่าจังหวัดสุพรรณบุรี ในขณะที่ สารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา และสุพรรณบุรีมีค่าสูงกว่าจังหวัดกาญจนบุรี การลวกทำให้สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง ดังนั้นวิตามินซี ผลรวมคาโรทีนอยด์ ผลรวมฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกรวมลดลงร้อยละ 52, 50, 42, 47 ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดลงร้อยละ 50-57 การทดสอบในเซลล์ลำไส้มนุษย์ แสดงว่าส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ (bioaccessible fraction) ของตะคึกลวกสามารถลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ลำไส้ได้ร้อยละ 20-27 และสามารถลดตัวชี้วัดการอักเสบ IL-8 และ MCP-1 ได้ร้อยละ 32-37 โดยพบว่าตะคึกลวกจากสุพรรณบุรีให้ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การลดอนุมูลอิสระ และการลดการอักเสบในเซลล์ลำไส้ดีกว่าตะคึกจากจังหวัดอื่นๆ นอกจากนี้ ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกยังมีแนวโน้มในการเพิ่มปริมาณกลูตาไธโอน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกจากจังหวัดสุพรรณบุรี จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของตะคึก ซึ่งอาจมีส่วนช่วยในการป้องกัน และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังต่างๆ จึงควรมีการเผยแพร่ข้อมูลให้กว้างขวาง และสนับสนุนให้มีการนำตะคึกมาบริโภคเพิ่มขึ้นเป็นทางเลือกเพื่อสุขภาพ

คำสำคัญ: ตะคึก, *Albizia lebbeck* (L.) Benth, คุณค่าทางโภชนาการ, สารออกฤทธิ์ชีวภาพ, ประโยชน์เชิงสุขภาพ, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, การต้านการอักเสบ, การลวก

ABSTRACT

Ta-Kuk (*Albizia lebbeck* L. Benth) is a plant native to tropical and subtropical regions of Asia and Africa. Ta-Kuk can be grown in all regions of Thailand. From the previous study in plant genetic conservation area showed that Ta-Kuk is an interesting plant. However, the consumption is quite limited to some communities. Therefore, this study aimed to study the genetic variation of Ta-Kuk, nutritive values, bioactive components as well as health benefits of this plant collected from 3 different regions in Thailand. The effect of blanching on bioactive components and health benefits also carried out. First, the information on the provinces which Ta-Kuk was grown was investigated. Three provinces including Nakhon Ratchasima (NK), Kanchanaburi (KB) and Supanburi (SP) were selected for collection of Ta-Kuk due to their availability and consumption. The genetic variation was conducted by DNA barcode and draw phylogenetic trees. The edible part (shoots, young leaves and flowers) of Ta-Kuk (EPT), both fresh and blanched vegetables, were determined for nutritive values by Association of Official Analytical Chemists (AOAC) methods. Bioactive compounds including vitamin C, carotenoids and flavonoids were analyzed by HPLC methods compared with their standards. Folin-Ciocalteu method was used for determined total phenolic contents. The antioxidant properties were tested by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assays and 1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) assay. The health benefits of Ta-Kuk in terms of the reduction of reactive oxygen species (ROS) and inflammation using Caco-2 cells were studied. The results showed that there was no genetic variation among Ta-Kuk samples. Ta-Kuk was good sources of protein, fiber, iron and vitamin C. The comparison based on dry basis revealed that most nutritive values of EPT from 3 provinces were not different. Except for the calcium contents of EPT from KB and SP were higher than that of NK, and the sodium contents of EPT from NK and KB were higher than that of SP. The contents of bioactive compounds of EPT from 3 provinces were similar, except the vitamin C and luteolin contents of EPT from NK and KB which were higher than that from SP. Additionally, the total phenolic contents and antioxidant activities of EPT from NK and SP were greater than that from KB. The reduction of bioactive compounds and antioxidant activities were observed. The percent loss of vitamin C, sum of carotenoids, sum of flavonoids and total phenolic contents were 52, 50, 42 and 47, respectively. The antioxidant activities declined 50-57 percent. The study using Caco-2 cell was demonstrated that the bioaccessible fraction (BF) of blanched EPT lower ROS approximately 20-27 percent, and it also reduced the chemokine (IL-8 and MCP-1) levels, parameters of inflammation, by 32-37 percent. The EPT from SP had the highest antioxidant activities, reduction level of ROS and inflammation in Caco-2 cells compared to others. Moreover, BF of blanched EPT tended to increase glutathione content, particularly BF of blanched EPT from SP. From the finding EPT of Ta-Kuk shows the potential in prevention or reduction risk of causes for non-communicable diseases. Therefore, this information should be used for education and promotion to the consumers as an alternative vegetables for health.

Key words: Ta-Kuk, *Albizia lebbeck* (L.) Benth, nutritive value, bioactive compound, health benefit, antioxidant activity, anti-inflammatory, blanching

1. บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยมีความอุดมสมบูรณ์ทางทรัพยากรธรรมชาติ และความหลากหลายของพืชพันธุ์ต่างๆ ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน โดยเฉพาะ การนำมาใช้เป็นอาหาร ดังเช่นผักพื้นบ้านตามภูมิภาคต่างๆของไทย ซึ่งจัดเป็นแหล่งอาหารสำคัญที่อยู่คู่กับวิถีการบริโภคประจำวันของคนในแต่ละท้องถิ่นมาช้านาน ผักพื้นบ้านหลายชนิดสามารถพบได้ในธรรมชาติ ตามฤดูกาล หรืออาจมีการนำมาเพาะปลูก เพื่อใช้บริโภคแตกต่างกันไป ตามความนิยมในแต่ละภูมิภาคของประเทศ การดำรงอยู่ของผักพื้นบ้านตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันแสดงให้เห็นถึงการคัดเลือกทางธรรมชาติ ว่าเป็นพืชพรรณที่เหมาะสมกับสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของประเทศไทย สามารถเจริญเติบโตได้โดยไม่ต้องใช้สารเคมีในการดูแลรักษา จึงอาจกล่าวได้ว่าผักพื้นบ้านเป็นผักปลอดสารพิษ ปัจจุบันวิถีชีวิตของคนไทยเปลี่ยนแปลงตามวัฒนธรรมของชาติตะวันตกที่เข้ามามีบทบาทในสังคมมากขึ้น ทำให้เกิดค่านิยมของอาหารแปรรูปหรืออาหารเร่งด่วน (fast food) อีกทั้งการเปิดการค้าเสรีกับต่างประเทศทำให้มีการนำเข้าผักและผลไม้ต่างถิ่นเพิ่มมากขึ้น พฤติกรรมการบริโภคที่เปลี่ยนไปทำให้วัฒนธรรมการบริโภคแบบดั้งเดิมถูกลบเลือนไป ตลอดจนขาดการสืบทอดความรู้และภูมิปัญญาการบริโภคผักพื้นบ้านจากบรรพบุรุษของคนรุ่นใหม่ นอกจากนั้นทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมถูกทำลายเพิ่มขึ้น จึงทำให้ผักพื้นบ้านส่วนมาก ถูกหลงลืม และในที่สุดอาจสูญหายไปจากพื้นที่ประเทศไทยได้

สมศรี และคณะ (2552-2554) ทำการสำรวจพืชอาหารในพื้นที่ป่าชุมชนรอบพื้นที่เขื่อนศรีนครินทร์ และศูนย์อนุรักษ์และพัฒนาทรัพยากรภาคตะวันตก จังหวัดกาญจนบุรี ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เพื่อนำมาศึกษาข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์สำคัญทางชีวภาพและประโยชน์ต่อสุขภาพด้านต่างๆ ของพืชผักท้องถิ่น จำนวน 40 ชนิดที่สามารถบริโภคได้ ผลการวิจัยพบว่า พืชอาหารส่วนใหญ่มีคุณค่าทางโภชนาการ และประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะ ผักหวานป่า ตะคึก และ กระพี้จั่น สำหรับผักหวานป่า นอกจากคุณค่าทางโภชนาการ แล้วรสชาติยังเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค จึงทำให้มีการแข่งขันเก็บผลผลิตเพราะขายได้ราคาสูง อีกทั้งมีการศึกษาวิจัยผักหวานป่า และมีงานวิจัยต่อยอดไปบ้างแล้วในเชิงพาณิชย์ ตลอดจนมีการส่งเสริมให้ขยายการเพาะปลูกนอกป่าชุมชนเพื่อเพิ่มผลผลิตและมีบริโภคได้ตลอดปี เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค สำหรับตะคึกเป็นพืชอาหารอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจศึกษาเช่นเดียวกับผักหวานป่า เนื่องจากยอดและใบอ่อนตะคึกมีคุณค่าทางโภชนาการ เช่นโปรตีน และวิตามินซี สูง นอกจากนั้นยังมีสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ คาโรทีนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ายอดอ่อนผักหวานป่า ผู้วิจัยจึงเห็นถึงศักยภาพที่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมให้ครอบคลุมกว้างมากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้

ตะคึก หรือ พฤกษ์ (*Albizia lebbeck* (L.) Benth) เป็นไม้ยืนต้นที่ทนแล้ง พบได้ทั่วไปในเป็นป่าเต็งรัง เปลือกลำต้นและเมล็ดตะคึกใช้ในตำรายาไทยในการสมานแผล ใบใช้ดับพิษร้อน ส่วนยอดและใบอ่อนใช้ประกอบอาหารได้หลากหลายชนิด เช่น ต้ม/ลวกจิ้ม น้ำพริก แกงเลียง และแกงส้ม สมศรี และคณะ (2553) ศึกษาตำรายาอาหารตามภูมิปัญญาท้องถิ่นของคนในชุมชน จังหวัดกาญจนบุรี พบว่าแกงส้มตะคึกซึ่งปรุงตามแบบท้องถิ่นร่วมกับส่วนประกอบอื่นๆ เช่น ปลา ส้มยอ (มะเขือเทศชนิดหนึ่ง) และเครื่องแกง มีคุณค่าทางโภชนาการ และประโยชน์เชิงสุขภาพที่ดี จากการที่พบตะคึกได้ในหลายพื้นที่ของประเทศไทย ซึ่งมีลักษณะทางภูมิประเทศ และลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันไป ดังนั้นเพื่อให้การศึกษาตะคึกที่พบในประเทศไทยครบถ้วนสมบูรณ์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาองค์ประกอบสำคัญด้านอาหารและโภชนาการรวมถึงประโยชน์เชิงสุขภาพของยอดและใบอ่อนของตะคึก เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นถึงประโยชน์ที่ดีของตะคึกในประเทศ

ไทย ก่อนที่จะนำไปสู่การขยายผลเพื่อการอนุรักษ์ และการใช้ประโยชน์อย่างแท้จริงและยั่งยืนต่อไป เพื่อความมั่นคงทางอาหาร ภูมิปัญญาท้องถิ่น สังคม วัฒนธรรม และสุขภาวะของประชาชนต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อร่วมสนองพระราชดำริ ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ในด้านการนำไปใช้ประโยชน์

1.2.2 เพื่อให้ทราบถึงความแตกต่างและความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชชนิดนี้ทั้งในกลุ่มตัวอย่างที่ได้จากแหล่งเดียวกันและจากต่างแหล่งพื้นที่

1.2.3 ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ ของยอดและใบอ่อนตะคึก

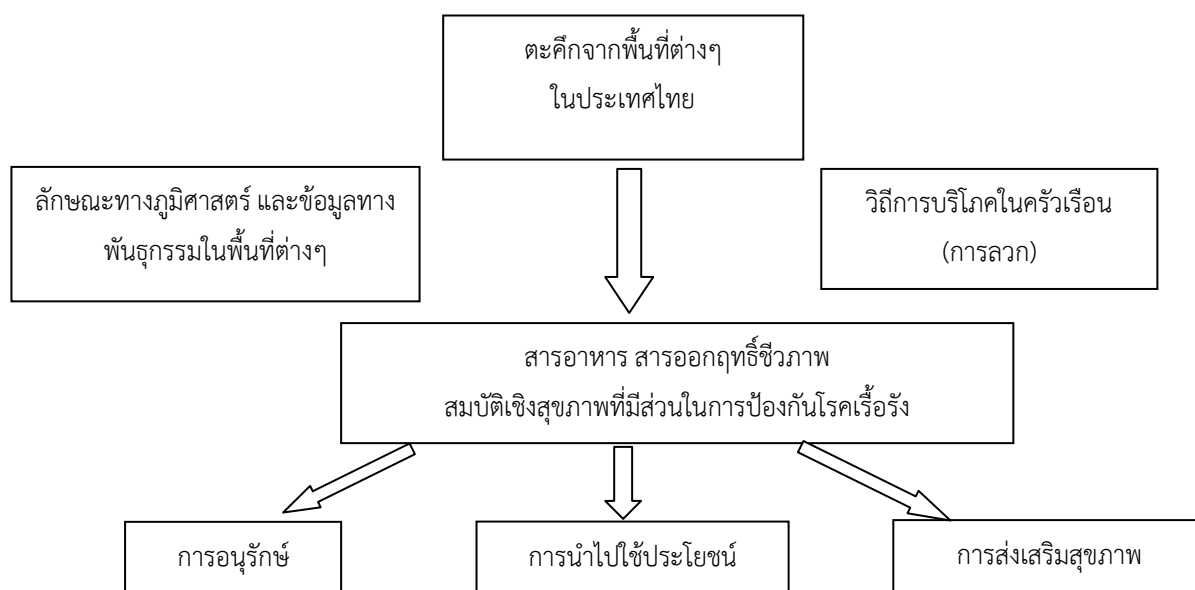
1.2.4 ศึกษาประโยชน์เชิงสุขภาพเบื้องต้นของยอดและใบอ่อนตะคึกในด้านต่างๆ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ด้านการอักเสบ

1.2.5 ศึกษาผลของการลวกต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของยอดและใบอ่อนตะคึก

1.3 ขอบเขตการวิจัย

เป็นการศึกษาความหลากหลายของพื้นที่ และพันธุกรรมของตะคึก ที่พบได้จากพื้นที่ต่างๆของประเทศไทยและมีการนำมาบริโภคเป็นอาหารตามวิถีชีวิตของชุมชน ที่อาจมีผลต่อองค์ประกอบสำคัญของอาหาร และสมบัติเชิงสุขภาพเบื้องต้นของยอดและใบอ่อนตะคึก โดยในระยะแรกมีแผนการเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดไทรบุรีกรุงเทพฯ ที่สำรวจพบว่า มีต้นตะคึกและสามารถเดินทางไปกลับได้สะดวกภายใน 1 วัน โดยเก็บตัวอย่าง จำนวน 50-100 ต้น สำหรับการศึกษาพันธุกรรม ส่วนการศึกษาด้านโภชนาการและสุขภาพ เก็บตัวอย่างจากต้นที่ให้ผลผลิตมากพอ ทั้งหมด 6-8 ต้น (ตัวอย่าง) นอกจากนั้นยังมีการสุ่มตัวอย่างส่วนหนึ่ง 3-4 ต้น เพื่อนำมาศึกษาเพิ่มเติมผลของการลวก/ต้ม (ดังเช่นที่ใช้ในการปรุงแกงต่างๆ) ซึ่งเป็นรูปแบบของการบริโภคที่นิยมต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบ และประโยชน์เชิงสุขภาพของยอดและใบอ่อนตะคึก

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวคิดของการวิจัย



1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1.5.1 ฐานข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมของตะคิกที่พบในพื้นที่ต่างๆของประเทศไทย

1.5.2 ฐานข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของตะคิกในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย

1.5.3 ทราบแหล่งและพันธุกรรมของตะคิกที่ให้สารและสมบัติที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพในระดับที่สูง เพื่ออนุรักษ์ ส่งเสริมการบริโภคและให้มีการเพาะปลูกเพื่อเป็นพืชเศรษฐกิจในอนาคต

1.5.4 ข้อมูลผลของการลวกต่อการเปลี่ยนแปลงของสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพ ซึ่งเป็นแบบจำลองเบื้องต้น ที่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของสารและสมบัติต่างๆ ที่เกิดขึ้นจากการประกอบอาหารประเภทการลวก/ต้ม

2. การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ตะคิก

ตะคิกหรือ พฤษภเป็นพืชประเภทถั่ว ในวงศ์ Leguminosae-Mimosoideae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Albizia lebbek* (L.) Benth. ชื่อสามัญคือ Indian walnut หรือ Siris มีถิ่นกำเนิดในแถบทวีปเอเชียเขตร้อน และแอฟริกา ตะคิกเป็นต้นไม้ประจำจังหวัดมหาสารคาม เป็นไม้ยืนต้น มีขนาดกลางถึงใหญ่ สูง 15-25 เมตร แผ่กิ่งก้านเป็นทรงพุ่มกว้างด้านบนพุ่มค่อนข้างแบน ตะคิกเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ใบเป็นใบประกอบรูปขนนก สองชั้นเรียงสลับกัน มีใบย่อยตรงข้าม ก้านช่อใบยาวประมาณ 20 เซนติเมตร มีขนละเอียดปกคลุม ช่อใบแขนงยาวประมาณ 5-10 เซนติเมตร ใบย่อยเป็นรูปไข่กลับปลายใบกลม กว้าง 1-1.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 2-4 เซนติเมตร ใบร่วงในช่วงเดือนธันวาคมถึงต้นเดือนมกราคม และแตกยอดอ่อนราวปลายเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ออกตามง่ามใกล้ปลายกิ่ง เป็นช่อกลมคล้ายดอกจามจุรี แต่มีสีขาวอมเขียว และเปลี่ยนเป็นสีนวล มีกลิ่นหอม มักออกดอกในเดือนมีนาคมถึงเมษายน ผลเป็นฝักแบนโต คล้ายฝักกระถิน กว้างประมาณ 3-5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10-30 เซนติเมตร ฝักอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ภายในมีเมล็ดกลมรี 4-12 เมล็ดต่อฝัก ออกผลช่วงเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน

ตะคึกเป็นไม้ที่โตเร็ว และทนทาน ขึ้นได้ดีในดินแทบทุกชนิด ที่ชอบแดดจัดโดยมาก มักพบตะคึกที่ขึ้นเองตามธรรมชาติอยู่ทุกภาคของประเทศไทย จึงมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปมากมาย ดังแสดงในรูปที่ 2-1 (เดชา ศิริภัทร, 2542; สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ตะคึกเป็นพืชที่มีศักยภาพในหลากหลายด้าน ดังนี้ การปลูกตะคึกในที่เสื่อมโทรมและแห้งแล้งสามารถปรับปรุงสภาพดินให้ดีขึ้นได้ เนื่องจากตะคึกเป็นพืชประเภทถั่ว จึงทำงานร่วมกับเชื้อ *Rhizobium* หรือ *Bradyrhizobium* ในการตรึงไนโตรเจนจากในอากาศมาเป็นปุ๋ยได้ (เดชา ศิริภัทร, 2542; Masutha, Muofhe, Dakora, 1997) เนื้อไม้ตะคึกเหนียว แข็งแรง ทนทานปานกลาง เลื่อยไสกบได้ง่าย มีสีน้ำตาลอ่อนถึงแก่ เป็นมัน เหมาะกับการทำสิ่งปลูกสร้าง และเครื่องมือทางการเกษตร (เดชา ศิริภัทร, 2542) เปลือกลำต้นให้น้ำฝาดใช้พอกหนัง นอกจากนี้หลายส่วนของตะคึกยังมีสรรพคุณทางยา ประเทศอินเดียมีการใช้ใบ เปลือกลำต้น และเมล็ดเป็นยา มาตั้งแต่สมัยโบราณ (Upadhyay et al., 2010; Parveen et al., 2007) ตำรายาไทย มีการใช้เมล็ด และเปลือกลำต้นเป็นยาสมาน เช่น รักษาแผลในปาก ลำคอ เหนืออกหรือฟันผุ แก้ท้องร่วง ห้ามเลือดตกใน เมล็ด รักษากลากเกลื้อน โรคเรื้อน ทำยารักษาเยื่อตาอักเสบ ใบใช้ดับพิษร้อน (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) อีกทั้งยังมีงานวิจัยศึกษาฤทธิ์ต้านเนื้องอก รา ยีสต์ และแบคทีเรียจากฮีโมไลซินที่สกัดจากเมล็ดตะคึก (Lam and Ng 2011) การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบจากสารสกัดจากเปลือกลำต้นตะคึกในหนูที่ถูกชักนำให้เกิดการอักเสบทั้งแบบเฉียบพลัน และแบบเรื้อรัง (Prakash Buba et al., 2009) สารสกัดการเปลือกลำต้นตะคึกยังช่วยลดอาการจากโรคจมูกอักเสบจากการแพ้ (allergic rhinitis) โดยไปลดการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการแพ้ (Nurul et al., 2011) ประโยชน์ของตะคึกในอีกด้านหนึ่งคือ เป็นอาหาร ตะคึกเป็นผักพื้นบ้านที่อยู่คู่กับคนไทยมาช้านาน ยอดและใบอ่อน และช่อดอกอ่อนมีรสมัน นำมาบริโภคได้ โดยลวก/ต้มจิ้ม น้ำพริก ผัดไข่ ชุบไข่ทอด หรือนำมาแกงรวมกับผักชนิดต่างๆ เช่น แกงเลียง แกงส้ม แกงป่า เป็นต้น

จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ต่อ 100 กรัมตัวอย่างสด) ของยอดและใบอ่อนตะคึกสดเปรียบเทียบกับยอดและใบอ่อนผักหวานป่า (สมศรี และคณะ, 2552-2554) ซึ่งจัดว่าเป็นผักพื้นบ้านที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างมาก รวมถึงผักพื้นบ้านอื่นๆที่รู้จักและนำมาบริโภคกันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน ได้แก่ ตำลึง ยอดผักแว่น ผักหวานบ้าน และผักกูด ดังแสดงในตารางที่ 2-1 พบว่ายอดและใบอ่อนตะคึกมีโปรตีน และวิตามินซี คาโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าผักหวานป่าและผักอื่นๆ สำหรับใยอาหาร และโพลีฟีนอลมีปริมาณใกล้เคียงกับผักหวานป่า ในขณะที่การศึกษาใบตะคึกในประเทศอียิปต์ พบว่าใบตะคึกมีสารต่างๆ น้อยกว่ายอดและใบอ่อนตะคึกในประเทศไทย โดยใบตะคึกมีโปรตีนร้อยละ 15 วิตามินซี 37 มิลลิกรัม แคลเซียม 169 มิลลิกรัม เบต้าคาโรทีน 210 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง นอกจากนี้ยังพบแทนนินร้อยละ 4 (El-Hawary et al., 2011)



รูปที่ 2-1 แสดงชื่อของตะคิกตามภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย

ตารางที่ 2-1 คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของผักพื้นบ้านต่างๆ ต่อ 100 กรัมผักสด

ผัก	โปรตีน (กรัม)	ใยอาหาร (กรัม)	วิตามินซี (มิลลิกรัม)	สารออกฤทธิ์ชีวภาพ			ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ไมโครโมลTE โดยORAC)
				คาโรทีนอยด์ (ไมโครกรัม)	ฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัม)	สารประกอบฟีนอลรวม (มิลลิกรัม GAE)	
ตำลึง	3.6	2.1	19	5,980	NA	46	1,306
ยอดผักแว่น	NA	2.4	6.5	2,378	NA	44	1,505
ผักหวานบ้าน	6.1	3.4	78	3,275	NA	105	2,215
ผักหวานป่า	6.5	6.5	99	5,426	176	296	8,000
ผักกูด	2.5	3.8	3	4,213	9	73	1,700
เฉลี่ย(พฤษภาคม)	7.3	5.6	161	7,847	265	260	10,200

ที่มา: 1) สมศรี เจริญเกียรติกุล และคณะ: 2552-2554 รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การสำรวจและจัดทำฐานข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และประโยชน์เชิงสุขภาพ ของแหล่งอาหารในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี จังหวัดกาญจนบุรี. มหาวิทยาลัยมหิดล. 2) รัชณี คงคาอุยชัย และ ธิญ เจริญศิริ โภชนาการกับผัก กรุงเทพฯ: สารคดี, 2554. 3) Thai food composition table, Institute of Nutrition, Mahidol University, 1999.

GAE = gallic acid equivalent

TE = trolox equivalent

ORAC = oxygen radical absorbance capacity

NA = Not available ไม่มีข้อมูล

2.2 ผลของแหล่งที่มาของพืชต่อคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระ

ความแตกต่างของคุณค่าทางโภชนาการ และสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชอันเนื่องมาจากแหล่งที่มานั้น มีสาเหตุมาจากลักษณะภูมิประเทศ และลักษณะภูมิอากาศที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่อาจจะมีแตกต่างกันทั้งในด้านของชนิดและปริมาณ

การศึกษา *Scutellaria baicalensis* ที่ปลูกใน 4 พื้นที่ต่างกันของรัสเซียสิบปี ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าสารอาหารบางชนิดในรากของ *Scutellaria baicalensis* มีปริมาณแตกต่างกัน ได้แก่ แร่ธาตุไนโตรเจน โพแทสเซียม เหล็ก แมงกานีส และทองแดง นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างของชนิดและปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งในยอด และราก *Scutellaria baicalensis* ด้วยเช่นกัน ซึ่งมีสาเหตุมาจากชนิด และค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน และอุณหภูมิ (Zheljazkov et al., 2007) การศึกษาของ Nilolopoulou et al. (2006) แสดงให้เห็นว่าพันธุ์พืช แหล่งที่ปลูก และปีที่ปลูก และปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่าง 3 ปัจจัย มีผลต่อสารอาหารแทนนิน และกรดไฟติกของ chickpea โดยพบว่าพันธุ์พืชมีผลต่อทุกตัวแปร แหล่งที่ปลูกมีผลต่อปริมาณแป้งและน้ำตาล แทนนิน และกรดไฟติก ในขณะที่ปีที่ปลูก ซึ่งมีปริมาณน้ำฝนที่แตกต่างกันส่งผลต่อปริมาณไขมันและน้ำตาล การศึกษาสเตอรอลในพืชของข้าวสาลีในประเทศประเทศแถบทวีปยุโรป พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อทั้งชนิดและปริมาณของสเตอรอลในพืช ได้แก่ พันธุ์ (26 พันธุ์) และพื้นที่ปลูก (4 พื้นที่) ในขณะที่ปีของการปลูกข้าวสาลีในพื้นที่เดิมมีผลต่อตัวแปรทั้งสองน้อยกว่า 2 ปัจจัยแรก (Nurmi et al., 2010)

2.3 ผลของการลวก/การต้มต่อคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การลวก และการต้มเป็นการทำให้อาหารสุกโดยผ่านการนำความร้อน โดยการลวกมักใช้เวลาสั้นกว่าการต้ม การศึกษาผลของการกระบวนการต่างๆ ที่ใช้กับอาหารต่อสารอาหาร โดยกระทรวงเกษตรของประเทศสหรัฐอเมริกา สรุปได้ว่าสารอาหารหลายชนิดมีการสูญเสียหลังหุงต้มด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 2-2) เช่น บั๊ตตาโรตีนมีการสูญเสียสูงสุดร้อยละ 25 หลังจากการต้ม และสูญเสียเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 35 เมื่อมีการเททิ้งน้ำ ในขณะที่วิตามินซีมีการสูญเสียมากถึงร้อยละ 50 และ 70 เมื่อผ่านการต้มและต้มแบบทิ้งน้ำตาม ลำดับ นอกจากนั้นแร่ธาตุต่างๆ มีการสูญเสียร้อยละ 20-70 หลังจากผ่านการต้ม

ตารางที่ 2-2 ค่าร้อยละของการสูญเสียของสารอาหารเมื่อผ่านการหุงต้มในรูปแบบต่างๆ

Typical Maximum Nutrient Losses (as compared to raw food)					
Vitamins	Freeze	Dry	Cook	Cook+Drain	Reheat
Vitamin A	5%	50%	25%	35%	10%
Retinol Activity Equivalent	5%	50%	25%	35%	10%
Alpha Carotene	5%	50%	25%	35%	10%
Beta Carotene	5%	50%	25%	35%	10%
Beta Cryptoxanthin	5%	50%	25%	35%	10%
Lycopene	5%	50%	25%	35%	10%
Lutein+Zeaxanthin	5%	50%	25%	35%	10%
Vitamin C	30%	80%	50%	75%	50%
Thiamin	5%	30%	55%	70%	40%
Riboflavin	0%	10%	25%	45%	5%
Niacin	0%	10%	40%	55%	5%
Vitamin B6	0%	10%	50%	65%	45%
Folate	5%	50%	70%	75%	30%
Food Folate	5%	50%	70%	75%	30%
Folic Acid	5%	50%	70%	75%	30%
Vitamin B12	0%	0%	45%	50%	45%
Minerals	Freeze	Dry	Cook	Cook+Drain	Reheat
Calcium	5%	0%	20%	25%	0%
Iron	0%	0%	35%	40%	0%
Magnesium	0%	0%	25%	40%	0%
Phosphorus	0%	0%	25%	35%	0%
Potassium	10%	0%	30%	70%	0%
Sodium	0%	0%	25%	55%	0%
Zinc	0%	0%	25%	25%	0%
Copper	10%	0%	40%	45%	0%

ที่มา: www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/retn6/retn06.pdf.

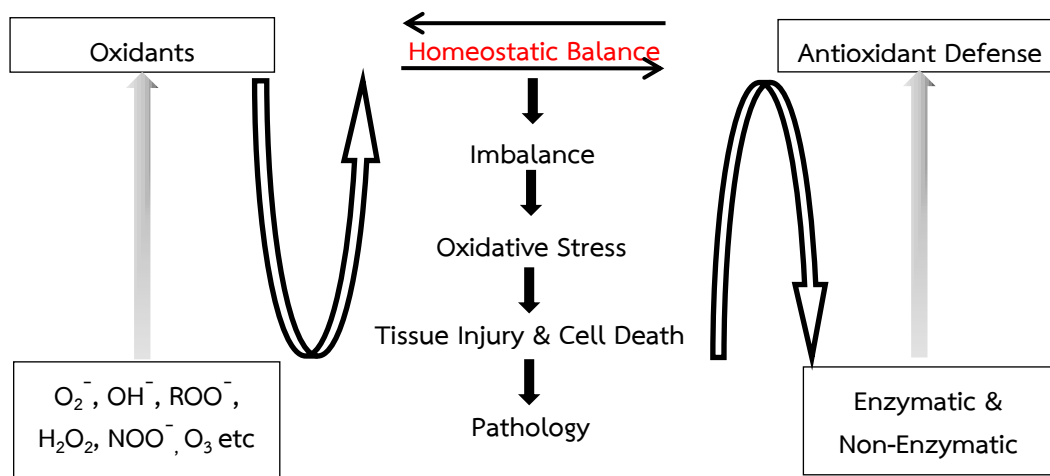
2.4 สารอาหาร สารออกฤทธิ์ชีวภาพสมบัติเชิงสุขภาพที่มีส่วนในการป้องกันโรคเรื้อรัง

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือ โมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุสั้น จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โมเลกุลหรือไอออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ กลุ่มของอนุมูลอิสระที่สำคัญคือกลุ่มของอนุมูลอิสระประเภทออกซิเจน (ROS) ซึ่งได้แก่ อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion radical; O_2^-) อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical; OH^-) อนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล (peroxyl radical; ROO^-) และ กลุ่มอนุมูลอิสระประเภทไม่มีออกซิเจน (non-reactive oxygen species) เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2) เพอร์ออกซิไนเทรต (peroxynitrite; NOO^-) โอโซน (ozone; O_3) เป็นต้น (Yun et al., 2002)

อนุมูลอิสระมีแหล่งที่มาทั้งจากภายนอกและภายในร่างกายโดยแหล่งจากภายนอกร่างกาย ได้แก่ การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส ภาวะที่มีการอักเสบเรื้อรัง การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุ (autoimmune

disease) เช่น ข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคเก๊าท์รังสี สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง การออกกำลังกายอย่างหักโหม เป็นต้น ส่วนแหล่งกำเนิดภายในร่างกายได้แก่ เมตาบอลิซึมภายในร่างกายเอง ซึ่งในกระบวนการเผาผลาญอาหารของร่างกายนั้น โดยเฉพาะการเผาผลาญโดยใช้ออกซิเจนภายในร่างกาย ซึ่งร้อยละ 99 ของออกซิเจนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำ ในขณะที่ร้อยละ 1 จะอยู่ในรูปของอนุมูลอิสระ นอกจากกระบวนการเผาผลาญแล้ว ขบวนการย่อยสลายแบคทีเรียของเม็ดเลือดขาว การออกซิเดชันของไขมันภายในร่างกาย ก็สามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้เช่นเดียวกันปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกัน การโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง ก็คือระบบระบบต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant system) ซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ก็สามารถจะชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตั้งต้น (substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยสารตั้งต้น เหล่านี้รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกายเช่นโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินไปที่ระบบต้านอนุมูลอิสระ จะจัดการได้ จึงทำให้เกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเกิดการสลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ และการทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง ความผิดปกติของภูมิคุ้มกัน (immunology-mediated inflammatory reaction) การเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ (atherosclerosis), เบาหวาน, ต้อกระจก (cataract), aged related macular degeneration, Alzheimer's disease เป็นต้น (Brieger et al., 2012) ดังแสดงในรูปที่ 2-2

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหาร (Papap, 1999) ได้แก่ tocopherols หรือวิตามิน อี, carotenoids หรือวิตามิน เอ, ascorbic acid หรือวิตามิน ซี, steroids, ubiquinones, thiols, inosine, taurine, pyruvate, gallic acid, flavonoids, trolox, BHT, BHA สารแอนติออกซิแดนท์เหล่านี้จะทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับอนุมูลอิสระทำให้ลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้



รูปที่ 2-2 ระบบสมดุลของการเกิด reactive oxygen species (ROS) และ ระบบการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ ภายใต้ภาวะการทำงานตามปกติของร่างกายที่มีการกำจัด ROS อย่างต่อเนื่อง เมื่อใดก็ตามที่ระบบการต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถกำจัด ROS ให้อยู่ในระดับที่ต่ำกว่าระดับที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายได้จึงทำให้เกิดภาวะ Oxidative Stress ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากระดับ ROS ที่มากเกินไป หรือการทำงานของระบบการต้านอนุมูลอิสระลดลง หรืออาจเกิดได้จาก 2 สาเหตุร่วมกัน (Tiwari, 2001)

ภาวะที่มีการอักเสบเรื้อรังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่นำไปสู่ภาวะ oxidative stress ซึ่งนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ ตามที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น อย่างไรก็ตาม “สารออกฤทธิ์ชีวภาพ” (bioactive compounds) ที่พบใน ผัก ผลไม้ เครื่องเทศและสมุนไพรของไทย มีสรรพคุณที่มีผลดีต่อสุขภาพมากมาย เช่น มีฤทธิ์ต่อต้าน หรือลดภาวะการอักเสบ (anti-inflammation) ด้านการเกิดมะเร็ง (anti-cancer) ด้านการเกิดอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด (anti-atherogenic activity) เป็นต้น

จากการศึกษาจากหลายงานวิจัย พบว่าผัก และผลไม้หลายชนิดจะประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และมีศักยภาพเป็นสารป้องกันการเกิดมะเร็งได้หลายชนิด (Issa et al., 2006) เช่นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นสารที่สามารถพบได้มากในธรรมชาติ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยพืชแต่ละชนิดจะมีชนิดของสารที่แตกต่างกันไป จึงมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันออกไป ดังแสดงในตารางที่ 2-3 (Kris-Etherton et al., 2002) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาส่วนต่างๆ ของพืชที่มีคุณสมบัติทางยา ได้แก่ ราก ใบ กิ่ง เปลือกลำต้น ดอก และเมล็ด โดยส่วนของพืชที่มีคุณสมบัติทางยาเหล่านี้ส่วนใหญ่จะมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ flavonoids, phenolic acids, stilbenes, tannins, coumarins, lignans และ lignins (Cai et al., 2004; Kahkonen et al., 1999) วิตามิน A, C, E และ องค์ประกอบอื่น ๆ ที่ดีต่อสุขภาพ และมีคุณสมบัติในการบรรเทาและรักษาอาการจากโรคต่าง ๆ ได้ (Scalbert et al., 2005)

ตารางที่ 2-3 แสดงสารในกลุ่ม polyphenols ในอาหาร ที่มีความสามารถในการกำจัด ROS

Dietary source	Bioactive components	Putative mechanisms of action
Red grapes, red wine	Resveratrol	Modulation of cell signaling pathways, inhibition of angiogenesis, induction of apoptosis and type II programmed cell death
Tumeric	Curcumin	Induction of detoxifying enzymes, inhibition of COX-1, COX-2, iNOS, 5-LOX and PLA ₂ enzymes, induction of apoptosis and down-regulation of β -catenin
Green tea	Catechins (EGCG)	Modulation of cell signaling pathways, inhibition of COX-2 and iNOS enzymes, anti-angiogenic, induction of apoptosis
Chili peppers	Capsaicin	Modulation of cell signaling pathways; inhibition of phase I enzymes
Ginger	[6]-Gingerol	Modulation of cell signaling pathways
Onions	Quercetin	Modulation of cell signaling pathways, inhibition of COX-2, 5-LOX, 12-LOX and PLA ₂ enzymes
Honey	Caffeic acid phenethyl ester	Induction of phase II enzymes
Broccoli	Isothiocyanates	Induction of phase II enzymes, modulation of cell signaling pathways, induction of apoptosis

EGCC: epigallocatechin gallate, COX: cyclooxygenase, LOX: lipoxygenase, iNOS: inducible nitric oxide synthase, PLA₂: phospholipase A₂

การศึกษาศารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติทางยาในส่วนต่างๆ ของ “ตะคึก” (*Albizia lebbbeck* (L.) Benth.) ซึ่งเป็นพืชพื้นบ้านที่พบได้ในประเทศไทย อินเดีย บังคลาเทศ และอีกหลายประเทศในเขตร้อน และเขตร้อนชื้นของ เอเชีย และแอฟริกา (Kirtikar and Basa, 1980) พบว่ามีสารฟลาโวนอยด์ในเปลือกของลำต้นจากประเทศอินเดียมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และลดภาวะโรคเบาหวาน (anti-diabetic) (Ahmed et al., 2014) มีความสามารถต้านการอักเสบทั้งแบบเฉียบพลัน และแบบเรื้อรัง ในหนู Wistar (Babu et al., 2009) Nurul et al. (2011) พบว่าเปลือกลำต้นตะคึกมีคุณสมบัติในการลดอาการของ nasal symptoms โดยการยับยั้ง histamine ในหนู Brown Norway เพศผู้ที่ถูกกระตุ้นด้วย TDI โดยสามารถลดการหลั่งของ H1R, HCD gene transcription และลดการแสดงออกของ Th2-cytokine signaling นอกจากนี้ ยังพบว่าสารสกัดจากเปลือกลำต้นสามารถลด rheumatoid factor และยังลด arthritis index ในหนู Wistar เพศเมียที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยร้อยละ 1 CMC จึงกล่าวได้ว่าเปลือกลำต้นตะคึกมีคุณสมบัติในการลดภาวะข้ออักเสบและมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ได้เป็นอย่างดี (Pathak et al., 2010) ส่วนการศึกษาคุนสมบัติทางยาในเมล็ดพบว่าช่วยบรรเทาอาการปวด ลดไข้

ด้านการอักเสบใน Wistar Albino rat และ mice (Verma et al., 2011) มีการศึกษาใน erythrocytes ของ กระจ่ายพบว่าเมล็ดของตะคึกมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรา ต้านยีสต์ และต้านเชื้อแบคทีเรียในเลือดกระจ่ายได้ (Lam et al., 2011) ดอกของตะคึกมีคุณสมบัติทางชีววิทยาในด้านการลดไข้ แก้ปวด เกี่ยวข้องกับเอสโตรเจน และด้านการอักเสบ ใน Swiss Albino mice เพศผู้ (Farag et al., 2013) ส่วนใบของตะคึกมีการศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิด (Bobby et al., 2012)

3.ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สืบค้นข้อมูลจากหน่วยงาน และสื่อต่างๆ เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นของแหล่งตะคึกในแต่ละพื้นที่ สำหรับจัดทำแผนที่พื้นที่ของแหล่งของตะคึก โดยในปีแรกจะคัดเลือกจำนวน 3-4 พื้นที่ ที่สามารถเดินทางไปกลับได้ภายใน 1-2 วัน เพื่อความสะดวกในการเก็บและขนส่งตัวอย่างตะคึก

3.2 ติดต่อ ประสานงาน กับตัวแทนในพื้นที่ เพื่อให้ทราบวัตถุประสงค์ในการวิจัย และนัดหมายการออกสำรวจ เก็บตัวอย่าง บันทึกภาพ และพิกัดทางภูมิศาสตร์ของต้นตะคึกในแต่ละพื้นที่

3.3 การเก็บตัวอย่างส่วนที่กินได้ของตะคึก ได้แก่ ยอด ใบอ่อน และดอกจากพื้นที่ต่างๆ 3 พื้นที่ แยกออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกสำหรับการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยเก็บไม่น้อยกว่า 10 ต้น ต่อพื้นที่ ต้นละ 4-5 ยอด ส่วนที่ 2 สำหรับการศึกษาทางโภชนาการ โดยเก็บจำนวน 3 ต้น ต่อพื้นที่ ต้นละไม่น้อยกว่า 2 กิโลกรัม

3.4 ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลรหัสแท่งสารพันธุกรรม (DNA barcode) สกัดดีเอ็นเอจากใบอ่อนตะคึกจำนวนทั้งสิ้น 44 ตัวอย่างจาก 3 จังหวัดคือ จังหวัดสุพรรณบุรี (12 ตัวอย่าง) จังหวัดนครราชสีมา (16 ตัวอย่าง) และจังหวัดกาญจนบุรี (16 ตัวอย่าง) เพื่อนำมาใช้ในการบวกรหัสบาร์โค้ด โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *matK*, *rbcl* และ *ITS2* จากนั้นนำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้มาวิเคราะห์หาลำดับเบสเพื่อเปรียบเทียบ และวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของพืชชนิดนี้ต่อไป

รายละเอียดของไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *matK* (Yu et al., 2011); *rbcl* (Kress et al., 2009); และ *ITS2* (Gu et al., 2013)

matK matK472F (forward): 5'-CCCRTYCATCTGGAAATCTTGGTTC-3'
matK1248R (reverse): 5'-GCTRTRATAATGAGAAAGATTTCTGC-3'
rbcl rbcl (forward): 5'-ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC-3'
rbcl (reverse): 5'-GTAAATCAAGTCCACCRGC-3'
ITS2 ITSS2F (forward): 5'-ATGCGATACTTGGTGTGAAT-3'
ITSS3R (reverse): 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

โดยการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของพืชชนิดนี้ จะดำเนินการโดยใช้โปรแกรม TFGA และโปรแกรม MEGA version 6 เพื่อให้ทราบถึงความแตกต่างและความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชชนิดนี้ทั้งในกลุ่มตัวอย่างที่ได้จากแหล่งเดียวกันและจากต่างแหล่งพื้นที่

3.5 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนที่กินได้ของตะคึก นำตัวอย่างตะคึกจาก 3 พื้นที่ มาเตรียมโดยล้างให้สะอาดด้วยน้ำประปา และน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ผึ่งให้แห้ง เลือกเฉพาะส่วนที่กินได้ จากนั้น แบ่งตัวอย่างเป็น 2 ส่วน คือ ตัวอย่างเปียก เตรียมโดยปั่นตัวอย่างให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องปั่น/บดอาหาร เก็บใส่ขวด และแช่แข็งที่อุณหภูมิ 20°ซ ไว้สำหรับการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ และวิตามินซี อีกส่วนหนึ่งนำไปทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งเพื่อการเก็บรักษาตัวอย่างไว้โดยไม่เสียคุณภาพ และเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.6 การศึกษาการผลของการลวกต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพของส่วนที่กินได้ของตะคึก สุ่มเลือกตะคึกสดจาก 2 ต้น ต่อ 1 พื้นที่ ล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้ง เลือกส่วนกินได้ตัดให้มีขนาดพอคำ นำมาลวกแบบทั้งน้ำโดยตะคึกสดต่อน้ำในอัตราส่วน 1:2 เมื่อน้ำเดือด จึงใส่ตะคึก และจับเวลา 2 นาที จากนั้น แบ่งตัวอย่างตะคึก เป็น 2 ส่วน ตัวอย่างเปียกเพื่อวิเคราะห์วิตามินซี และตัวอย่างผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง เพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และทดสอบการออกฤทธิ์ต่อไป

3.7 การศึกษาสมบัติเชิงสุขภาพ (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านการอักเสบ) ของตะคึกลวกโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์

3.8 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการโดยใช้วิธีมาตรฐานของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (Horwitz, 2005) ดังนี้

3.8.1 ความชื้น (moisture) วิเคราะห์ปริมาณความชื้นด้วยวิธีอบตัวอย่างในตู้อบ (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100°C โดยใช้ทรายที่ผ่านการแช่กรดและล้างมาแล้วเป็นตัวช่วยในการกระจายความร้อน (AOAC method 990.19 และ 925.23, 2005) นำไปอบให้แห้ง แล้วทำการชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณความชื้นที่หายไปของตัวอย่าง

3.8.2 โปรตีน (crude protein) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl method (AOAC method 991.20 และ 981.10, 2005) ด้วยการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างหลังจากผ่านการย่อยด้วยกรดเข้มข้นเปลี่ยนรูปฟอร์มของไนโตรเจนให้อยู่ในรูปแก๊สแอมโมเนีย จับด้วยสารละลายด้วยกรดบอริก ไตเตรตด้วยกรดมาตรฐาน และคำนวณเป็นปริมาณไนโตรเจน หลังจากนั้นคูณกับค่าคงที่ที่เหมาะสม (converting factor) เช่น 6.25 สำหรับตัวอย่างอาหารทั่วไป 5.95 สำหรับข้าว เป็นต้น เพื่อเปลี่ยนเป็นปริมาณโปรตีน

3.8.3 ไขมัน (crude fat) วิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธี acid hydrolysis และ solvent extraction (AOAC method 922.32 และ 945.16, 2005) โดยการสกัดตัวอย่างด้วยกรด เทตัวอย่างที่ย่อยแล้วลงบนกระดาษกรอง แล้วทำการล้างกรดออกให้หมดด้วยน้ำ นำกระดาษกรองไปอบให้แห้ง แล้วนำสกัดด้วยตัวทำละลาย Petroleum ether (จุดเดือด 40-60°ซ) ด้วยเครื่อง Soxtec System นำน้ำหนักไขมันที่ได้มาคำนวณเป็นปริมาณไขมัน

3.8.4 เถ้า (ash) วิเคราะห์ปริมาณเถ้าด้วยวิธี dry ashing (AOAC method 945.46 และ 930.30, 2005) โดยการทำตัวอย่างให้แห้งในอ่างน้ำร้อน/ตู้อบ เผาตัวอย่างบนเตาความร้อนจนหมดควัน นำไปเผาในเตาเผา (muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 550°ซ แล้วชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณปริมาณเถ้าต่อไป

3.8.5 โยอาหารทั้งหมด (total dietary fibre) วิเคราะห์ปริมาณโยอาหารทั้งหมดด้วยวิธี enzymatic-gravimetric (AOAC method 985.29, 2005) ทำการย่อยตัวอย่างด้วยเอนไซม์ α -amylase,

amylglucosidase และ protease ตามลำดับ หลังจากนั้นตกตะกอนใยอาหารด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ กรองตะกอนที่ได้ นำไปชั่งน้ำหนัก ส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตะกอนที่ได้ อีกส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์ปริมาณเถ้าในตะกอน เพื่อนำมาคำนวณปริมาณใยอาหารต่อไป

3.8.6 คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) และพลังงาน (energy) ใช้วิธีการคำนวณ โดยคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากสูตร (คาร์โบไฮเดรต=100-ความชื้น-โปรตีน-ไขมัน-เถ้า) ส่วนปริมาณพลังงานเป็นผลรวมที่คำนวณจาก Atwater factor คือปริมาณโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต คูณด้วย 4 และปริมาณไขมันคูณด้วย 9

3.8.7 แร่ธาตุ (minerals)

- วิเคราะห์แคลเซียม โซเดียม และโพแทสเซียม ด้วยวิธี Atomic absorption spectrometry หรือ AAS (AOAC method 985.35, 2005) ทำโดยการนำเถ้าที่วิเคราะห์ได้ละลายด้วยกรดไนตริก และปรับปริมาตรที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการวิเคราะห์แคลเซียม โซเดียม และโพแทสเซียม สำหรับการวิเคราะห์แคลเซียมต้องมีการเติมสารละลาย lanthanum chloride เพื่อช่วยในแตกตัวและขจัดสิ่งรบกวน นำสารละลายตัวอย่างที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ใช้คือ Ca 422.7 nm ด้วยเครื่อง AAS เปรียบเทียบกับสารละลายแร่ธาตุมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วคำนวณเป็นปริมาณแร่ธาตุต่อไป สำหรับการวิเคราะห์โพแทสเซียม วัดค่าการคายแสงที่ความยาวคลื่น 766.5 nm

- วิเคราะห์แมกนีเซียม เหล็ก ด้วยวิธี inductively coupled plasma หรือ ICP (AOAC method 984.27, 2005) โดยการนำตัวอย่างมาย่อยด้วยกรด (acid digestion หรือ microwave digestion) ปรับปริมาตรที่เหมาะสม นำไปอ่านค่าการคายแสงด้วยเครื่อง ICP เปรียบเทียบกับสารละลายแร่ธาตุมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วคำนวณเป็นปริมาณแร่ธาตุต่อไป โดยความยาวคลื่นของแต่ละธาตุทำการวัดมากกว่า 1 ความยาวคลื่นเพื่อความเชื่อมั่นของการวิเคราะห์ คือแมกนีเซียมวัดที่ความยาวคลื่น 285.213, 279.073, 279.077 nm; เหล็กวัดที่ความยาวคลื่น 239.562, 238.200, 259.939 nm

3.9 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.9.1 วิตามินซี (vitamin C, ascorbic acid) วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี HPLC โดยใช้ UV/Vis detector (Sanchez-Mata *et al.*, 2000) ทำการสกัดตัวอย่างด้วยสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก กรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรอง ปรับปริมาตรที่ทราบแน่นอน นำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยใช้ column แบบ C18 (Lichrocard Lichrospher 100 RP18, 5 μ m) และตรวจวัดด้วยเครื่อง UV ที่ความยาวคลื่น 248 nm มีกรดและเกลือของกรดฟอสฟอริกเป็น mobile phase ที่อัตราการไหล 0.5 ml/min ทำการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid แล้วคำนวณเป็นปริมาณวิตามินซี

3.9.2 การวิเคราะห์คาโรทีนอยด์ดัดแปลงจากวิธีของ O'Connell *et al.* (2007) สกัดโดยใช้สาร hexane, acetone และ ethanol ในอัตราส่วน 2:1:1 แยกคาโรทีนอยด์แต่ละชนิดด้วยเครื่อง HPLC ที่ต่อกับ photodiode array detector โดยใช้คอลัมน์ Vydac 201TP54-C₁₈ (250×4.6 มม.) และใช้สาร acetonitrile: methanol: dichloromethane (80:11:9) ที่มี 0.1 กรัม ammonium acetate เป็นเฟสเคลื่อนที่ ด้วยความเร็ว 0.7 มล./นาที บ่งชี้ชนิดของคาโรทีนอยด์แต่ละชนิดโดยการเปรียบเทียบ retention time และ spectrum ของตัวอย่างกับสารมาตรฐาน 6 ชนิด ได้แก่ lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, α -carotene และ β -carotene และคำนวณปริมาณคาโรทีนอยด์แต่ละชนิดเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

3.9.3 การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิก ดัดแปลงจากวิธีของ Merken and Beecher (2000) โดยย่อยตัวอย่างด้วยกรด (acid hydrolysis) เพื่อให้ได้ฟลาโวนอยด์ในรูปอิสระ แยกชนิดของฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิก ด้วยเครื่อง HPLC ที่ต่อกับ photodiode array detector ใช้คอลัมน์ Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ (150×4.6 มม.) ใช้น้ำ เมทานอล และอะซิโตนไทรล ที่มีการด trifluoroacetic (TFA) ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักเป็นเฟสเคลื่อนที่ gradient elution บ่งชี้ชนิดของฟลาโวนอยด์ และฟีนอลิกแอซิดโดยการเปรียบเทียบ retention time และ spectrum ของตัวอย่างกับสารมาตรฐานฟลาโวนอยด์ 8 ชนิด ได้แก่ quercetin, kaempferol, isorhamnetin, myricetin, luteolin, apigenin, naringenin และ hesperitin และฟีนอลิกแอซิด 7 ชนิด ได้แก่ chlorogenic acid, caffeic acid, 4-hydroxybenzoic acid, syringic acid, sinapic acid, *p*-coumaric acid และ ferulic acid คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิกแต่ละชนิด เทียบกับกราฟมาตรฐาน ที่ความยาวคลื่น 338 นาโนเมตร

3.9.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu (Lu et al., 2007) โดยสกัดตัวอย่างด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด แล้วนำมาทำปฏิกิริยากับสาร Folin-Ciocalteu และโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เทียบกับสารมาตรฐาน เป็นมิลลิกรัม gallic acid equivalent (GAE) ต่อ 100 กรัมตัวอย่างสด

3.10 ทดสอบคุณสมบัติทางชีวภาพเบื้องต้นใน ห้องปฏิบัติการ (*in vitro* testing) ของสารสกัดตะคึกโดยการทดสอบ

3.10.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สกัดตัวอย่างตะคึกสด และตะคึกลวกด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด ในขณะที่ ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยสามารถนำมาใช้ในการทดสอบได้เลย ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย 2 วิธี 1) oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay (ดัดแปลงจาก Ou et al., 2002) โดยอาศัยการเรืองแสงของ fluorescein ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นที่ความยาวคลื่น (excitation wavelength) 493 นาโนเมตร จะเรืองแสงที่ความยาวคลื่น (emission wavelength) 515 นาโนเมตร ในกรณีที่ไม่ได้เติมสารสกัดซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระ fluorescein ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ 2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) ให้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่เรืองแสง แต่เมื่อเติมสารสกัดเข้าไป สารต้านอนุมูลอิสระจะไปจับกับอนุมูลอิสระ ทำให้ fluorescein เรืองแสงนานขึ้น โดยวัดค่าในรูปของพื้นที่ใต้กราฟ (area under the curve) ด้วยเครื่อง spectrofluorometer 2) 1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) (Katsuke, 2004) เป็นทดสอบการเปลี่ยนสีของ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรประเภทไนโตรเจน (nitrogen radical) วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน trolox มีหน่วยวัดเป็นไมโครโมล TE ต่อกรัมตัวอย่าง

3.10.2 การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์

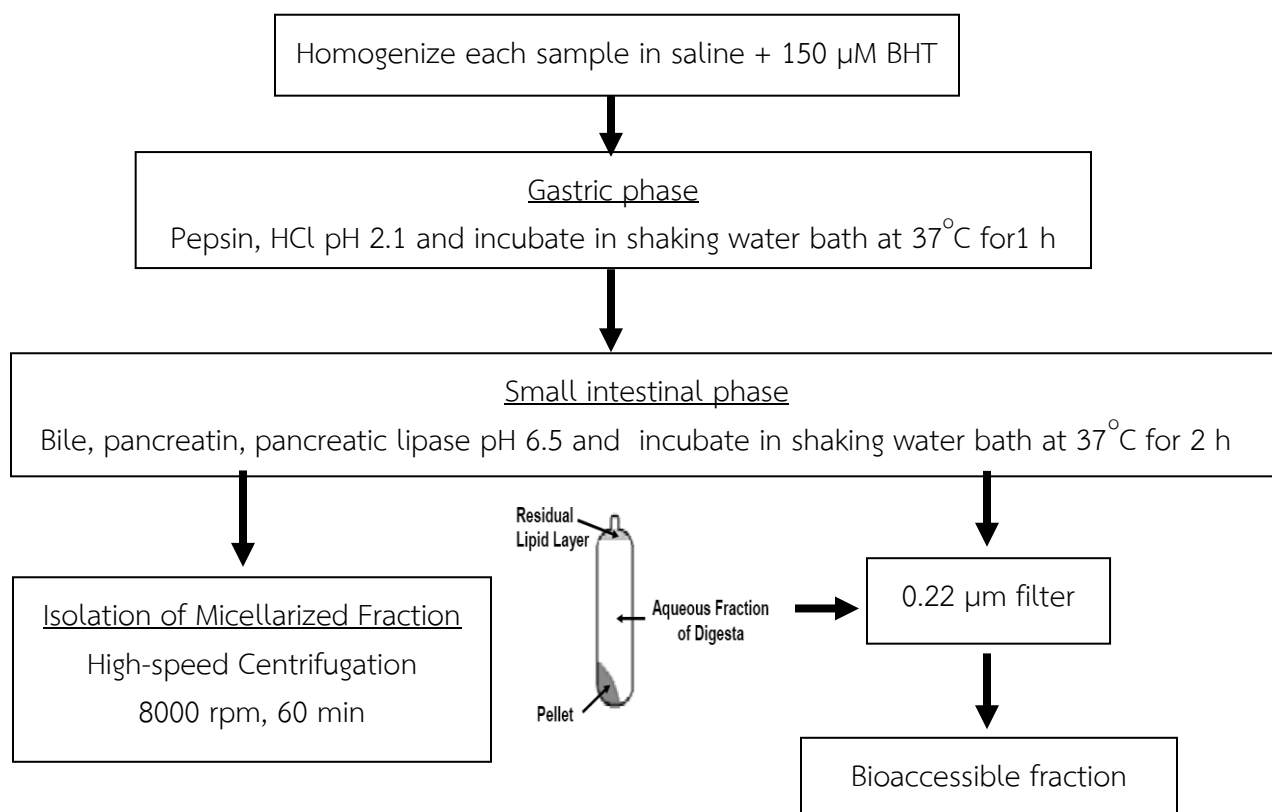
เนื่องจากวิธีการบริโภคไม่นิยมกินสด/ดิบดังนั้นในการศึกษาระดับเซลล์จึงทำการทดสอบเฉพาะตัวอย่างตะคึกลวกเท่านั้น จาก 3 พื้นที่

3.10.2.1 ทำการจำลองการย่อยให้เหมือนกับระบบการย่อยของร่างกายดังรูปที่ 2-3 โดยแบ่งออกเป็น 2 ระยะคือ ระยะของการย่อยจากกระเพาะอาหาร (gastric phase) และระยะของการย่อยจากลำไส้เล็ก (small intestinal phase) โดยทำดัดแปลงจากวิธีของ Ferruzzi et al. (2006) ดังนี้

นำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างในข้อ 3.6 ปริมาณ 0.5 และ 0.3 กรัม (เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ไม่มีพิษต่อเซลล์) ผสมกับน้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil) ในอัตราส่วนร้อยละ 5 น้ำหนัก/น้ำหนักและ เติม basal salt solution (ประกอบด้วย 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 6 mM CaCl_2) 30 มิลลิลิตร ซึ่งเราจะเรียกส่วนผสมนี้ว่า “food” จากนั้นนำ food ไปปั่นละเอียดด้วยเครื่อง Homogenizer เป็นเวลา 2 นาที

Gastric phase นำตัวอย่างที่ได้เตรียมไว้ประมาณ 0.6-0.8 กรัม มาผสมกับ saline (120 mM NaCl) ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 2.1 ด้วย 1M HCl แล้วเติม pepsin (40 mg/ml in 100 mM HCl) เพื่อ hydrolyze ตัวอย่าง จากนั้นนำไปย่อยใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

Small intestinal phase นำตัวอย่างจาก gastric phase หลังจากย่อยครบ 1 ชั่วโมง มาปรับ pH ให้ได้ประมาณ 6.0 ± 0.1 ด้วย 1 M NaHCO_3 แล้วเติม porcine bile extract 3 มิลลิลิตร (40 mg/ml in 100 mM NaHCO_3), 2 มิลลิลิตรของ porcine pancreatin (10 mg/ml in 100 mM NaHCO_3) และ porcine lipase (5 mg/ml in 100 mM NaHCO_3) จากนั้นปรับ pH ให้ได้ประมาณ 6.5 ± 0.1 ด้วย 1 M NaHCO_3 และเติม basal salt solution ลงไปให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปย่อยต่อใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยทั้ง 2 ขั้นตอน จะเรียกว่า “digesta” จากนั้น นำ digesta ที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 รอบ/นาที เป็นเวลา 60 นาที นำส่วนใสด้านบนไปกรองด้วย filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ซึ่งจะได้ส่วนของเหลวที่เรียกว่า “aqueous fraction”



รูปที่ 2-3 กระบวนการจำลองกระบวนการย่อยภายในร่างกายในหลอดทดลอง (*In vitro* simulated digestion)

3.10.2.2 สภาวะการเลี้ยงเซลล์ลำไส้ Caco-2 (Garrett et al., 1999) เลี้ยงเซลล์ Caco-2 cell (ซื้อจาก ATCC) ที่ความเข้มข้น 4×10^4 cells/ml ใน 6 well plate หรือ 2×10^4 cells/ml ใน 12 well plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ complete media (cDMEM) ซึ่งประกอบด้วยร้อยละ 15 โดยปริมาตรของ heat inactivated fetal bovine serum (FBS), ร้อยละ 1 โดยปริมาตรของ L-glutamine (200 mM), ร้อยละ 1 โดยปริมาตรของ non-essential amino acids (10 mM), ร้อยละ 1 โดยปริมาตรของ penicillin (10,000 unit/ml) และ streptomycin (10 mg/l) และร้อยละ 0.2 ของ fungizone (250 μ g/ml) โดยปริมาตร และ basal DMEM ทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุกๆ 2 วัน และหลังจากที่เซลล์เจริญเต็มที่แล้ว (post-confluence) (ประมาณ 4-5 วัน) จะลดปริมาณ FBS ลงเหลือร้อยละ 7.5 โดยปริมาตร ใน complete media (cDMEM + 7.5% FBS) นำเซลล์ในช่วง 11-14 วันหลังจากเจริญเต็มที่ ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์มีคุณสมบัติทางชีวภาพใกล้เคียงกับเซลล์ลำไส้เล็ก คือ มีลักษณะของ microvilli และ สามารถผลิตenzyme ต่างๆได้ มาใช้ในการทดสอบ

3.10.2.3 การทดสอบความเป็นพิษของ aqueous fraction หรือ bioaccessible fraction การทดสอบความสามารถในการลดอนุมูลอิสระ และ ลดการอักเสบในเซลล์ ทำเฉพาะตัวอย่างตะกิลวก เท่านั้น เนื่องจากเราได้รับประทานเฉพาะตะกิลวก ก่อนทดสอบความสามารถในการลดอนุมูลอิสระ และ ลดการอักเสบในเซลล์ ต้องนำตะกิลวกทั้ง 3 ตัวอย่างมาหาปริมาณที่ไม่เป็นพิษกับเซลล์ก่อน โดยชั่งน้ำหนัก 0.3-0.5 กรัม และ ผ่านการจำลองการย่อยของร่างกายจนได้ส่วนที่เรียกว่าaqueous fraction จากนั้นจึงนำมาทดสอบความเป็นพิษของ aqueous fraction ทำให้ทราบความเข้มข้นที่เหมาะสมของ aqueous fraction ที่จะใช้ในการทดสอบกับเซลล์ลำไส้ Caco-2 ที่ไม่ทำให้เซลล์ตาย โดยเจือจาง aqueous fraction ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์มาตรฐานที่ปราศจากซีรั่มในอัตราส่วน 1:3 และ 1:4 ซึ่งเรียกว่า “**bioaccessible fraction**”นำไปทดสอบกับเซลล์ Caco-2 ที่เลี้ยงใน 12 well plate เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นล้างเซลล์ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์มาตรฐานที่ปราศจากซีรั่ม 1 ครั้ง ก่อนเหนี่ยวนำเซลล์ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (1 mM)30 นาที ล้างออกและกระตุ้นด้วย IL-1 β ที่ความเข้มข้น 10 ng/ml เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วย sulforhodamine B (0.04% sulforhodamine B ใน 10% acetic acid) 20 นาที ล้าง cell ด้วย 1% acetic acid ผึ่งให้แห้ง ละลายสีที่ย้อม protein ใน cell ด้วย 10 mM Tris-hydroxymethylaminomethane วัดความเข้มของสี (absorbance หรือค่า OD) ซึ่งปริมาณของ cell ที่มีชีวิตจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มของสี การคำนวณปริมาณของ cell ที่มีชีวิต ใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 (absorbance at 500 nm) ที่วัดได้จาก cell แต่ละกลุ่ม เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุมที่ได้รับbioaccessible fraction ที่ไม่มีอาหาร (กลุ่ม digestive control) (Houghton et al., 2007) ความเข้มข้นของ bioaccessible fraction ของอาหารแต่ละชนิดที่เลือก เพื่อนำมาใช้ในการทดลองจะต้องไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์โดยจะต้องมีอัตราการรอด (% cell viability) มากกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

3.10.2.4 ทดสอบประสิทธิภาพของตะกิลวกที่ผ่านการย่อยในการลดอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูตาไธโอน และการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในเซลล์ลำไส้เล็ก นำตัวอย่างแห้งของตะกิลวกทั้ง 3 ตัวอย่างๆละ 0.3 กรัม มาผ่านการเลียนแบบกระบวนการย่อยตามวิธีใน **ข้อ 3.10.2.1** นำ aqueous fraction ไปเจือจางด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์มาตรฐาน (basal DMEM) ที่ปราศจากซีรั่ม ในอัตราส่วน 1:4 (ปริมาตร/ปริมาตร) เนื่องจากอัตราส่วนนี้ไม่มีผลต่อปริมาณเซลล์ ซึ่งเรียกว่า bioaccessible

fraction นำไปทดสอบกับเซลล์ลำไส้ที่เลี้ยงไว้ โดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออก จากนั้นล้าง ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์ มาตรฐานที่ปราศจากซีรัม1 ครั้งก่อนที่จะเติม bioaccessible fraction โดยจะทำการแบ่งเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เลี้ยงร่วมกับ bioaccessible fraction ที่ไม่มีอาหาร (digestive control)

กลุ่มที่ 2 เลี้ยงร่วมกับ bioaccessible fraction ที่ไม่มีอาหาร และ (H₂O₂) + IL-1β

กลุ่มที่ 3 เลี้ยงร่วมกับ quercetin 200 uM (สารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ลดอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ

กลุ่มที่ 4 เลี้ยงร่วมกับ quercetin และ (H₂O₂) + IL-1β (positive control)

กลุ่มที่ 5 เลี้ยงร่วมกับ bioaccessible fraction ที่ใส่ตะกั่ว

กลุ่มที่ 6 เลี้ยงร่วมกับ bioaccessible fraction ที่ใส่ตะกั่ว และ (H₂O₂) + IL-1β

บ่มเซลล์ด้วย bioaccessible fraction หรือ quercetin เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นล้าง เซลล์ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์มาตรฐานที่ปราศจากซีรัม1 ครั้ง ก่อนเหนี่ยวนำเซลล์ด้วย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) และกระตุ้นด้วย IL-1β หลังจากนั้นเก็บน้ำเลี้ยงเซลล์มาหาปริมาณตัวชี้วัดการต้านการอักเสบ (IL-8 และ MCP-1) เก็บเซลล์เพื่อหาปริมาณอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species; ROS) ตามวิธี Katayama and Mine (2007) และปริมาณกลูตาไธโอน (total glutathione; Cayman 703002) และ การทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase activity; Cayman703102)

วิธีการหา ROS โดยการนำเซลล์ที่ได้มาย้อมเซลล์ด้วย DCF-DA (2',7'-dichloro-fluorescein diacetate, Sigma-Aldrich®, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร เป็น ระยะเวลา 30 นาที จากนั้นทำการล้าง DCF-DA ที่อยู่นอกเซลล์ด้วย PBS ที่เย็น 3 ครั้ง ทำให้เซลล์แตกด้วยร้อยละ 0.5 Triton X100 ที่ละลายใน PBS ที่เย็น ขูดเซลล์และทำการปั่น 1350 xg เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเก็บส่วนน้ำ ด้านบนที่ไม่มีตะกอนนำไปวัดค่าความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescent intensity) ของ DCF ภายในเซลล์ ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลท (BioTek, SN: 266156, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 485 นาโนเมตร (excitation wavelength) และการคายแสงที่ความยาวคลื่น 528 นาโนเมตร (emission wavelength) นำค่าที่ได้มาคำนวณเป็น % ROS inhibition

รายงานผลเป็น % chemokine secretion inhibition (สำหรับการต้านภาวะการอักเสบ) และ % ROS inhibition (สำหรับการต้านอนุมูลอิสระ) ซึ่งจะทำการคำนวณดังนี้

% Chemokine secretion inhibition

$$= \frac{(\text{chemokine conc. of induced group} - \text{chemokine conc. of sample group}) \times 100}{\text{Chemokine conc. of induced group}}$$

% ROS inhibition

$$= \frac{(\text{fluorescent signal of induced group} - \text{fluorescent signal of sample group}) \times 100}{\text{Fluorescent signal of induced group}}$$

4. ผลการวิจัย

4.1 การสืบค้นข้อมูลเบื้องต้นของแหล่งตะคึกในพื้นที่ต่างๆ

เนื่องจากตะคึกสามารถขึ้นได้ในที่ต่างๆ ของประเทศไทย ดังนั้นจึงออกแบบสอบถาม (ภาคผนวก ก) และจัดส่งให้กับโรงเรียนสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียนที่อยู่ในโครงการ อพ.สธ.จำนวน 282 โรงเรียน แบ่งเป็น ภาคเหนือ 7 โรงเรียน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 85 โรงเรียน ภาคตะวันออก 19 โรงเรียน ภาคกลาง 87 โรงเรียน และภาคใต้ 84 โรงเรียน และการไฟฟ้าฝ่ายผลิตเขื่อนศรีนครินทร์ (ซึ่งเป็นแหล่งของตะคึกที่เคยนำมาศึกษาก่อนหน้านี้) ได้รับการตอบกลับจาก 30 โรงเรียนและ 1 หน่วยงาน ดังแสดงในภาคผนวก ข

สรุปผลการตอบแบบสอบถามพบว่าที่พบตะคึก มี 10 จังหวัด จาก 5 ภาค (ภาคเหนือ: ตาก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ: นครราชสีมา อุตรดิตถ์ ภาคตะวันตก: กาญจนบุรี ภาคกลาง: สุพรรณบุรี นครสวรรค์ นนทบุรี ชัยภูมิ ภาคใต้: สุราษฎร์ธานี ประจวบคีรีขันธ์) ถึงแม้ตะคึกจะขึ้นในพื้นที่ที่ต่างกันในประเทศ แต่ช่วงที่แตกยอด และใบอ่อนนั้นค่อนข้างอยู่ในช่วงเดียวกัน คือ ประมาณช่วงมกราคม-มีนาคม สำหรับอาหารที่ทำจากตะคึกนั้น ทุกพื้นที่มีการนำตะคึกมาลวก หรือต้มจิ้มกับน้ำพริก นอกจากนั้นยังมีการนำไปทำแกงส้ม แกงเลียง แกงกะทิ ยำ ผัดน้ำมันหอย และชุบแป้งทอด

จากข้อมูลดังกล่าว ทางคณะวิจัยได้คัดเลือกพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างยอด และใบอ่อนตะคึก โดยมีเกณฑ์ในการคัดเลือก ดังนี้ ปริมาณ/จำนวนต้นตะคึกที่พบในแต่ละพื้นที่ (ไม่น้อยกว่า 30 ต้น) และการนำไปใช้ประโยชน์ในการบริโภค คัดเลือกได้ตัวแทนจาก 3 ภาคๆ ละ 1 พื้นที่รวม 3 พื้นที่ ได้แก่

- 1) โรงเรียนบ้านหนองกระดี่ อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี (ภาคกลาง)
- 2) โรงเรียนชุมพวงศึกษา อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)
- 3) การไฟฟ้าฝ่ายผลิตเขื่อนศรีนครินทร์อำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี (ภาคตะวันตก)

4.2 การติดต่อประสานงานเพื่อเข้าพื้นที่ และการเก็บตัวอย่าง

ผู้วิจัยได้ประสานงานกับตัวแทนในพื้นที่ในตารางที่ 2-4 เกี่ยวกับข้อมูลต่างๆ เช่น สถานที่ ช่วงเวลาที่เหมาะสมของการไปเก็บตัวอย่าง เนื่องจากผลผลิตส่วนที่กินได้ของตะคึก ได้แก่ ยอด ใบอ่อน และดอกตะคึก ออกเพียงช่วงสั้นๆ ปีละ 1 ครั้ง ในช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกันคือในเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคมเท่านั้น หากเลยช่วงนี้ไปแล้ว ตะคึกจะมีลักษณะเป็นใบแก่ สีเขียวเข้มไม่นิยมนำมาบริโภค ตัวแทนในพื้นที่ของแต่ละพื้นที่ ได้แก่

ตารางที่ 2-4 หน่วยงาน และผู้ประสานงานคัดเลือกเพื่อร่วมการวิจัย

หน่วยงาน	ที่อยู่	ผู้ประสานงาน	เบอร์โทรศัพท์
โรงเรียนบ้านหนองกระดี่	ต.ด่านช้าง อ.ด่านช้าง จ.สุพรรณบุรี	คณิจ เรืองฉาย	081-435-2822
โรงเรียนชุมพวงศึกษา	ต.ชุมพวง อ.ชุมพวง จ.นครราชสีมา	รวีวรรณศรีจันทิก	087-880-1669
การไฟฟ้าฝ่ายผลิตเขื่อน ศรีนครินทร์	ต.ท่ากระดาน อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี	สมควร พักหอม	089-830-1799

จากการประสานงานได้ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเข้าพื้นที่ คือ เดือนมีนาคมพ.ศ. 2557 เมื่อถึงพื้นที่ได้ประชุมทำความเข้าใจกับทีมงาน เพื่อให้ทราบวัตถุประสงค์ในการวิจัย และวิธีการเก็บยอด ใบอ่อน และดอกตะคึก จากนั้น ทีมงานได้พาไปยังจุดต่างๆ ที่พบต้นตะคึก และร่วมเก็บตัวอย่างกับทีมงานในแต่ละพื้นที่ บันทึกข้อมูล และเก็บตัวอย่างตะคึกแต่ละต้น เพื่อนำมาศึกษาตามข้อมูลต่อไป

4.2.1 จังหวัดสุพรรณบุรี

เข้าพื้นที่เมื่อวันที่ 14 มีนาคม 2557 เก็บตัวอย่างตะคึกที่จังหวัดสุพรรณบุรี (รูปที่ 2-4) จาก 3 แห่ง ได้แก่ 1) ศาลาอเนกประสงค์ วัดเขาช่องคับ 2) โรงเรียนบ้านหนองกระดี่ และ 3) อ่างเก็บน้ำเขาวงพระจันทร์ โดยเก็บตัวอย่างตะคึกได้จำนวน 12 ต้น เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และเก็บตัวอย่างยอด ใบอ่อน และดอก (กรณีที่ดินนั้นมีดอก) จากตะคึก 3 ต้น (SP001 เก็บยอด และใบอ่อน SP008 และ SP011 เก็บยอด ใบอ่อน และดอก) เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพ (ตารางที่ 2-5)

จากการสัมภาษณ์อาจารย์คณิจ เรืองฉาย ได้ข้อมูลว่า ตะคึก หรือมะรุมป่า ในบริเวณนี้ขึ้นเองตามธรรมชาติ โดยจะแตกยอด และใบอ่อนในช่วงหน้าแล้ง ตะคึกชอบขึ้นบริเวณเชิงเขาที่แห้ง มีข้อสังเกตว่า ตะคึกที่ขึ้นบริเวณศาลาอเนกประสงค์เชิงเขา วัดเขาช่องคับ จะมียอด และใบอ่อนยาว ในขณะที่ตะคึกที่ขึ้นบริเวณโรงเรียนบ้านหนองกระดี่ ซึ่งเป็นที่ราบ และอ่างเก็บน้ำเขาวงพระจันทร์ ใกล้เชิงเขา มียอด และใบอ่อนสั้น และมีปริมาณดอกเยอะ (รูปที่ 2-5) นอกจากนี้ อาจารย์คณิจยังให้ข้อสังเกตว่า หลังฝนตก ตะคึกจะมีรสขม

สำหรับคนที่อาศัยอยู่บริเวณนี้ นำตะคึกไปทำอาหารหลายประเภท เช่น ลวก/ต้มจิ้ม น้ำพริก แกงส้ม แกงเลียง แกงป่า ผัดน้ำมันหอย ยำ และซุบแป้งทอด นอกจากอ.ด่านช้างแล้ว ยังพบว่า อ.เดิมบางนางบวช ซึ่งเป็นบ้านเกิดของอาจารย์คณิจ ก็มีการนำตะคึกมาบริโภคเช่นเดียวกัน



รูปที่ 2-4 การเก็บตัวอย่างที่โรงเรียนบ้านหนองกระดี่ อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี



รูปที่ 2-5 ลักษณะของยอดตะคึกยอด และใบอ่อนยาว (ซ้าย) และยอด และใบอ่อนสั้น (ขวา)

ตารางที่ 2-5 ตัวอย่างตะคึกที่เก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรี

รหัส	บริเวณที่เก็บ	GPS X	GPS Y
SP001*	ศาลาอเนกประสงค์ วัด เขาช่องคับ	47P0566144	UTM1637677
SP002		47P0566177	UTM 1637672
SP003		47P0566191	UTM 1637696
SP004		47P0566094	UTM1637670
SP005		47P0566079	UTM1637720
SP006		47P0566131	UTM1637694
SP007		47P0564712	UTM1638289
SP008*	โรงเรียนบ้านหนองกระดี่	47P0562277	UTM1639439
SP009		47P0562200	UTM1639411

รหัส	บริเวณที่เก็บ	GPS X	GPS Y
SP010		47P0562274	UTM1639468
SP011*	อ่างเก็บน้ำ เขาวงพระจันทร์	47P0558189	UTM1634704
SP012		47P0558141	UTM1634647

* เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพ

4.2.2 จังหวัดนครราชสีมา

เข้าพื้นที่เมื่อวันที่ 21 มีนาคม พ.ศ. 2557 เก็บตัวอย่างยอด และใบอ่อนตะคึกที่จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งคืนก่อนวันเก็บตัวอย่างมีฝนตก (รูปที่ 2-6) จาก 5 แห่ง ได้แก่ 1) โรงเรียนชุมพวงศึกษา 2) บ้านอาจารย์วีวรรณ 3) ริมทางไปตลาด 4) ศาลเจ้า 5) บริเวณ 3 แยกอุดมสุข ต.ท่าลาด อ.ชุมพวง โดยเก็บตัวอย่างตะคึกได้จำนวน 16 ต้น เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และเก็บตัวอย่างยอด ใบอ่อน และดอก (กรณีที่ต้นนั้นมีดอก) จากตะคึก 3 ต้น (NK004, NK009 เก็บยอด และใบอ่อน NK007 เก็บยอด ใบอ่อน และดอก) เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพ (ตารางที่ 2-6)

จากการสัมภาษณ์ อาจารย์วีวรรณ ศรีจันทิก ได้ข้อมูลว่าบางครั้งคนบริเวณนี้เรียกตะคึกว่า มะรุมป่า โดยลักษณะเด่นของต้นตะคึก คือ ดอกมีสีเหลืองทอง และฝักมีสีเหลือง ต่างจากต้นก้ามปู (จามจุรี) ซึ่งมีดอกสีชมพู ลำต้นมีขอบชัดเจน สีน้ำตาลเข้ม ตะคึกต้นที่มีอายุมาก จะมีใบสั้น มีดอก และผล (รูปที่ 2-7) ในขณะที่ ตะคึกต้นที่มีอายุน้อย ใบยาว มียอด และใบอ่อนให้เก็บมาบริโภค ผู้คนบริเวณนี้มีการเก็บยอด และใบอ่อนตะคึกมาขาย เพื่อนำไปต้ม/ลวกจิ้มน้ำพริก หรือผัดน้ำมันหอย



รูปที่ 2-6 การเก็บตัวอย่างที่โรงเรียนชุมพวงศึกษา อำเภอชุมพวง จังหวัดนครราชสีมา



รูปที่ 2-7 ดอก(ซ้าย) และฝัก (ขวา) ของต้นตะคึก

ตารางที่ 2-6 ตัวอย่างตะคึกที่เก็บจากจังหวัดนครราชสีมา

รหัส	บริเวณที่เก็บ	GPS X	GPS Y
NK002	โรงเรียนชุมพวงศึกษา	48P0257680	UTM1697272
NK003		48P0257697	UTM1697304
NK004*		48P0257752	UTM1697318
NK005		48P0257921	UTM1697197
NK006		48P0257910	UTM1697171
NK007*		48P0257938	UTM1697168
NK008		48P0257917	UTM1697115
NK009*	บ้านอาจารย์วีวรรณ	48P0257989	UTM1697835
NK010		48P0257952	UTM1697834
NK011	ริมทางไปตลาด	48P0257687	UTM1698050
NK012	ศาลเจ้า	48P0257198	UTM1698226
NK013		48P0257198	UTM1698215
NK014	บริเวณ 3 แยกอุดมสุข ต. ท่าลาด อ.ชุมพวง	48P0251981	UTM1691335
NK015		48P0251964	UTM1691346
NK016		48P0251963	UTM1691346
NK017		48P0251891	UTM1691330

* เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพ

4.2.3 จังหวัดกาญจนบุรี

เมื่อวันที่ 26 มีนาคม พ.ศ. 2557 เก็บตัวอย่างตะคึกที่จังหวัดกาญจนบุรี (รูปที่ 2-8) จากบริเวณต่างๆ รอบเขื่อนศรีนครินทร์ซึ่งเป็นแหล่งของตะคึกที่เคยนำมาศึกษาก่อนหน้านี้ โดยเก็บตัวอย่างยอด และใบอ่อนตะคึกได้จำนวน 20 ต้น เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และเก็บตัวอย่างยอด ใบอ่อน และดอก

(กรณีที่ดินนั้นมีดอก) จากตะคึก 3 ต้น (KB001, KB009 เก็บยอด และใบอ่อน KB015เก็บยอด ใบอ่อน และดอก) เพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพ (ตารางที่ 2-7)

คุณสมควร พักหอม ให้ข้อสังเกตว่า ตะคึกบริเวณนี้หากขึ้นตามหินยอดจะสั้น ในขณะที่หากขึ้นตามพื้นดินยอดจะยาว ตะคึกที่มียอดสั้นจะแก่เร็ว และมีดอก ตะคึกเป็นพืชที่ขึ้นค่อนข้างง่าย เพียงแค่ลมพัดฝกไปตกบริเวณใดก็สามารถขึ้นได้ ตะคึกแต่ละต้นจะให้รสชาติที่แตกต่างกัน โดยคนบริเวณนี้จะบริโภคยอด และใบอ่อนตะคึกที่มีรสมัน/หวาน หากต้นใดมียอด และใบอ่อนรสขม/ขื่น ในปีถัดไปจะไม่มีคนเก็บไปบริโภค โดยคนบริเวณนี้จะเก็บตะคึกไปบริโภคในครัวเรือน หรือขาย ขณะนี้ สนามกอล์ฟบลูแซฟไฟร์ ได้นำตะคึกมาทำเป็นเมนูพิเศษให้นักท่องเที่ยวได้ลิ้มลองกัน เช่น ไข่เจียวใบตะคึก และยำ นอกจากนี้ ผู้คนบริเวณนี้ยังนำมาต้ม/ลวกจิ้ม น้ำพริก แกงส้ม แกงเลียง แกงป่า และผัดน้ำมันหอย



รูปที่ 2-8 การเก็บตัวอย่างเพื่อการไฟฟ้าเชื่อมสรีนครินทร์ อำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี

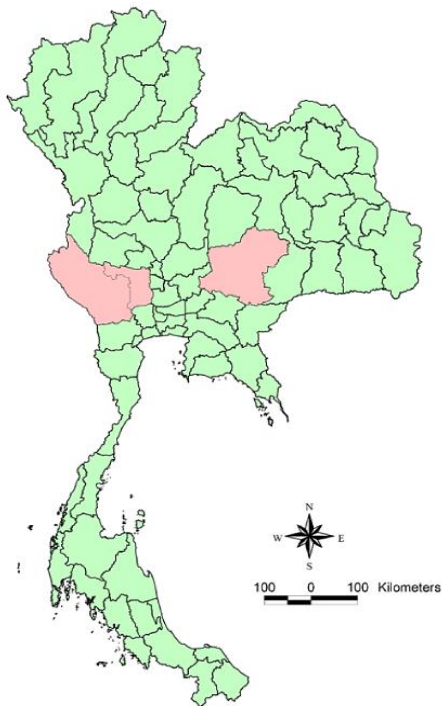
ตารางที่ 2-7 ตัวอย่างตะคึกที่เก็บจากจังหวัดกาญจนบุรี

รหัส	บริเวณที่เก็บ	GPS X	GPS Y
KB001*	รอบเขื่อนศรีนครินทร์	47P0515439	UTM1591058
KB002		47P0515387	UTM1591459
KB003		47P0515399	UTM1591401
KB004		47P0515442	UTM1591248
KB005		47P0515441	UTM1591248
KB006		47P0515442	UTM1591248
KB007		47P0515449	UTM1591232
KB008		47P0515448	UTM1291226
KB009*		47P0515467	UTM1591063
KB010		47P0514851	UTM1592540
KB011		47P0514796	UTM1592598
KB012		47P0514363	UTM1592988
KB013		47P0514350	UTM1592985
KB014		47P0514190	UTM1593021
KB015*		47P05154169	UTM1593020
KB016		47P0515202	UTM1591809
KB017		47P0515546	UTM1590902
KB018		47P0515551	UTM1590899
KB019		47P0514407	UTM1590223
KB020		47P0514417	UTM1590229

* เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพ

นอกจากนี้ ยังได้เดินสำรวจรอบบริเวณมหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐมพบว่า มีต้นตะคึกประมาณ 10 ต้น กระจายอยู่ทั่ววิทยาเขต มีทั้งต้นที่มีอายุมาก และต้นที่มีอายุน้อย

รูปที่ 2-9 แสดงพื้นที่ที่สุ่มเก็บตัวอย่างตะคึกในประเทศไทย จาก 3 จังหวัด ได้แก่ 1) อำเภอลำทะเมนชัย จังหวัดนครราชสีมา (ตัวแทนของจังหวัดภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) 2) อำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี (ตัวแทนของจังหวัดภาคตะวันตก) 3) อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี (ตัวแทนตัวแทนของจังหวัดภาคกลาง) โดยจุดสีแดง คือตำแหน่งของต้นตะคึกที่เก็บตัวอย่าง



ก.



ข.



ค.



ง.

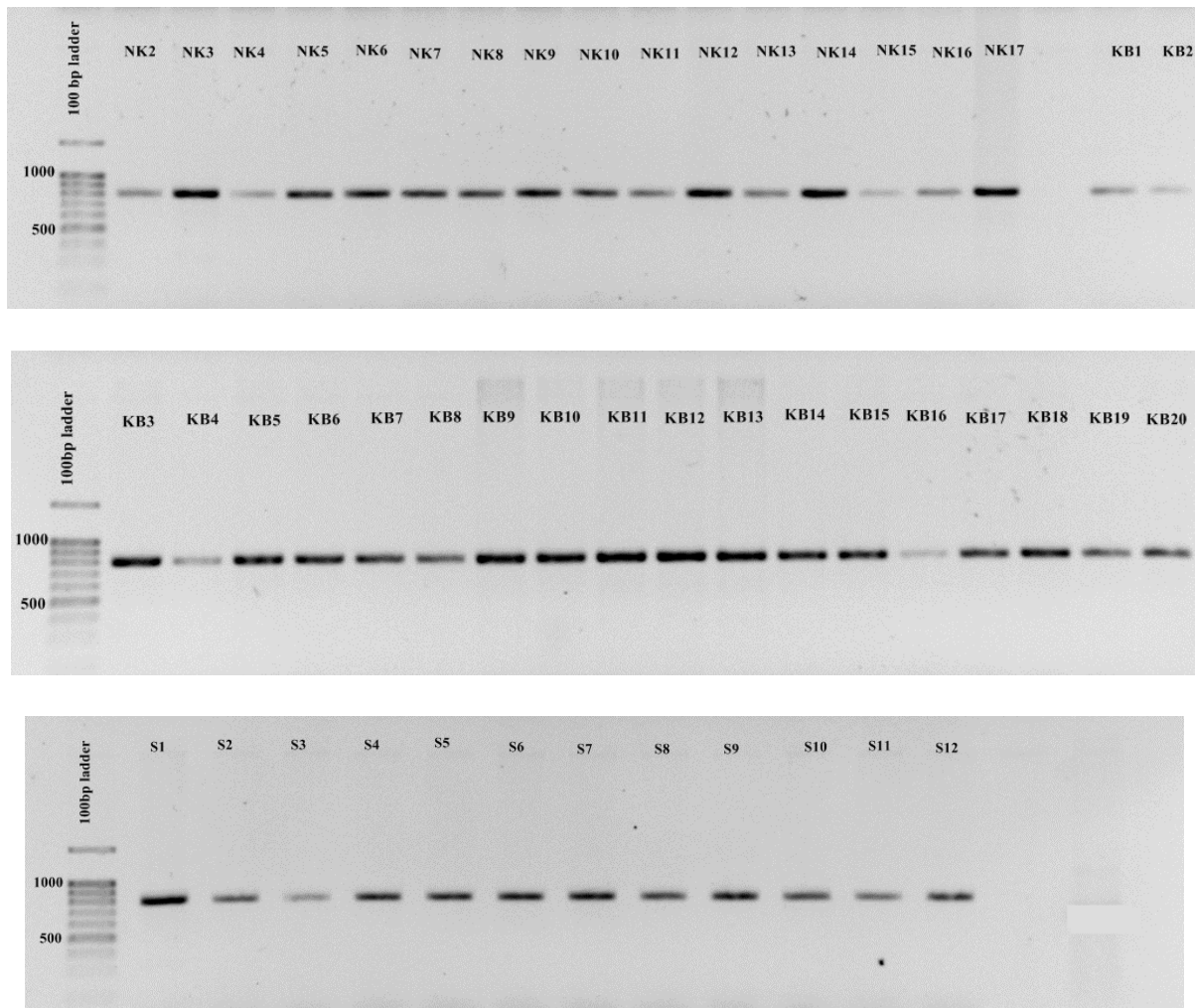
รูปที่ 2-9 แผนที่การสุ่มเก็บตะกอนจาก 3 พื้นที่ ก) จังหวัดที่เลือกเพื่อเก็บตัวอย่างตะกอนมาศึกษา (สีชมพู) ข) ตำแหน่งของตะกอนที่สุ่มเก็บจากจังหวัดนครราชสีมา (จุดสีแดง) ค) ตำแหน่งของตะกอนที่สุ่มเก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรี ง) ตำแหน่งของตะกอนที่สุ่มเก็บจากจังหวัดกาญจนบุรี

4.3 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของตะกิ้งจาก 3 พื้นที่

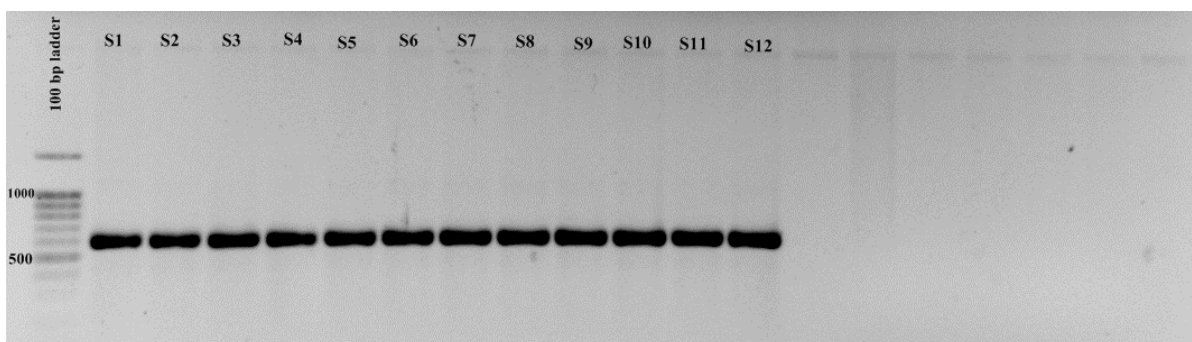
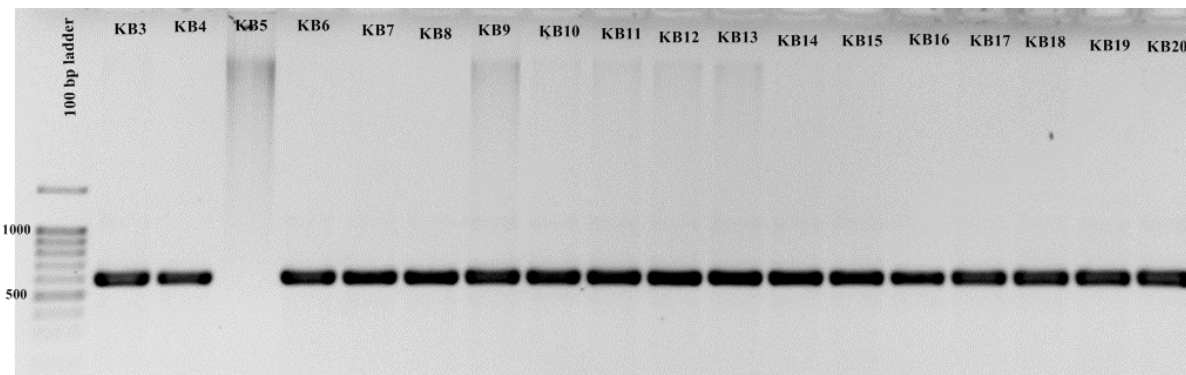
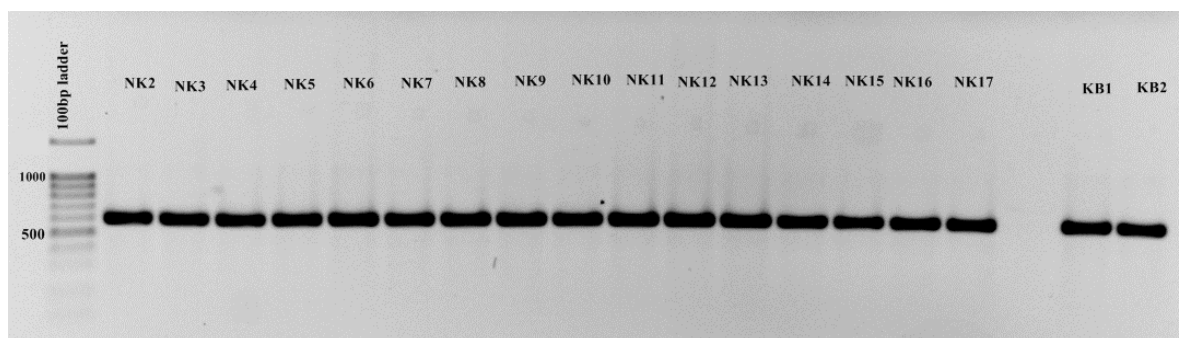
นำตัวอย่างตะกิ้งทั้งหมด 49 ตัวอย่าง จากจังหวัดนครราชสีมา 17 ตัวอย่าง จังหวัดกาญจนบุรี 20 ตัวอย่าง และจังหวัดสุพรรณบุรี 12 ตัวอย่าง มาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม

4.3.1 การทดสอบตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์

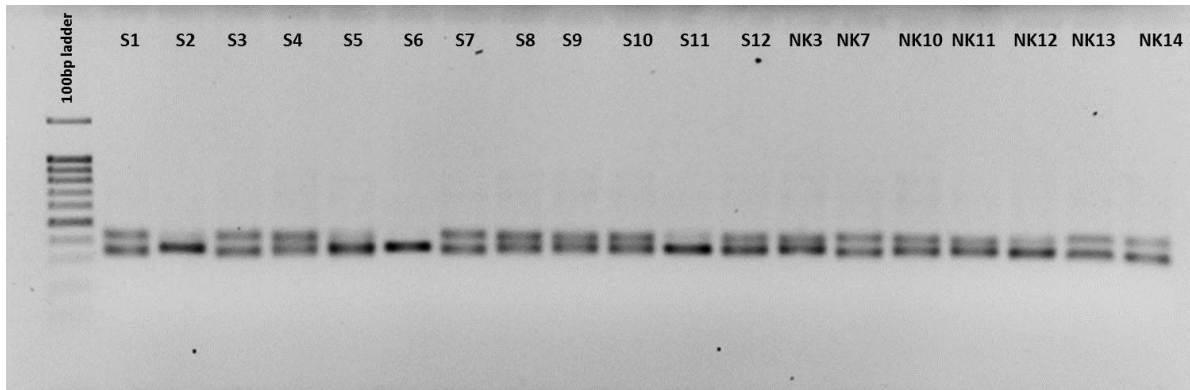
การทดสอบตัวอย่างดีเอ็นเอตะกิ้งด้วยไพรเมอร์ *matK*, *rbcL* และ *ITS2* โดยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่ายีน *matK* ให้แถบดีเอ็นเอ 1 แถบขนาดประมาณ 800 bp. (รูปที่ 2-10) และยีน *rbcL* ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 500 bp. (รูปที่ 2-11) ในขณะที่ยีน *ITS2* ให้แถบดีเอ็นเอ 2 แถบขนาดประมาณ 350 bp. และ 430 bp. (รูปที่ 2-12)



รูปที่ 2-10 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของต้นตะกิ้งจากการใช้ไพรเมอร์ยีน *matK* ขนาด 800 bp. ตัวอย่างตะกิ้งจาก จังหวัดนครราชสีมา (NK): NK2- NK17, จังหวัดกาญจนบุรี (KB): KB1- KB20 และ จังหวัดสุพรรณบุรี (S): S1-S12



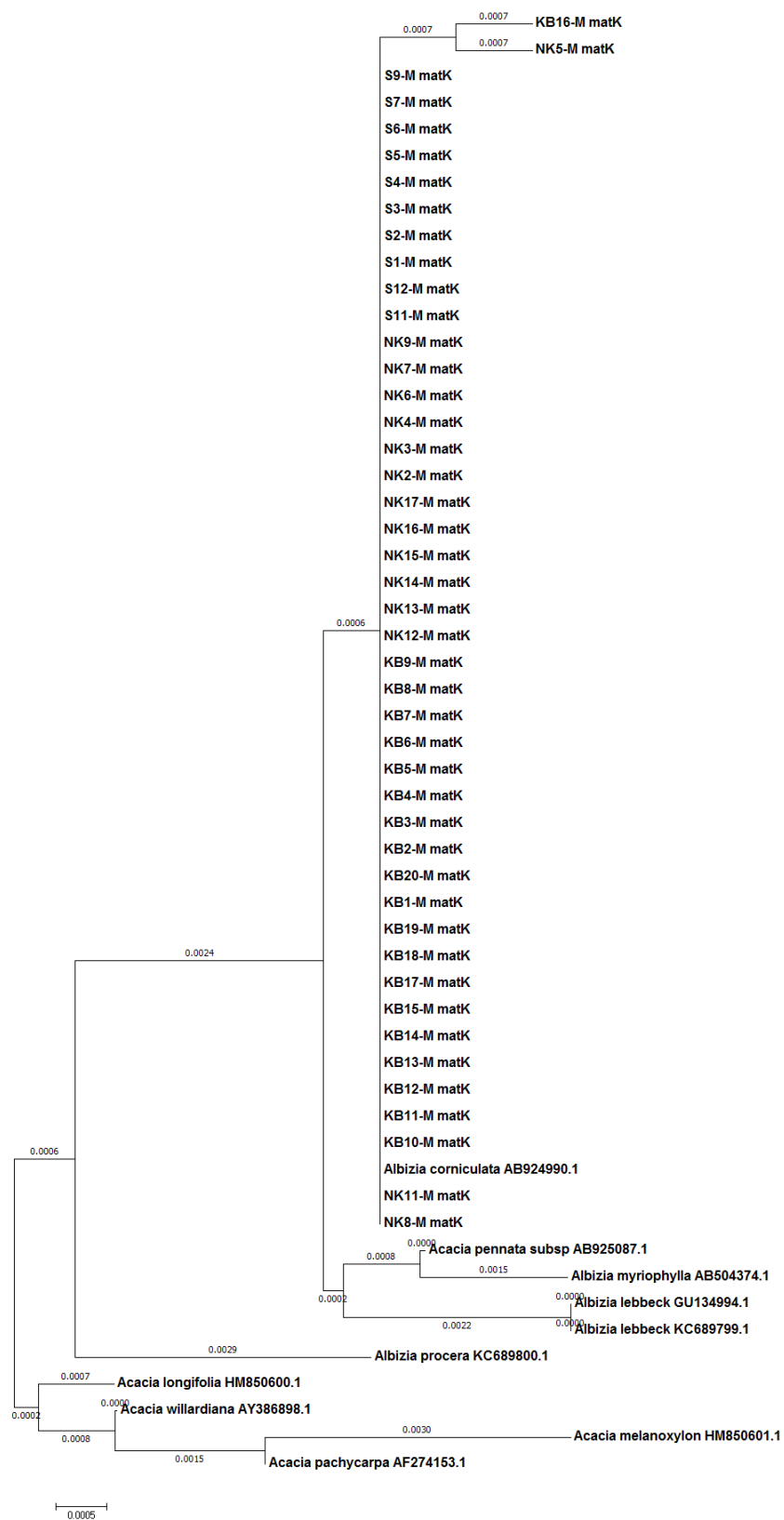
รูปที่ 2-11 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของต้นตะคึกจากการใช้ไพรเมอร์ยืน *rbcL* ขนาด 500 bp. ตัวอย่างตะคึกจาก จังหวัดนครราชสีมา (NK): NK2- NK17, จังหวัดกาญจนบุรี (KB): KB1- KB20 และ จังหวัดสุพรรณบุรี (S): S1-S12



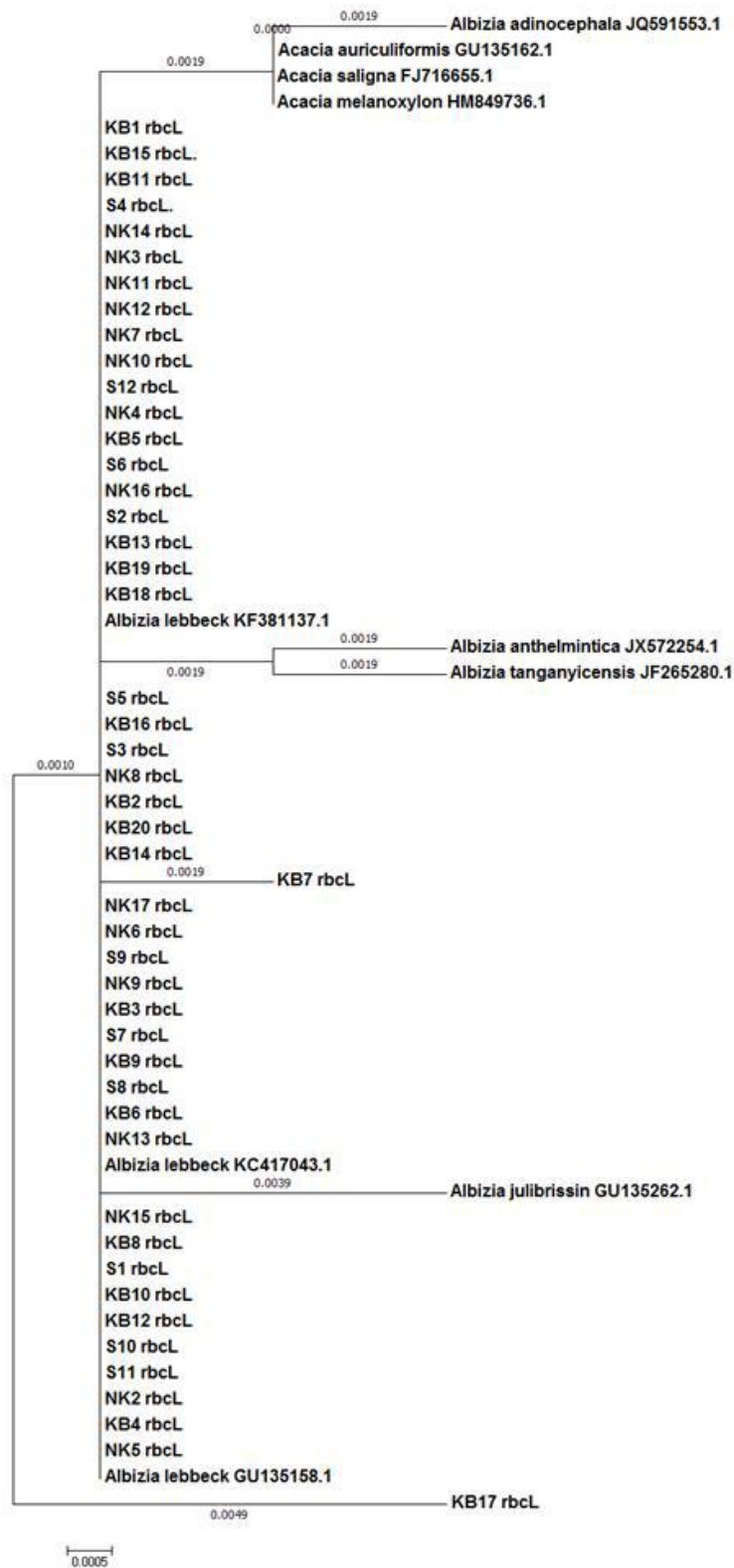
รูปที่ 2-12 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอของต้นตะเคียนจากการใช้ไพรเมอร์ยืน *ITS2* ขนาดประมาณ 350 bp. และ 430 bp. ตัวอย่างตะเคียนจากจังหวัดสุพรรณบุรี (S): S1-S12 และจังหวัดกาญจนบุรี (KB): KB3- KB14

4.3.2 การประเมินประสิทธิภาพของ เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการจำแนกสปีชีส์ด้วยวิธีการวิเคราะห์แผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ด้วยวิธี Neighbour-Joining

การวิเคราะห์ neighbour-joining tree ที่สร้างจาก genetic distance คำนวณด้วยสมการ K2P และตรวจสอบความน่าเชื่อถือ (reliability) ของแผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่สร้างขึ้นด้วยวิธี 1000-Bootstrapping พบว่าแผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ของ *matK* แสดงดังรูปที่ 2-13 ตะเคียนที่เก็บจากพื้นที่ที่ต่างกันไม่ค่อยมีความแตกต่างทางพันธุกรรม ยกเว้น KB16 ซึ่งเก็บมาจากจังหวัดกาญจนบุรี และ NK5 ซึ่งเก็บมาจากจังหวัดนครราชสีมา ที่มีความต่างจากตะเคียนตัวอย่างอื่นๆ เพียงเล็กน้อย สำหรับรูปที่ 2-14 แสดงแผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ของ *rbcL*



รูปที่ 2-13 แผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ตัวอย่างตะคึก และ ฟิช สปีชีส์อื่นๆ ในสกุลเดียวกันจากฐานข้อมูล (NCBI) โดยใช้ DNA barcode *matK*



รูปที่ 2-14 แผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการจากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ตัวอย่างตะคึก และ ฟิช- สปีชีส์อื่นๆ ในสกุลเดียวกันจากฐานข้อมูล (NCBI) โดยใช้ DNA barcode *rbcL*

4.4 คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะคึกสด

นำตัวอย่างตะคึก 3 ต้น จาก 3 พื้นที่ (ตารางที่ 2-8) ซึ่งมีปริมาณมากพอที่จะนำมาศึกษามาคัดเลือกเฉพาะส่วนที่กินได้ (ยอด ใบอ่อน และดอกอ่อน ในกรณีที่มีดอก) ดังรูปที่ 2-15 มาเตรียมดังอธิบายในข้อ 3.5 จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 2-8 ตัวอย่างตะคึกที่นำมาศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพ

พื้นที่ (จังหวัด)	ยอด และใบอ่อน	ยอด ใบอ่อน และดอกอ่อน
นครราชสีมา	NK004, NK009	NK007
กาญจนบุรี	KB001, KB009	KB015
สุพรรณบุรี	SP001	SP008, SP011



รูปที่ 2-15 ลักษณะยอด ใบอ่อน (ซ้าย และกลาง) และดอก (ขวา) ตะคึก

4.4.1 คุณค่าทางโภชนาการของตะคึกสด

คุณค่าทางโภชนาการของตะคึกจาก 3 พื้นที่ ต่อ 100 กรัม น้ำหนักเปียก (wet basis) แสดงดังตารางที่ 2-9 เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการของตะคึกบนพื้นฐานของน้ำหนักเปียก พบว่าตะคึกที่เก็บจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรีมีคุณค่าทางโภชนาการไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ คุณค่าทางโภชนาการของตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นปริมาณของไขมันที่ไม่ต่างกัน ปริมาณฟอสฟอรัส และโซเดียมของตะคึกจากทั้ง 3 พื้นที่ไม่แตกต่างกัน ปริมาณโพแทสเซียม แมกนีเซียม และเหล็กของตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่าสูงกว่าค่าดังกล่าวของตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรีอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่ แคลเซียมของตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรี และกาญจนบุรีมีค่าใกล้เคียงกัน แต่มากกว่าค่าที่วิเคราะห์ได้จากจังหวัดนครราชสีมาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.4.2 สารออกฤทธิ์ชีวภาพของตะคึกสด

ตารางที่ 2-10 แสดงปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ได้แก่ วิตามินซี ฟลาโวนอยด์ คาโรทีนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกรวมของตะคึกจาก 3 พื้นที่ ต่อ 100 กรัม น้ำหนักเปียก วิตามินซีจากทั้ง 3 พื้นที่ มีปริมาณไม่แตกต่างกัน อยู่ในช่วง 125.50-154.82 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก สารคาโรทีนอยด์ที่พบในตะ

คึกมี 3 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน 6 ชนิด โดยสามารถเรียงลำดับตามปริมาณที่พบจากมากไปน้อยได้ ดังนี้ lutein, β -carotene และ α -carotene คาโรทีนอยด์แต่ละพื้นที่มีปริมาณไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มว่าตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมาจะมีปริมาณสูงที่สุด รองลงมาคือจังหวัดสุพรรณบุรี และกาญจนบุรี ($18,135 \pm 10,879$; $13,756 \pm 5,550$; $12,712 \pm 816$ ไมโครกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักเปียก ตามลำดับ) สำหรับฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิกของตะคึก พบฟลาโวนอยด์เพียง 4 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานฟลาโวนอยด์ 8 ชนิด ได้แก่ quercetin เป็นสารฟลาโวนอยด์ชนิดหลัก รองลงมา คือ luteolin, kaempferol และ apigenin ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณไม่แตกต่างกันใน 3 พื้นที่ แต่ไม่พบกรดฟีนอลิก เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดฟีนอลิก 7 ชนิด ส่วนสารประกอบฟีนอลิกรวมในตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่าไม่แตกต่างกัน แต่มีปริมาณสูงกว่าค่าดังกล่าวที่วิเคราะห์จากตะคึกที่เก็บจากจังหวัดกาญจนบุรีอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

4.4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะคึกสด

ตารางที่ 2-11 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบของตะคึกจาก 3 พื้นที่ (คำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักเปียก) โดยในงานวิจัยนี้ ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย 2 วิธี คือ วิธี ORAC และ DPPH สำหรับวิธี DPPH นั้น รายงานผลใน 2 ลักษณะ คือ ค่า DPPH ซึ่งอยู่ในหน่วย ไมโครกรัม trolox equivalent (TE) และค่า IC_{50} (50% inhibitory concentration) ซึ่งหมายถึง ความเข้มข้นสารสกัดที่ทำให้ความเข้มข้นของ อนุมูลอิสระ (DPPH) ลดลงได้ร้อยละ 50 ดังนั้น ค่า IC_{50} น้อยแสดงถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าค่า IC_{50} มาก

ผลการทดสอบตัวอย่างตะคึกจาก 3 พื้นที่ พบว่าในสารสกัดตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรีให้ค่า DPPH และ IC_{50} สูงกว่าสารสกัดตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา และสุพรรณบุรี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างของค่า ORAC แต่มีแนวโน้มเช่นเดียวกับค่า DPPH และ IC_{50}

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ของสารประกอบฟีนอลิกรวมกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ORAC หรือ DPPH คือ 0.82 และ 0.88 ตามลำดับ

ตารางที่ 2-9 คุณค่าทางโภชนาการของส่วนที่กินได้ของตะคึก (ยอด ใบอ่อน และดอก ในกรณีที่มีดอก) จากพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี (ต่อ 100 กรัม น้ำหนักเปียก)^{1,2}

	นครราชสีมา	กาญจนบุรี	สุพรรณบุรี
สารอาหารหลัก			
พลังงาน (แคลลอรี่)	66±6b (60-72) ³	65±3b (62-68)	81±5a (78-87)
ความชื้น (กรัม)	83.58±1.50 ^a (82.01-84.99)	83.69±0.99 ^a (82.66-84.63)	79.49±1.40 ^b (77.89-80.48)
โปรตีน (กรัม)	7.21±1.24 ^b (5.78-7.98)	7.51±0.25 ^{ab} (7.24-7.73)	8.81±0.33 ^a (8.43-9.07)
ไขมัน (กรัม)	0.82±0.02 (0.79-0.84)	0.70±0.12 (0.63-0.84)	0.85±0.15 (0.68-0.98)
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	7.35±0.87 ^b (6.42-8.15)	7.06±0.97 ^b (6.02-7.93)	9.56±1.24 ^a (8.35-10.82)

	นครราชสีมา	กาญจนบุรี	สุพรรณบุรี
โยอาหาร (กรัม)	4.68±0.33 ^b (4.45-5.06)	4.34±0.24 ^b (4.09-4.56)	5.91±0.76 ^a (5.18-6.69)
เถ้า (กรัม)	1.04±0.09 ^b (0.96-1.14)	1.05±0.09 ^b (0.96-1.13)	1.30±0.04 ^a (1.27-1.35)
แร่ธาตุ (มิลลิกรัม)			
แคลเซียม	28±11 ^b (21-41)	53±6 ^a (47-59)	52±14 ^a (36-64)
ฟอสฟอรัส	99±15 (86-116)	103±6 (96.01-107.16)	118±5 (113.58-123.53)
โซเดียม	28±12 (15-39)	18±4 (15-22)	14±4 (11-18)
โพแทสเซียม	272±36 ^b (236-307)	310±42 ^b (261-334)	375±2 ^a (373-376)
แมกนีเซียม	37±3 ^b (33-40)	38±4 ^b (35-42)	45±2 ^a (42-47)
เหล็ก	1.18±0.14 ^b (1.05-1.33)	1.18±0.15 ^b (1.03-1.33)	1.95±0.51 ^a (1.58-2.53)

¹ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

² ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทดสอบด้วยวิธี Duncan's Multiple range test

³ แสดงค่าเป็นช่วง (ค่าต่ำสุด-สูงสุด)

ตารางที่ 2-10 สารออกฤทธิ์ชีวภาพของส่วนที่กินได้ของตะคึก (ยอด ใบอ่อน และดอก ในกรณีที่มีดอก) จากพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี (ต่อ 100 กรัม น้ำหนักเปียก)^{1,2}

	นครราชสีมา	กาญจนบุรี	สุพรรณบุรี
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	154.82±38.09 (112.11-185.26) ³	145.36±19.07 (132.07-167.21)	125.50±40.29 (89.22-168.93)
สารคาโรทีนอยด์ (ไมโครกรัม)			
Lutein	13,513±8,563 (3,636-18,840)	8,684±532 (8,110-9,161)	10,030±4,609 (5,314-14,523)
β-carotene	4,433±2,304 (1,915-6,436)	3,835±921 (2,825-4,629)	3,448±991 (2,539-4,504)
α-carotene	189±90 (88-258)	193±10 (185-204)	278±70 (209-350)
ผลรวม	18,135±10,879 (5,638-25,497)	12,712±816 (11,810-13,398)	13,756±5,550 (8,203-19,303)
สารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัม)			
Quercetin	160.26±39.85	169.97±65.70	205.55±14.69

	นครราชสีมา	กาญจนบุรี	สุพรรณบุรี
	(115.51-191.92)	(95.59-220.07)	(188.68-215.48)
Kaempferol	6.39±2.89	11.38±4.09	10.28±1.47
	(3.13-8.64)	(8.28-16.02)	(9.39-11.97)
Luteolin	66.33±24.63	46.41±5.75	35.52±9.28
	(46.02-93.73)	(39.77-49.78)	(27.72-45.79)
Apigenin	2.36±0.90	4.29±2.56	1.95±0.06
	(1.64-3.37)	(2.35-7.19)	(1.91-2.00)
ผลรวม	235.34±62.33	110.45±86.31	252.66±5.51
	(171.81-296.40)	(160.83-289.10)	(246.44-256.93)
สารประกอบฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัม GAE ⁴)	421.57±7.92 ^a	338.40±15.64 ^b	481.56±58.88 ^a
	(412.43-426.40)	(320.48-349.31)	(440.05-548.95)

¹ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

² ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทดสอบด้วยวิธี Duncan's Multiple range test

³ แสดงค่าเป็นช่วง (ค่าต่ำสุด-สูงสุด)

⁴ GAE = gallic acid equivalent

ตารางที่ 2-11ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ORAC และ DPPH ของส่วนที่กินได้ของตะคึก (ยอด ใบอ่อน และดอก ในกรณีที่มียอด) จากพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี^{1,2}

	นครราชสีมา	กาญจนบุรี	สุพรรณบุรี
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี			
ORAC			
ค่า ORAC	268.82±20.35	216.85±62.37	296.25±80.98
(ไมโครกรัม TE/กรัม น้ำหนักเปียก)	(252.93-291.76) ³	(150.14-273.71)	(221.53-382.30)
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี			
DPPH			
ค่า DPPH	18.91±3.81 ^{ab}	7.87±1.81 ^b	23.53±9.16 ^a
(ไมโครกรัม TE ⁴ /กรัม น้ำหนักเปียก)	(15.48-23.01)	(6.75-9.95)	(14.50-32.81)
IC ₅₀ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	0.71±0.15 ^a	1.62±0.16 ^b	0.75±0.31 ^a
	(0.54-0.84)	(1.44-1.72)	(0.48-1.09)

¹ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

² ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทดสอบด้วยวิธี Duncan's Multiple range test

³ แสดงค่าเป็นช่วง (ค่าต่ำสุด-สูงสุด)

⁴ TE = trolox equivalent

4.5 ผลของการลวกต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพของตะคึก

สุ่มตัวอย่างตะคึกมา 2 ต้น จาก 3 ต้น ของแต่ละพื้นที่ (SP001, SP011, NK004, NK007, KB001 และ KB015) เพื่อนำมาศึกษาผลการลวกต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพของตะคึก โดยคัดเลือกส่วนที่กินได้ (ยอด ใบอ่อน และดอก กรณีที่มีดอก) แล้วนำมาลวกโดยใช้อัตราส่วน ตะคึก: น้ำ = 1:2 เป็นเวลา 2 นาที (รูปที่ 2-16)



รูปที่ 2-16 ส่วนที่กินได้ของตะคึกก่อนลวก (ซ้าย) และหลังลวก (ขวา)

สำหรับการศึกษาผลของการลวกต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพนั้น เปรียบเทียบค่าดังกล่าวทั้งก่อน และหลังการลวกทั้ง 6 ค่า (2 ค่า จากแต่ละพื้นที่) บนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง (dry basis) เพื่อลดความแตกต่างที่เกิดจากความชื้นที่ไม่เท่ากัน และคำนวณร้อยละการลดลงของสารบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง

4.5.1 ผลของการลวกต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพในตะคึก

ตารางที่ 2-12 แสดงปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพของตะคึกเมื่อผ่านการลวก และร้อยละการลดลง (% loss) โดยคำนวณ และแสดงผลบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง (dry basis) การลวกตะคึกส่งผลให้สารออกฤทธิ์ชีวภาพลดลง โดยพบการลดลงของวิตามินซีร้อยละ 52 คาโรทีนอยด์รวมหลังผ่านการลวกลดลงร้อยละ 50 โดย lutein เป็นคาโรทีนอยด์ที่ลดลงมากที่สุด (ร้อยละ 57) สำหรับ β -carotene และ α -carotene ลดลงร้อยละ 31 และ 23 ตามลำดับ ในขณะที่ ผลรวมฟลาโวนอยด์ ลดลงร้อยละ 42 โดยที่ quercetin, kamepferol, luteolin และ apigenin ลดลงร้อยละ 45, 46, 28 และ 31 ตามลำดับ และสารประกอบฟีนอลิกรวมลดลงร้อยละ 47 เมื่อทดสอบทางสถิติด้วยวิธี Student's *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่ามีวิตามินซี lutein ผลรวมคาโรทีนอยด์ quercetin ผลรวมฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่านั้นที่มีการลดลงของสารดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 2-12 สารออกฤทธิ์ชีวภาพของส่วนที่กินได้ของตะคึก (ยอด ใบอ่อน และดอก กรณีที่มีดอก) ก่อน และหลังผ่านการลวก (ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) และร้อยละของการลดลง^{1,2}

	ก่อนลวก	หลังลวก	ร้อยละการลดลง
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	819.95±241.78* (448.81-1,029.70) ³	392.60±242.19 (184.16-867.52)	52
สารคาโรทีนอยด์ (ไมโครกรัม)			
Lutein	65,911±33,943* (27,225-111,134)	28,543±18,137 (7,073-58,814)	57
β-carotene	23,318±8,988 (13,009-35,770)	16,095±7,638 (7,527-28,369)	31
α-carotene	1,334±293 (1,048-1,791)	1,031±632 (301-2,019)	23
ผลรวม	90,563±41,884* (42,025-143,170)	45,669±25,969 (14,901±88,717)	50
สารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัม)			
Quercetin	1,053.68±211.67* (710.71-1,356.68)	583.47±143.50 (328.83-759.82)	45
Kaempferol	53.63±26.18 (17.40-98.75)	28.82±16.24 (8.88-56.82)	46
Luteolin	242.78±76.72 (139.24-306.26)	174.88±59.10 (92.88-262.05)	28
Apigenin	12.58±4.17 (9.58-20.57)	8.73±3.53 (5.95-15.70)	31
ผลรวม	1,362.66±238.12* (1,057.10-1,782.26)	795.90±170.44 (538.89-1,046.62)	42
สารประกอบฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัม GAE ³)	2,266.28±189.91* (1,991.52-2,537.54)	1,205.16±205.57 (1,046.36-1,557.53)	47

¹ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)

² แสดงค่าเป็นช่วง (ค่าต่ำสุด-สูงสุด)

³ GAE = gallic acid equivalent

* แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทดสอบด้วยวิธี Student's *t*-test

4.5.2 ผลของการลวกต่อสมบัติเชิงสุขภาพของตะคึก

4.5.2.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบในหลอดทดลอง

ตารางที่ 2-13 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองก่อน และหลังการลวกตะคึก (ต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) ทดสอบด้วยวิธี ORAC และ DPPH พร้อมทั้งร้อยละการลดลง การทดสอบฤทธิ์

ด้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธี ให้ผลสอดคล้องกันคือ หลังการลวกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะกีกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติร้อยละ 50 และ 57 ตามลำดับ

ตารางที่ 2-13 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ORAC และ DPPH ของส่วนที่กินได้ของตะกีก (ยอด ใบอ่อน และดอก) ก่อน และหลังผ่านการลวก (ต่อ กรัม น้ำหนักแห้ง) และร้อยละของการคงอยู่^{1,2}

	ก่อนลวก	หลังลวก	ร้อยละการลดลง
ค่า ORAC (ไมโครกรัม TE)	1,466.55±220.96* (1,112.85-1,687.38) ³	738.30±160.19 (517.07-927.72)	50
ค่า DPPH (ไมโครกรัม TE ²)	83.40±40.61* (38.93-141.57)	36.23±10.22 (27.80-51.57)	57

¹ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)

²TE = trolox equivalent

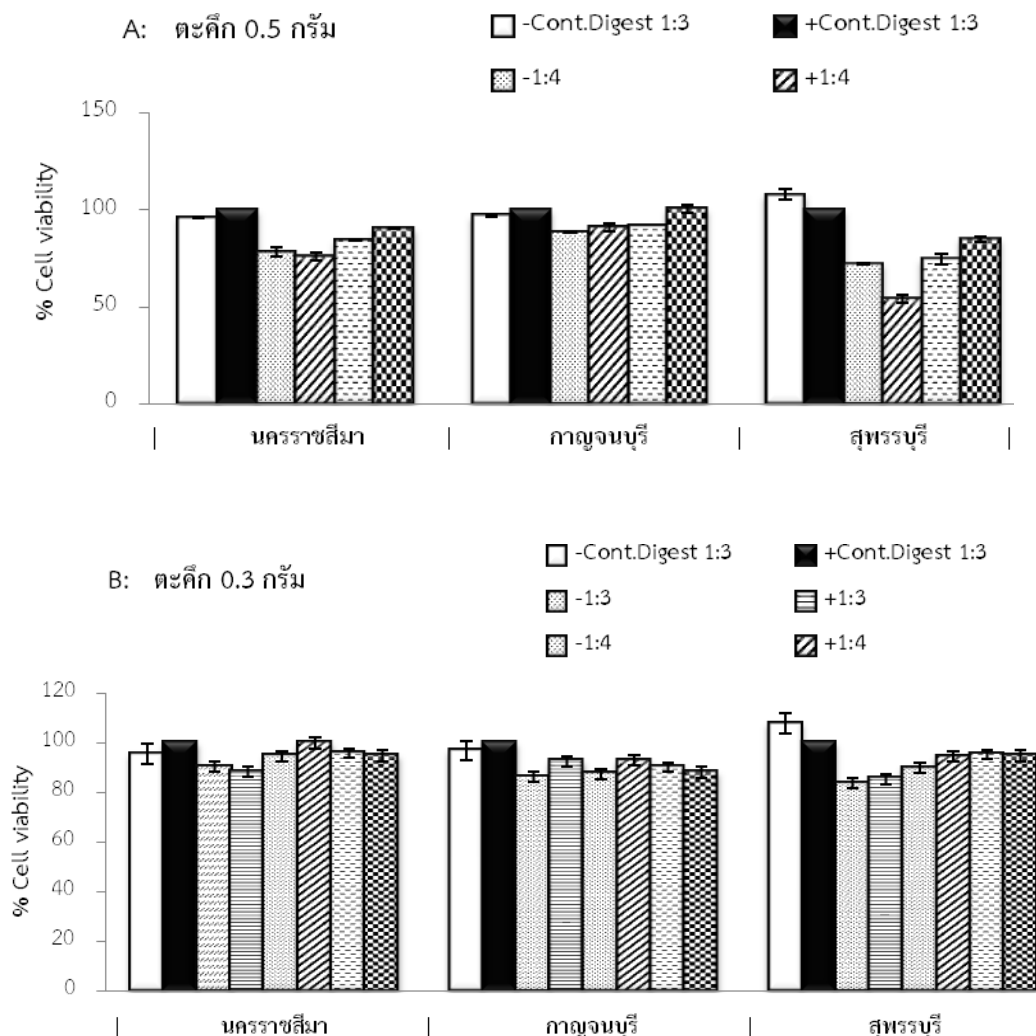
³แสดงค่าเป็นช่วง (ค่าต่ำสุด-สูงสุด)

*แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทดสอบด้วยวิธี Student's *t*-test

4.6 สมบัติเชิงสุขภาพของตะกีกลวกเมื่อทดสอบด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4.6.1 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของ bioaccessible fraction

จากผลการศึกษาพบว่าค่าการดูดกลืนแสง (optical density; OD) ที่วัดจาก bioaccessible fraction ของตะกีกลวกทั้ง 3 ตัวอย่างน้ำหนัก 0.5 กรัมทั้ง 3 อัตราส่วน (เจือจาง 1:3 1:4 และ 1:5) มีค่าการดูดกลืนแสงต่างจากในกลุ่ม positive control ซึ่งการคำนวณปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (viability) ทั้ง 3 ตัวอย่าง มีอัตราการรอดของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 80 โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อัตราส่วน 1:3 ทำให้เซลล์หลุดออกมาแสดงว่าอัตราส่วนดังกล่าวก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างรุนแรง แต่ในกลุ่มที่ใช้ตะกีกลวกน้ำหนัก 0.3 กรัมที่อัตราส่วน 1:3 มีอัตราการรอดของเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 90 ในขณะที่อัตราส่วน 1:4 และ 1:5 มีค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างจากในกลุ่มควบคุมที่คิดเป็นร้อยละ 100 ซึ่งการคำนวณปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตทั้ง 3 ตัวอย่าง มีอัตราการรอดของเซลล์มากกว่าร้อยละ 90 ดังแสดงในรูปที่ 2-17 แสดงว่าอัตราส่วนดังกล่าวไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้น ในการศึกษาต่อไปเพื่อหาประสิทธิภาพในการลดตัวชี้วัดการอักเสบ และลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ ลำไส้เล็กที่เหนี่ยวนำให้อักเสบจากตะกีกใช้ตะกีก 0.3 กรัม มาผ่านการย่อย และทำการเจือจาง aqueous fraction ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์มาตรฐานที่ปราศจากซีรัมตามอัตราส่วน 1:4

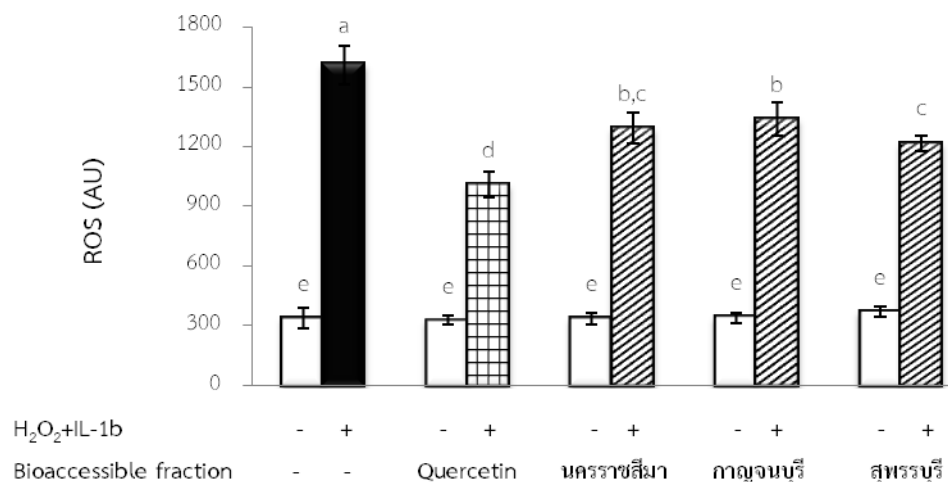


รูปที่ 2-17 ผลของตะคึกที่ผ่านการย่อย (bioaccessible fraction) ทั้ง 3 ตัวอย่าง จาก 3 จังหวัด น้ำหนัก 0.5 กรัม (A) และ 0.3 กรัม (B) ต่อจำนวนเซลล์ลำไส้ที่มีชีวิต (% cell viability) โดยเจือจาง aqueous fraction ด้วยน้ำยาเลี้ยงเซลล์มาตรฐานที่ปราศจากซีรัมตามอัตราส่วน 1:3 1:4 และ 1:5 (ปริมาตร/ปริมาตร) บ่มกับเซลล์ Caco-2 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้น กระตุ้นเซลล์ด้วย 1 mM H_2O_2 30 นาที และกระตุ้นต่อด้วย 10 ng/ml IL-1 β เก็บเซลล์เพื่อมาหาอัตราการรอดชีวิตด้วยวิธี SRB assay; (-) คือกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่มีตัวอย่างตะคึกที่ไม่ถูกกระตุ้นด้วย H_2O_2 +IL-1 β ; (+) คือกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่มีตัวอย่างตะคึกที่ถูกกระตุ้นด้วย H_2O_2 +IL-1 β ; ใน รูป (A) ตะคึก 0.5 กรัม ที่อัตราส่วน 1:3 ทำให้เซลล์หลุด

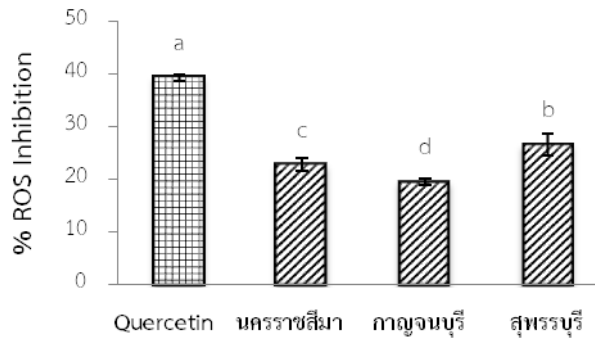
4.6.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของตะคึกที่ผ่านการย่อยในการลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ลำไส้เล็ก (antioxidant activity)

การประเมินประสิทธิภาพในการลดอนุมูลอิสระของอาหารในเซลล์นั้นใช้วิธีวัดปริมาณอนุมูลอิสระ ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress ซึ่งแปรผันตามความเข้มของการเรืองแสง (fluorescent intensity) จากการศึกษาพบว่าเซลล์ลำไส้ในกลุ่มควบคุมลบ (กลุ่มที่เลี้ยงร่วมกับ

bioaccessible fraction ที่ไม่มีตะกั่ว) มีค่าความเข้มของการเรืองแสงประมาณ 342 ± 54 Arbitrarily Units (AU) เมื่อกระตุ้นเซลล์ด้วย H_2O_2 ที่ความเข้มข้น 1 mM เป็นเวลา 30 นาที และตามด้วย IL-1 β ที่ความเข้มข้น 10 ng/ml เป็นเวลา 20 ชั่วโมงมีค่าความเข้มของการเรืองแสงเพิ่มขึ้นประมาณ 4.7 เท่า ($1,611 \pm 97$ AU) ดังแสดงในรูปที่ 2-18 เมื่อเลี้ยงเซลล์ใส่กับส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกั่วทั้ง 3 ตัวอย่าง (bioaccessible fraction with food) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress พบว่าความเข้มของการเรืองแสงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เทียบกับกลุ่มควบคุมบวก (bioaccessible fraction without food + H_2O_2 + IL-1 β) จะเห็นว่าในกลุ่มของสารมาตรฐาน (quercetin) สามารถลดความเข้มของการเรืองแสงได้มากที่สุด ($1,010 \pm 66$ AU) ส่วนในกลุ่มของตะกั่วมีความสามารถในการลดความเข้มของการเรืองแสงได้เช่นกัน โดยสามารถเรียงลำดับของตะกั่วจากจังหวัดที่มีความสามารถลดความเข้มของการเรืองแสงจากมากไปน้อยได้ดังนี้ จังหวัดสุพรรณบุรี นครราชสีมา และกาญจนบุรี ($1,219 \pm 39$ AU, $1,295 \pm 75$ AU และ $1,338 \pm 84$ AU ตามลำดับ) เมื่อนำค่าความเข้มของการเรืองแสงมาคำนวณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ(% inhibition) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับตัวกระตุ้นเพียงอย่างเดียว (positive control) พบว่า quercetin ซึ่งเป็นสารมาตรฐานสามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 39 ± 0.5 ส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกั่วทั้ง 3 จังหวัดสามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ตั้งแต่ร้อยละ 20-27 โดยตะกั่วจากจังหวัดสุพรรณบุรีลดอนุมูลอิสระได้มากที่สุด (ร้อยละ 27 ± 2.0) ในขณะที่ ส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกั่วจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรีสามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 23 ± 1.2 และ 20 ± 0.6 ตามลำดับ โดยตะกั่วจากทั้ง 3 จังหวัดมีความสามารถในการลดการเกิดอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 2-19



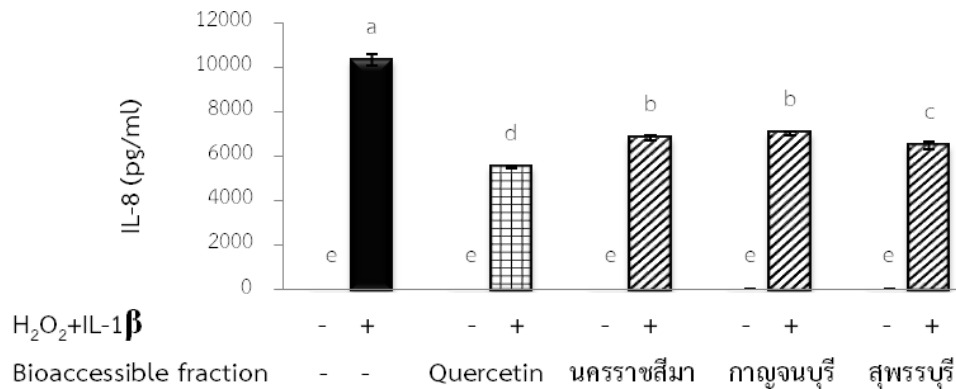
รูปที่ 2-18 ผลของตะกั่วจาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรีและสุพรรณบุรี หลังจากเลียนแบบการย่อย และสารมาตรฐาน (quercetin) ต่อปริมาณอนุมูลอิสระ (ROS) ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ร่วมกับ bioaccessible fraction ที่มี/ไม่มีตะกั่ว (เจือจาง aqueous fraction 1:4) เป็นเวลา 4 ชั่วโมงก่อนเหนี่ยวนำด้วย $H_2O_2 + IL-1\beta$ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n = 3$), อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



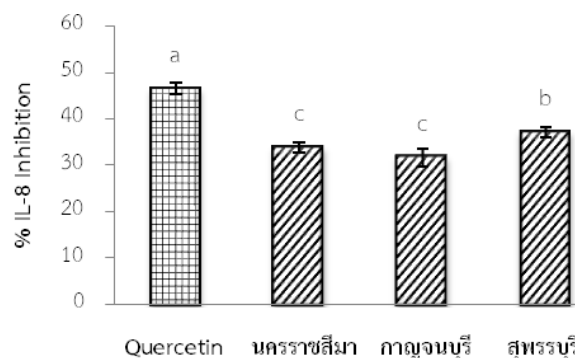
รูปที่ 2-19 เปรียบเทียบร้อยละของความสามารถในการลดอนุมูลอิสระของส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกิลวกจาก จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี หลังจากเลียนแบบการย่อยในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด ภาวะการอักเสบ และ oxidative stress โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ร่วมกับ bioaccessible fraction ที่มี/ไม่มีตะกิลวก (เจือจาง aqueous fraction 1:4) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนเหนี่ยวนำด้วย H_2O_2 + IL-1 β ค่าที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($p \leq 0.05$)

4.6.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของตะกิลวกที่ผ่านการย่อยในการลดการอักเสบภายใน เซลล์ลำไส้เล็ก (anti-inflammatory activity)

IL-8 และ MCP-1 เป็น chemokines หลักที่เซลล์ลำไส้หลั่งออกมาเมื่อถูกกระตุ้นให้เกิด ภาวะการอักเสบ และภาวะ oxidative stress (Katayama และ Mine., 2007; Hollebeeck et al., 2012) ในการทดสอบนี้ใช้ 200 μ M quercetin เป็นสารมาตรฐานเป็น quality control (QC) จากผลการทดลองใน**รูปที่ 2-20** พบว่าเซลล์ลำไส้ผลิต IL-8 ได้เล็กน้อย (21 ± 2 pg/ml) เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ ภาวะ oxidative stress เซลล์ผลิต IL-8 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($10,300 \pm 260$ pg/ml) เมื่อเลี้ยงเซลล์ลำไส้กับ ส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกิลวก หรือ 200 μ M quercetin เป็นเวลา 4 ชั่วโมงก่อนกระตุ้นให้เกิดภาวะการ อักเสบและ oxidative stress พบว่า 200 μ M quercetin ลดการผลิต IL-8 ได้ถึงร้อยละ 47 ($5,500 \pm 50$ pg/ml) ส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกิลวกจาก 3 จังหวัดสามารถลดการผลิต IL-8 ได้ตั้งแต่ร้อยละ 32-37 โดยตะกิลวก จากจังหวัดสุพรรณบุรีสามารถลดได้มากที่สุด (ร้อยละ 37; $6,480 \pm 190$ pg/ml) ตามมาด้วยนครราชสีมา (ร้อยละ 34; $6,830 \pm 120$ pg/ml) และกาญจนบุรี (ร้อยละ 32; $7,040 \pm 95$ pg/ml) ตามลำดับ โดยความสามารถในการลด การผลิต IL-8 ของตะกิลวกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทั้ง 2 จังหวัด ($p < 0.05$) ในขณะที่ ตะกิลวกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งเป็นไปใน ทิศทางเดียวกับผลการทดสอบฤทธิ์ในการลดอนุมูลอิสระ (ROS inhibition) ดังแสดงใน**รูปที่ 2-21**



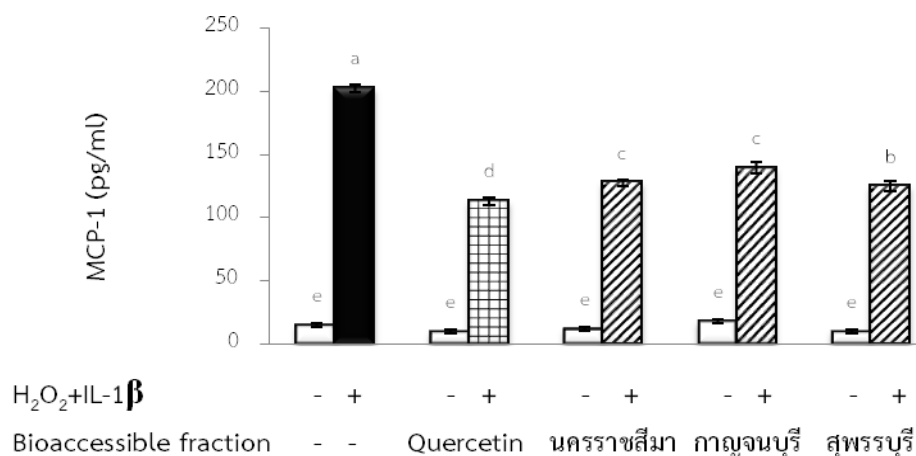
รูปที่ 2-20 ผลของตะกิลจากจังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี หลังเลียนแบบการย่อย และสารมาตรฐาน (quercetin) ต่อปริมาณ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ร่วมกับ bioaccessible fraction ที่มี/ไม่มีตะกิล (เจือจาง aqueous fraction 1:4) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนเหนี่ยวนำด้วย H₂O₂ + IL-1β ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)



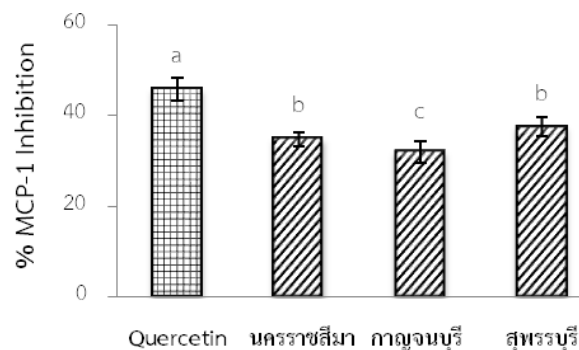
รูปที่ 2-21 เปรียบเทียบร้อยละของความสามารถในการลดปริมาณ IL-8 ของส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกิลจาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ร่วมกับ bioaccessible fraction ที่มี/ไม่มีตะกิล (เจือจาง aqueous fraction 1:4) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนเหนี่ยวนำด้วย H₂O₂ + IL-1β ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

จากรูปที่ 2-22 จะเห็นว่าเซลล์ลำไส้ผลิต MCP-1 ได้เล็กน้อย (14±4 pg/ml) เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ ภาวะ oxidative stress เซลล์ผลิต MCP-1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (203±3 pg/ml) เมื่อเลี้ยงเซลล์ลำไส้กับส่วนที่ผ่านการย่อยของอาหาร หรือ 200 uM quercetin เป็นเวลา 4 ชั่วโมงก่อนกระตุ้นให้เกิดภาวะการอักเสบและ oxidative stress พบว่า quercetin ลดการผลิต MCP-1 ได้ถึงร้อยละ 46 (113±3 pg/ml) ส่วนที่ผ่านการย่อยของส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกิลจาก 3 จังหวัดสามารถลดการผลิต MCP-1 ได้ตั้งแต่ร้อยละ 32-37 ตะกิลจากจังหวัดสุพรรณบุรีลดได้มากที่สุด (ร้อยละ 37; 125±4 pg/ml) ตามมาด้วยตะกิลจากจังหวัดนครราชสีมา (ร้อยละ 35; 127±2 pg/ml) และจังหวัดกาญจนบุรี (ร้อยละ 32; 139±5 pg/ml) ตามลำดับ โดยความสามารถในการลดการผลิต MCP-1 ของตะกิลจากจังหวัดนครราชสีมา

และสุพรรณบุรีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ จังหวัดกาญจนบุรีมีความแตกต่างทางสถิติกับ 2 จังหวัดดังกล่าวดังแสดงในรูปที่ 2-23 ซึ่งจะเห็นว่าถึงแม้ตะกั่วที่ผ่านการลวกมาแล้วยังมีความสามารถในการลดปริมาณ IL-8 และ MCP-1 ได้



รูปที่ 2-22 ผลของตะกั่วจากจังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี หลังจากเลียนแบบการย่อย และ สารมาตรฐาน (quercetin) ต่อปริมาณ MCP-1 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ร่วมกับ bioaccessible fraction ที่มี/ไม่มีตะกั่ว (เจือจาง aqueous fraction 1:4) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนเหนี่ยวนำด้วย H₂O₂ + IL-1β ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



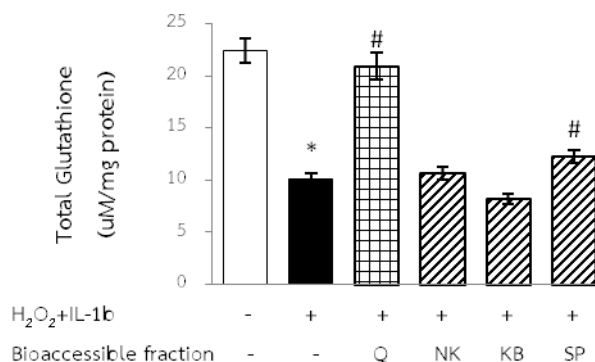
รูปที่ 2-23 เปรียบเทียบร้อยละความสามารถในการลดปริมาณ MCP-1 ของส่วนที่ผ่านการย่อยของตะกั่วจาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ร่วมกับ bioaccessible fraction ที่มี/ไม่มีตะกั่ว (เจือจาง aqueous fraction 1:4) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนเหนี่ยวนำด้วย H₂O₂ + IL-1β ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n = 3) อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.6.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของตะกั่วที่ผ่านการย่อยต่อปริมาณกลูตาไธโอน และ การทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส

กลูตาไธโอนเป็นสารประเภท tripeptide ที่มีส่วนช่วยในการป้องกันการเกิดภาวะ oxidative stress โดยเป็น reduced glutathione เป็นสารตั้งต้นในสังเคราะห์เอนไซม์ในการป้องกันการเกิด

ภาวะ oxidative stress เช่น glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST) เป็นต้น วิธีวิเคราะห์กลูตาไธโอนเป็นวิธีวัดโดยรวมทั้ง reduced และ oxidized glutathione การศึกษานี้เลี้ยงเซลล์ด้วยตะกั่วที่ผ่านการจำลองการย่อยในสภาวะ oxidative stress เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของตะกั่วจาก 3 จังหวัดโดยให้ผลการศึกษาดังแสดงในรูปที่ 2-24 รายงานผลเป็นหน่วย $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ในสภาวะปกติที่เซลล์ลำไส้ไม่ถูกกระตุ้นจะมีปริมาณของ total glutathione ประมาณ $22 \pm 1.2 \mu\text{M}/\text{mg}$ protein ในขณะที่ เซลล์ลำไส้ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด oxidative stress ด้วย $1 \text{ mM H}_2\text{O}_2$ เป็นเวลา 30 นาทีร่วมกับ $10 \text{ ng/ml IL-1}\beta$ เป็นเวลา 20 ชั่วโมงมีระดับของ total glutathione ลดลงถึงร้อยละ 55 ($10 \pm 0.5 \mu\text{M}/\text{mg}$ protein) ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อดูถึงประสิทธิภาพของสารมาตรฐาน (quercetin) และตะกั่วที่ผ่านการจำลองการย่อยจาก 3 จังหวัด โดยการเลี้ยงในเซลล์ลำไส้เป็นเวลา 4 ชั่วโมงก่อนที่จะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress พบว่าเซลล์ลำไส้กลุ่มที่ได้รับ $200 \mu\text{M}$ quercetin มีระดับของ total glutathione เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 52 ($21 \pm 1.3 \mu\text{M}/\text{mg}$ protein) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับตัวกระตุ้นเพียงอย่างเดียว (กลุ่มควบคุมบวก) ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่เซลล์ที่เลี้ยงด้วยตะกั่วที่ผ่านการย่อยจากทั้ง 3 จังหวัดพบว่าระดับของ total glutathione อยู่ในช่วง $8-12 \mu\text{M}/\text{mg}$ protein โดยตะกั่วจากจังหวัดสุพรรณบุรี (SP) สามารถเพิ่มระดับของ total glutathione จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือตะกั่วจากจังหวัดนครราชสีมา (NK) และกาญจนบุรี (KB) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมบวก ดังแสดงในรูปที่ 2-24

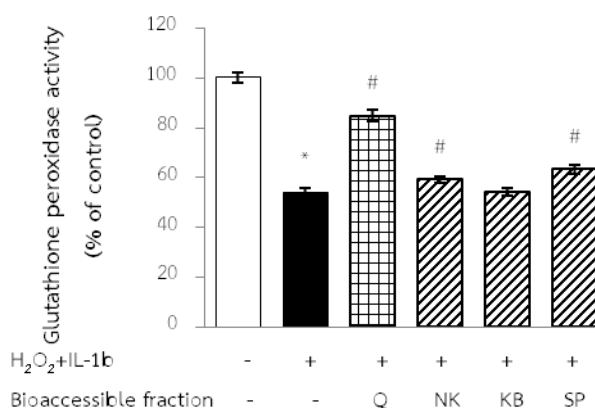


รูปที่ 2-24 ผลของตะกั่วจากจังหวัดนครราชสีมา (NK) กาญจนบุรี (KB) และสุพรรณบุรี (SP) หลังจากเลียนแบบการย่อย และสารมาตรฐาน (quercetin, Q) ต่อปริมาณกลูตาไธโอน (total glutathione) ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ร่วมกับ bioaccessible fraction ที่มี/ไม่มีตะกั่ว (เจือจาง aqueous fraction 1:4) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนเหนี่ยวนำด้วย $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{IL-1}\beta$ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n = 3$) * แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับตัวกระตุ้น (กลุ่มควบคุมลบ) # แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับตัวกระตุ้น (กลุ่มควบคุมบวก)

glutathione peroxidase (GPx) เป็นเอนไซม์สำคัญที่ใช้ในการป้องกันการเกิด oxidative stress โดยใช้ในการเปลี่ยน hydrogen peroxide (H_2O_2) ให้เป็นน้ำ (H_2O) การวิเคราะห์หาปริมาณ GPx activity ใน

การศึกษานี้ใช้ reduced glutathione เป็นตัวกลางทำให้เกิดปฏิกิริยา การศึกษานี้เลี้ยงเซลล์ด้วยตะกั่วที่ผ่านการจำลองการย่อยในสภาวะ oxidative stress เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของตะกั่วที่มาจาก 3 จังหวัดโดยแสดงผลการศึกษาในรูปที่ 2-25 รายงานผลเป็นร้อยละของ GPx activity เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

โดยคิดว่าในสภาวะปกติเซลล์ลำไส้ที่ไม่ถูกกระตุ้นจะมีระดับของ GPx activity คิดเป็นร้อยละ 100 เมื่อเซลล์ลำไส้ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด oxidative stress ด้วย 1 mM H₂O₂ เป็นเวลา 30 นาทีพร้อมกับ 10 ng/ml IL-1 β เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ระดับ GPx activity ลดลงถึงร้อยละ 46 ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อดูถึงประสิทธิภาพของสารมาตรฐาน (quercetin) และตะกั่วที่ผ่านการจำลองการย่อยจาก 3 จังหวัด โดยการเลี้ยงในเซลล์ลำไส้เป็นเวลา 4 ชั่วโมงก่อนที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress ด้วยตัวกระตุ้น พบว่าเซลล์ลำไส้กลุ่มที่ได้รับ 200 uM quercetin มีระดับของ GPx activity เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ถึงร้อยละ 31 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับตัวกระตุ้นเพียงอย่างเดียว (กลุ่มควบคุมบวก) เซลล์ที่เลี้ยงด้วยตะกั่วที่ผ่านการย่อยจากทั้ง 3 จังหวัดพบว่าระดับของ GPx activity อยู่ในช่วงร้อยละ 54-63 ซึ่งตะกั่วที่มาจากจังหวัดสุพรรณบุรี สามารถเพิ่มระดับของ GPx activity จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress ดีที่สุด (ร้อยละ 63) รองลงมาคือตะกั่วที่มาจากจังหวัดนครราชสีมา (ร้อยละ 59) และกาญจนบุรี (ร้อยละ 54) โดยระดับ GPx activity จากจังหวัดสุพรรณบุรี และนครราชสีมาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับตัวกระตุ้นเพียงอย่างเดียว (กลุ่มควบคุมบวก) ในขณะที่ระดับ GPx activity จากจังหวัดกาญจนบุรีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 2-25



รูปที่ 2-25 ผลของตะกั่วที่มาจากจังหวัดนครราชสีมา (NK) กาญจนบุรี (KB) และสุพรรณบุรี (SP) หลังจากเลียนแบบการย่อย และ สารมาตรฐาน (quercetin, Q) ต่อการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (GPx) ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ และ oxidative stress โดยเลี้ยงเซลล์ Caco-2 ร่วมกับ bioaccessible fraction ที่มี/ไม่มีตะกั่ว (เจือจาง aqueous fraction 1:4) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนเหนี่ยวนำด้วย H₂O₂ + IL-1 β ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n = 3$) * แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับตัวกระตุ้น (กลุ่มควบคุมลบ) # แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับตัวกระตุ้น (กลุ่มควบคุมบวก)

5. อภิปรายและวิจารณ์ผล

5.1 ข้อมูลเบื้องต้นของแหล่งตะกิกในพื้นที่ต่างๆ

จากการสืบค้นข้อมูลเบื้องต้นของแหล่งตะกิกในประเทศไทย ผ่านทางแบบสอบถามแสดงให้เห็นว่าสามารถพบตะกิกได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย การนำตะกิกมาปรุงอาหารนั้น สามารถทำได้หลากหลายตำรับ โดยหลักๆ แล้วจะมีการนำมาลวก หรือต้ม จิ้มกับน้ำพริก และทำเป็นแกงชนิดต่างๆ รวมถึงการนำมาผัดน้ำมันหอย นอกจากนี้ จากการสืบค้นข้อมูลทางอินเทอร์เน็ต ยังพบว่าที่จังหวัดขอนแก่นเป็นอีกจังหวัดหนึ่งที่มีการนำยอด และใบอ่อนตะกิกมาประกอบอาหาร (อาราม ลำพูน) ปัจจุบัน บริษัท เอส.เอ.พี.เหมืองแร่ จำกัด สนามกอล์ฟบลูแซฟไฟร์ แอนด์ รีสอร์ท อ.บ่อพลอย จ.กาญจนบุรี ได้นำตะกิกมาปรุงเป็นอาหารชนิดต่างๆ เพื่อเสิร์ฟให้นักท่องเที่ยวได้บริโภค

5.2 ตัวอย่างยอด และใบอ่อนตะกิกจาก 3 พื้นที่

ตัวอย่างตะกิกทั้งหมด 49 ต้น เก็บมาศึกษาจาก 3 พื้นที่ (สุพรรณบุรี 12 ต้น นครราชสีมา 17 ต้น และกาญจนบุรี 20 ต้น) ตะกิกบางต้นมีแต่ยอด และใบอ่อน แต่บางต้นกำลังมีดอกอ่อนที่สามารถนำมาบริโภคได้ ดังนั้น ทางคณะวิจัยจึงได้เก็บตัวอย่างทั้ง 2 แบบมาศึกษา นอกจากนี้ ยังพบว่าลักษณะของยอด และใบอ่อนตะกิกบางต้นมีความแตกต่างกันแม้จะเป็นตะกิกที่ขึ้นในจังหวัดเดียวกันก็ตาม ดังเช่นรูปที่ 2-4 ซึ่งตะกิกมีทั้งลักษณะที่ยอด และใบอ่อนยาว และตะกิกที่มีลักษณะที่ยอด และใบอ่อนสั้น ทั้งนี้เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน จากการสังเกตพบว่า สำหรับในจังหวัดเดียวกัน หากพื้นที่มีลักษณะแห้งแล้ง ยอด ใบอ่อน และดอกตะกิกมีลักษณะสั้น ในขณะที่ พื้นที่ๆ มีความอุดมสมบูรณ์ ยอด ใบอ่อน และดอกตะกิกมีลักษณะยาว จากข้อมูลอุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝนในเดือนมีนาคม 2557 ซึ่งเป็นช่วงที่เก็บตัวอย่างตะกิก พบว่าจังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี มีอุณหภูมิ 30.2, 30.1 และ 29.5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และมีปริมาณน้ำฝน 27.0, 7.5 และ 0 มิลลิเมตรตามลำดับ (กรมอุตุนิยมวิทยา) นอกจากนี้ แต่ละพื้นที่ยังมีลักษณะดินที่แตกต่างกันไป อ.ชุมพวง จ.นครราชสีมา มีดินกลุ่มดินเหนียวลึกมากที่เกิดจากตะกอนลำน้ำ ดินมีความเป็นกลางถึงด่าง การระบายน้ำไม่ดี มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง (สำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ที่ดิน) ในขณะที่ดิน อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี เป็นดินภูเขาไม่เหมาะกับการทำการเกษตร (มูมการจัดการความรู้ศูนย์วิจัยข้าวสุพรรณบุรี) สำหรับดินที่ จ.สุพรรณบุรี เป็นชุดดินที่เหมาะสมกับการปลูกข้าว ซึ่งเป็นดินเหนียว ดินบนมีสีเทา หรือสีดำ มีความอุดมสมบูรณ์ตามธรรมชาติค่อนข้างต่ำถึงสูง (มูมการจัดการความรู้ศูนย์วิจัยข้าวสุพรรณบุรี) ซึ่งลักษณะของดินที่แตกต่างกัน อาจมีผลต่อปริมาณแร่ธาตุในดินที่แตกต่างกันด้วย ทั้งนี้มีงานวิจัยที่แสดงผลของปริมาณแสงแดด น้ำ ความแห้งแล้ง ที่มีผลต่อลักษณะของใบพืช โดยพืชที่อยู่ในบริเวณที่มีน้ำน้อย หรือในพื้นที่ที่แห้งแล้ง ใบจะมีลักษณะเล็ก แคบ หากพืชได้รับแสงแดดไม่เพียงพอใบจะกว้าง รวมถึงแร่ธาตุในดินที่มีผลต่อลักษณะของใบของพืชเช่นเดียวกัน (Barkatullah et al., 2012; Xu et al., 2009; Xu et al., 2008; Niinemets and Kull, 2003)

5.3 ความหลากหลายทางพันธุกรรมของตะกิกจาก 3 พื้นที่

5.3.1 การทดสอบตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์

การทดสอบตัวอย่างดีเอ็นเอตะกิกด้วยไพรเมอร์ *matK*, *rbcL* และ *ITS2* โดยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่ายีน *matK* และยีน *rbcL* ให้แถบดีเอ็นเอ 1 แถบ (รูปที่ 2-2 และ 2-3) ในขณะที่ยีน *ITS2* ให้แถบดีเอ็นเอ

เอ 2 แถบ (รูปที่ 2-4) แสดงว่าไพรเมอร์ ITS2 ไม่มีความจำเพาะเจาะจงในตัวอย่างตะคิก จึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยวิธี direct sequencing ได้ ดังนั้น จึงใช้เฉพาะผลผลิตพีซีอาร์จากยีน *matK* และ *rbcl* ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงมาวิเคราะห์หาลำดับเบสต่อไป

5.3.2 การประเมินประสิทธิภาพของ เครื่องหมายดีเอ็นเอบาร์โค้ดในการจำแนกสปีชีส์ด้วยวิธีการวิเคราะห์แผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ด้วยวิธี Neighbour-Joining

แผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ *matK* (รูปที่ 2-5) แสดงการแยกกลุ่ม (cluster) ของตะคิกออกจากพืชกลุ่มอื่นๆ ในสกุลเดียวกันได้อย่างชัดเจน โดยตะคิกที่เก็บจากพื้นที่ที่ต่างกันไม่ค่อยมีความแตกต่างทางพันธุกรรม ยกเว้น KB16 ซึ่งเก็บมาจากจังหวัดกาญจนบุรี และ NK5 ซึ่งเก็บมาจากจังหวัดนครราชสีมา ที่มีความต่างจากตะคิกตัวอย่างอื่นๆ เพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจเกิดจากลำดับเบสของตะคิก KB16 และ NK5 ที่ต่างจากตะคิกตัวอย่างอื่นๆ หรืออาจเกิดจากความผิดพลาดของการอ่านลำดับเบสโดยเครื่องที่ใช้ในการวิเคราะห์หาลำดับเบส ในขณะที่ แผนผังแสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ *rbcl* สามารถแยกกลุ่มของตะคิกออกจากพืชกลุ่มอื่นๆ ในสกุลเดียวกันได้น้อยกว่าการใช้ไพรเมอร์ *matK* ดังแสดงใน รูปที่ 2-6

5.4 คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของตะคิกสด

5.4.1 คุณค่าทางโภชนาการของยอด และใบอ่อนตะคิกสด

คุณค่าทางโภชนาการ (ต่อ 100 กรัม น้ำหนักเปียก) ของส่วนที่กินได้ของตะคิกสด (ยอด ใบอ่อน ดอก กรณีที่มีดอก) แสดงในตารางที่ 2-8 แสดงให้เห็นถึงความแปรผันของคุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณแร่ธาตุ) ของตะคิกจากพื้นที่ต่างๆ โดยพบว่าตะคิกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ใยอาหาร โพลีฟีนอล แคลเซียม แมกนีเซียม และเหล็กสูงกว่าตะคิกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากปริมาณความชื้นของตะคิกที่เก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่าต่ำกว่าจังหวัดอื่นๆ เมื่อคำนวณคุณค่าทางโภชนาการของตะคิกบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 2-14) พบว่าคุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณแร่ธาตุของตะคิกจากพื้นที่ต่างๆ มีค่าไม่แตกต่างกัน ยกเว้นปริมาณแคลเซียมของตะคิกจากจังหวัดนครราชสีมา และปริมาณโซเดียมของตะคิกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่าต่ำกว่าจังหวัดอื่นๆ อย่างไรก็ตาม จากผลวิเคราะห์ แสดงให้เห็นว่าตะคิกมีโปรตีน ใยอาหาร และเหล็กค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับค่าดังกล่าวของตะคิกที่เก็บบริเวณเขื่อนศรีนครินทร์ที่รายงานโดยสมศรี และคณะ (2552-2554) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันกับค่าที่วิเคราะห์ได้ในการศึกษาครั้งนี้ อย่างไรก็ตาม ปริมาณของโซเดียม และแมกนีเซียมของตะคิกในรายงานของสมศรี และคณะ (2552-2554) มีค่าต่างจากตะคิกที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ นอกจากนี้ ยังพบว่าโปรตีนของตะคิกประเทศไทยมีปริมาณสูงกว่าโปรตีนของตะคิกประเทศอียิปต์ ในขณะที่ แนวโน้มของปริมาณแร่ธาตุของตะคิกประเทศไทยกับตะคิกประเทศอียิปต์เป็นไปในทางเดียวกัน โดยโพลีฟีนอลเป็นแร่ธาตุที่ตะคิกมีในปริมาณที่สูงที่สุด อย่างไรก็ตาม ปริมาณของแร่ธาตุเกือบทุกชนิดยกเว้นแคลเซียมที่พบในใบตะคิกประเทศอียิปต์มีค่าแตกต่างกับค่าที่วิเคราะห์ได้ในยอด และใบอ่อนตะคิกประเทศไทย (El-Hawary et al. 2011) ในขณะที่ ใบของ *Albizia lebbeck* (L.) ในประเทศอินเดียมีปริมาณแร่ธาตุใกล้เคียงกับประเทศอียิปต์ และมีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าที่พบในประเทศไทยอย่างมาก ดังแสดงในตารางที่ 2-14

ตารางที่ 2-14 คุณค่าทางโภชนาการของส่วนที่กินได้ของตะคึก (ยอด ใบอ่อน ดอก กรณิที่มีดอก) จากพื้นที่จังหวัด นครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี (ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) เปรียบเทียบกับการศึกษาอื่นๆ^{1,2}

	งานวิจัยนี้			สมศรี และคณะ (2552-2554)	El-Hawary et al. (2011)	Malla et al. (2014)
	นครราชสีมา	กาญจนบุรี	สุพรรณบุรี	กาญจนบุรี	อียิปต์	อินเดีย
สารอาหารหลัก						
พลังงาน (แคลลอรี่)	400±2	396±6	395±4	390	-	-
โปรตีน (กรัม)	43.24±4.24	46.11±2.60	43.02±2.40	40.33	15.14	-
ไขมัน (กรัม)	4.94±0.30	4.33±1.00	4.14±0.82	3.31	-	-
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	45.53±4.13	43.13±3.49	46.49±3.28	49.72	-	-
ใยอาหาร (กรัม)	28.24±1.32	26.66±1.45	28.73±1.96	31	-	-
เถ้า (กรัม)	6.29±0.55	6.43±0.49	6.35±0.22	6.63	-	-
แร่ธาตุ (มิลลิกรัม)						
แคลเซียม	173±86b	324±35 ^a	253±58 ^{ab}	260	168.80	157.80
ฟอสฟอรัส	605±94	634±24	576±55	552	-	-
โซเดียม	169±66 ^a	110±25 ^a	70±15b	44	253.50	263.42
โพแทสเซียม	1658±203	1894±179	1833±119	1818	660.90	578.30
แมกนีเซียม	224±20	232±8	218±26	331	147.40	141.50
เหล็ก	7.22±0.68	7.20±0.48	9.42±1.82	8.23	-	39.12

¹ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=4)

² เปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณแร่ธาตุระหว่างตัวอย่างที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ โดยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละแถวเดียวกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทดสอบด้วยวิธี Duncan's Multiple range test

ความแปรผันของคุณค่าทางโภชนาการ และปริมาณแร่ธาตุของตะคึกจากแต่ละพื้นที่ที่พบในงานวิจัยนี้ หรือเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา อาจมีสาเหตุมาจากพื้นที่ปลูกที่ต่างกัน รวมถึงปีที่เก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์ การศึกษาของ Bhardwaj and Hamama (2009) พบว่าการปลูกคาโนล่า (4 พันธุ์) ในพื้นที่ (3 พื้นที่) และปีที่ต่างกัน (ปี ค.ศ. 2001-2002 และ ค.ศ. 2002-2003) ในรัฐเวอร์จิเนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้มีปริมาณของแร่ธาตุที่แตกต่างกันไป นอกจากนี้ งานวิจัยของ Burešová et al. (2010) ยังพบว่าการปลูกข้าวทรีเคิลี่ 4 พันธุ์ ที่เก็บผลผลิตในปี ค.ศ. 2006 และ ค.ศ. 2007 ใน 2 พื้นที่ของสาธารณรัฐเชค ให้ปริมาณแป้ง และโปรตีนที่แตกต่างกันเช่นเดียวกัน งานวิจัยของ Barkatullah et al. (2012) พบว่าความแห้งแล้งมีผลต่อปริมาณแร่ธาตุของต้นอ่อนคาโนล่า อีกทั้ง ในงานวิจัยนี้เก็บตัวอย่างยอด และใบตะคึกจากต้นที่สามารถให้ผลผลิตได้ ซึ่งอาจจะมีการเจริญเติบโตของพืชไม่เท่ากันในแต่ละต้น ทำให้มีสารคุณค่าทางโภชนาการ และแร่ธาตุมีปริมาณต่างกันไป ดังแสดงในงานวิจัยของ Mirdehghan and Rahemi (2007)

5.4.2 สารออกฤทธิ์ชีวภาพของตะคึกสด

ในงานวิจัยนี้ ศึกษาสารออกฤทธิ์ชีวภาพของตะคึก 4 กลุ่ม ได้แก่ วิตามินซี คาโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกรวม ดังแสดงในตารางที่ 2-9

วิตามินซี (ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายน้ำ ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีมากในผักและผลไม้สด ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้จึงต้องได้รับมาจากอาหารเท่านั้น (Berdanier and Zeampleni 2009) วิตามินซีจากตะกั้งทั้ง 3 พื้นที่มีค่าไม่แตกต่างกัน เมื่อคำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักเปียก และมีปริมาณใกล้เคียงกับกีวี (ผลเขียว) 1 ถ้วย (160 กรัม, 166.9 มิลลิกรัม) ฝักระมรด 1 ถ้วย (100 กรัม, 141.0 มิลลิกรัม) ลิ้นจี่ 1 ถ้วย (190 กรัม, 135.8 มิลลิกรัม) (USDA, 2013) ซึ่งแสดงว่าตะกั้งมีปริมาณวิตามินซีค่อนข้างสูง เมื่อคำนวณบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง (100 กรัม) พบว่าตะกั้งจากจังหวัดนครราชสีมา (934.90 ± 162.76 มิลลิกรัม) และกาญจนบุรี (888.95 ± 65.60 มิลลิกรัม) มีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าตะกั้งจากจังหวัดสุพรรณบุรี (606.18 ± 157.61 มิลลิกรัม) และมีค่าใกล้เคียงกับตะกั้งจากเขื่อนศรีนครินทร์ที่รายงานโดยสมศรี และคณะ (2552-2554) (889.50 มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

คาโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุสีเหลือง แดง และส้ม ที่สามารถละลายได้ในไขมัน สร้างโดยพืช และจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย เห็ด รา และสาหร่าย สารในกลุ่มนี้มีมากกว่า 600 ชนิด ทำหน้าที่ช่วยในการสังเคราะห์แสง และปกป้องเซลล์พืชจากการถูกทำลายด้วยแสง (de Quirós and Casta 2006, Krinsky et al. 2005, Demmig-Adams et al. 1996) สารในกลุ่มนี้บางชนิด เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ เช่น β -carotene และ α -carotene นอกจากนี้ สารในกลุ่มนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการรักษาสุขภาพ และเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้เข้มแข็งในมนุษย์ (Cooper et al. 1999, Van Den Berg and Van Vliet 1998) ช่วยปกป้องเซลล์ของจอประสาทตาไม่ให้ถูกทำลายโดยการลดอนุมูลอิสระ แสงแดด และกรองแสงสีน้ำเงินที่จะทำลายดวงตา (Jungmans et al., 2001; Shaban and Richter 2002) ผลการศึกษาพบคาโรทีนอยด์ 3 ชนิด เรียงตามลำดับปริมาณจากมากไปน้อยได้ดังนี้ lutein, β -carotene และ α -carotene โดย lutein เป็นคาโรทีนอยด์ในกลุ่ม xanthophyll ในขณะที่ β -carotene และ α -carotene อยู่ในกลุ่ม carotene เมื่อคำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักเปียก หรือน้ำหนักแห้งก็ไม่มี ความแตกต่างของปริมาณคาโรทีนอยด์แต่ละชนิด รวมถึงผลรวมคาโรทีนอยด์ระหว่าง 3 จังหวัดเช่นเดียวกัน แต่มีแนวโน้มว่า จังหวัดนครราชสีมา มีปริมาณคาโรทีนอยด์สูงกว่ากาญจนบุรี และสุพรรณบุรี ตามลำดับ (ปริมาณคาโรทีนอยด์ lutein, β -carotene, α -carotene และผลรวมคาโรทีนอยด์ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง คือ จังหวัดนครราชสีมา $80,025 \pm 48,431$; $26,372 \pm 12,046$; $1,133 \pm 508$; $107,484 \pm 60,553$ มิลลิกรัม ตามลำดับ, จังหวัดกาญจนบุรี $53,501 \pm 6,448$; $23,491 \pm 5,265$; $1,183 \pm 86$; $78,174 \pm 7,847$ มิลลิกรัม และจังหวัดสุพรรณบุรี $48,137 \pm 19,449$; $16,652 \pm 3,682$; $1,361 \pm 385$; $66,151 \pm 22,784$ มิลลิกรัม ตามลำดับ ตามลำดับ) และเป็นที่สังเกตว่าหากตะกั้งต้นโตอยู่ใกล้แหล่งน้ำ จะมีปริมาณคาโรทีนอยด์ต่ำกว่าตะกั้งที่ขึ้นบริเวณที่ไม่อยู่ใกล้แหล่งน้ำ เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลที่รายงานโดยสมศรี และคณะ (2552-2554) ตะกั้งบริเวณเขื่อนศรีนครินทร์ประกอบด้วยคาโรทีนอยด์ 4 ชนิด ได้แก่ lutein, β -carotene, α -carotene และที่เพิ่มขึ้นมาคือ zeaxanthin โดยมีค่า 23,945; 16,249; 939 และ 2,215 มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และมีผลรวมคาโรทีนอยด์ 43,328 มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งมีค่าแตกต่างกับค่าที่วิเคราะห์ได้จากงานวิจัยนี้ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาคาโรทีนอยด์ในยอดและใบตะกั้งในประเทศอื่นๆ

ฟลาโวนอยด์เป็นสารออกฤทธิ์ชีวภาพในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พืชสร้างขึ้น สามารถแสดงศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดี พบในทั้งผัก และผลไม้ สารในกลุ่มนี้มีมากกว่า 6467 ชนิด (Harborne and Williams 2000) การศึกษาในเชิงระบาดวิทยายังแสดงให้เห็นว่ากลุ่มประชากรที่ได้รับฟลาโวนอยด์ในปริมาณ 30 มก.ต่อวัน มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ และหลอดเลือดน้อยกว่าผู้ที่ได้รับฟลา

โวนอยด์ต่อวันเพียงเล็กน้อยหรือไม่ได้รับเลย (Yochum et al. 1999, Hertog et al. 1997, Knekt et al. 1996, Hertog et al. 1993) โดยทั่วไปฟลาโวนอยด์ในพืชอยู่ในรูปที่มีน้ำตาลมาเกาะ (flavonoid glycoside) ทำให้สามารถละลายน้ำได้ดี (Erlund 2004, Harborne and Williams 2000, Hollman and Katan 1999) อย่างไรก็ตาม ฟลาโวนอยด์ในรูปแบบดังกล่าวมีหลากหลายชนิด และบางชนิดไม่มีสารมาตรฐานจำหน่าย ดังนั้น งานวิจัยนี้วิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ในรูปของฟลาโวนอยด์ที่ไม่มีน้ำตาล (aglycone) โดยการตัดพันธะของฟลาโวนอยด์ที่ต่อกับน้ำตาลก่อนด้วยการย่อยด้วยกรด (Merken and Beecher 2000) กรดฟีนอลิกเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกเช่นเดียวกับสารฟลาโวนอยด์ พบได้ทั้งในธัญชาติ มันฝรั่ง แครอท มะเขือเทศ และผลไม้ประเภทเบอร์รี่ เป็นต้น กรดฟีนอลิกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ยับยั้งการเกิดเนื้องอก ควบคุมการจับตัวของเกล็ดเลือด ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล (Butsat and Siriamornpun, 2010; Zhou et al., 2004) ผลการวิเคราะห์สารทั้ง 2 กลุ่มในตะกิก พบเพียงสารฟลาโวนอยด์ 4 ชนิด แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม flavonol ได้แก่ quercetin และ kaempferol และกลุ่ม flavone ได้แก่ luteolin และ apigenin สอดคล้องกับรายงานของ Kokila et al. (2013) ที่แสดงว่าใบของ *Albizia lebbeck* มีสาร quercetin และ kaempferol ในขณะเดียวกันที่ Ahmed et al. (2014) แสดงว่าเปลือกลำต้น *Albizia lebbeck* Benth มีสาร luteolin นอกจากนี้ยังมีผลการวิจัยโดย Malla et al. (2014) และ Zia-ul-haq et al., (2013) ที่วิเคราะห์ฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี spectrophotometry ในทั้งส่วนใบ ลำต้น ผล และรากของ *Albizia lebbeck* (L.) และตะกิก ฟลาโวนอยด์แต่ละชนิด และผลรวมของฟลาโวนอยด์ในตะกิกจากแต่ละพื้นที่มีปริมาณไม่แตกต่างกันเมื่อคำนวณบนพื้นฐานของน้ำหนักเปียก อย่างไรก็ตาม เมื่อคำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักแห้ง พบว่า luteolin ของตะกิกจากนครราชสีมา มีปริมาณสูงที่สุด (412.32 ± 185.23 มิลลิกรัม/รอลงมาคือกาญจนบุรี (286.49 ± 50.30 มิลลิกรัม) และสุพรรณบุรี (171.91 ± 33.99 มิลลิกรัม) ตามลำดับ ในขณะที่ quercetin ($984.34-1032.89$ มิลลิกรัม), kaempferol ($39.92-69.78$ มิลลิกรัม), apigenin ($9.90-26.97$ มิลลิกรัม) และผลรวมฟลาโวนอยด์ ($1,236.62-1,451.24$ มิลลิกรัม) ของตะกิกจากทั้ง 3 พื้นที่ไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ยานโดยสมศรี และคณะ (2552-2554) พบเฉพาะฟลาโวนอยด์ 3 ชนิดในตะกิกจากเขื่อนศรีนครินทร์ที่เก็บช่วงปี 2552-2554 โดยมีปริมาณ quercetin, luteolin และผลรวมฟลาโวนอยด์ ต่ำกว่าค่าที่วิเคราะห์ได้จากงานวิจัยนี้ (714.91 , 185.64 และ 934.81 มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) ในขณะที่ ปริมาณของ kaempferol ไม่แตกต่างกัน (34.25 มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) อย่างไรก็ตาม ไม่พบ apigenin ในตะกิกที่เป็นในช่วงปีดังกล่าว

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พืชสร้างขึ้น ประกอบด้วย 3 กลุ่มย่อย คือ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิกแอไซด์ และโพลีฟีนอล สารในกลุ่มนี้สามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง เป็นต้น (King and Young 1999) ผลการวิเคราะห์พบว่าสารประกอบฟีนอลิกรวม (คำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักเปียก) ในตะกิกจากจังหวัดนครราชสีมา และสุพรรณบุรีมีค่าสูงกว่าจังหวัดกาญจนบุรี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับผลที่ได้จากคำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักแห้ง ($2,581.72 \pm 236.93$; $2,342.65 \pm 136.27$ และ $2,076.78 \pm 81.30$ มิลลิกรัม GAE/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) และผลรวมฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกของตะกิกที่เก็บจากเขื่อนศรีนครินทร์ที่เก็บช่วงปี 2552-2554 มีปริมาณ $2,491.55$ มิลลิกรัม GAE/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง (สมศรี และคณะ 2552-2554) ซึ่งมีค่าสูงกว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากแหล่งเดียวกันที่เก็บในปี 2557 (การศึกษานี้) และมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากจังหวัดนครราชสีมา และสุพรรณบุรี Malla et al. (2014) รายงานปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกในใบ *Albizia lebbec* (L.) $3,666 \pm 110$ มิลลิกรัม GAE/กรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่วิเคราะห์ได้ในการศึกษานี้ นอกจากนี้ ยังมีรายงานพบสารประกอบฟีนอลิกในผล ราก และลำต้น ซึ่งลำต้นมีค่าสูงกว่าส่วนอื่นๆ (Zia-ul-haq et al., 2013)

จากผลการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ชีวภาพดังกล่าว พบว่านอกจากตัวอย่างที่เก็บมาจากแต่ละพื้นที่ (จังหวัด) ให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่แตกต่างกันแล้ว ตัวอย่างที่เก็บจากจังหวัดเดียวกันก็ให้ปริมาณของสารที่แตกต่างกันด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ สารออกฤทธิ์ชีวภาพที่พืชสร้างขึ้น เพื่อ 1) ปกป้องพืชจากสิ่งรุกรายนอก เช่น แสงยูวี อุณหภูมิ ปริมาณน้ำ แร่ธาตุ แมลง เชื้อจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย และเชื้อรา เป็นต้น 2) ดึงดูดแมลงเพื่อมาผสมเกสร หรือดึงดูดให้สัตว์นำกินผลแล้วนำเมล็ดไปทิ้งบริเวณอื่นเพื่อการสืบพันธุ์ 3) เป็นสารที่ใช้ในการสื่อสารให้จุลินทรีย์เข้าหา เช่นในกรณีของพืชตระกูลถั่วที่มีการสร้างสารเพื่อให้แบคทีเรียเข้ามาเพื่อตรึงไนโตรเจน (Veberič, 2010) ดังนั้น ทั้งชนิด และปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพจึงแปรผันไปตามสภาวะแวดล้อม รวมถึงระยะการเจริญเติบโตของพืช ดังงานวิจัยของ Karray-Bouraoui et al. (2010); Ferreyra et al. (2007); Lefsrud et al. (2007); Shou et al. (2007); Iqbal and Bhanger (2006); Lisiewska et al. (2006); Raffo et al. (2006); de Azevedo and Rodinguez-Amaya (2005); Prior et al. (1998) ที่พบความแตกต่างของชนิด และปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพเนื่องมาจากสภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ ปริมาณแร่ธาตุในดิน ฤดูกาล พันธุ์ ระยะเวลากการเจริญเติบโต และระยะเวลาการเก็บเกี่ยวพืช

5.4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะกีกสด

งานวิจัยนี้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธี ที่มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกัน ได้แก่ วิธี ORAC เป็นวิธีที่ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระบนพื้นฐานของกลไกการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer, HAT) สู่อนุมูลอิสระประเภทออกซิเจน (reactive oxygen species) ชนิด 2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) และวัดการเรืองแสงของ fluorescence prob วิธีนี้มีความใกล้เคียงกับกลไกที่เกิดขึ้นในร่างกาย ในขณะที่วิธี DPPH เป็นวิธีที่ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระบนพื้นฐานของกลไกการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (electron transfer, ET หรือ single electron transfer SET) ใช้วัดอนุมูลอิสระประเภทไนโตรเจน (reactive nitrogen species) อย่างไรก็ตาม กลไกการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายเกิดขึ้นทั้ง 2 กลไกพร้อมๆ กัน เพียงแต่มีความไวของปฏิกิริยาที่ต่างกัน นอกจากนี้ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายนั้นมีหลากหลายกลุ่ม ดังนั้น จึงต้องทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่า 1 วิธี (Prior, 2014; Huang et al., 2005; Prior et al., 2005; Ou et al., 2002; Wright et al., 2001)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธี (คำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักเปียก) ให้แนวโน้มไปในทางเดียวกัน อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH ในตะกีกจากสุพรรณบุรี และกาญจนบุรีมีค่าใกล้เคียงกัน และสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากจังหวัดกาญจนบุรี สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC นั้น ให้ค่าไม่แตกต่างกันใน 3 พื้นที่ เมื่อคำนวณบนพื้นฐานของ 1 กรัม น้ำหนักแห้ง พบว่าให้ผลเช่นเดียวกันกับเมื่อคำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักเปียก (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะกีกจากจังหวัดนครราชสีมา สุพรรณบุรี และกาญจนบุรีทดสอบด้วยวิธี ORAC $1,639.14 \pm 40.31$; $1,433.86 \pm 308.98$ และ 1323.82 ± 355.52 ไมโครโมล TE ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH 116.38 ± 28.14 ; 113.2 ± 37.19 และ 48.76 ± 13.99 ไมโครโมล TE ตามลำดับ) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ORAC และ DPPH ของตะกีกจากเขื่อนศรีนครินทร์ที่ศึกษาในปี 2552-2554 มีค่า 798.20 และ 105.19 ไมโครโมล TE/กรัม

(สมศรี และคณะ 2552-2554) ซึ่งให้ค่าแตกต่างจากค่าที่ศึกษาในครั้งนี้ ทั้งนี้ อาจเป็นผลมาจากชนิด และปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่แตกต่างกันของตัวอย่างที่เก็บในแต่ละปี การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในงานวิจัยของ Malla et al. (2014) พบว่าใบ และเปลือก *Albizia lebbeck* (L.) มีค่า IC₅₀ 0.24 และ 0.26 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ (0.71-1.62 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ของการศึกษา Padamanabhan et al. (2014) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH ในใบ และเปลือกลำต้นตะคึก แต่ไม่สามารถเปรียบเทียบข้อมูลได้เนื่องจากเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยสารมาตรฐานที่แตกต่างกัน (วิตามินซี) อย่างไรก็ตาม พบว่าใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าในเปลือกลำต้น ในขณะที่ Zia-ul-haq et al. (2013) พบว่าลำต้นต้นของ *Albizia lebbeck* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) สูงกว่าในราก และเปลือกลำต้น ในขณะที่ เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) กลับพบว่ารากมีสูงกว่าลำต้น และเปลือกลำต้นซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน การศึกษาของ Tasnim et al. (2014) พบว่าเปลือกลำต้นตะคึกที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน

การศึกษานี้พบความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากของตะคึกที่มาจากต่างพื้นที่ (จังหวัด) รวมถึงความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่เก็บภายในจังหวัดเดียวกัน ทั้งนี้ เนื่องจากพืชสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ชีวภาพซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้แตกต่างกันไปทั้งชนิด และปริมาณ อันเป็นผลเนื่องมาจากปัจจัยที่กล่าวไว้ข้างต้น (ข้อ 5.4.2) ทั้งนี้มีการศึกษาที่แสดงถึงความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ อันเป็นผลเนื่องมาจากปัจจัยดังกล่าวเช่นเดียวกัน (Karray-Bouraoui et al. 2010, Ferreyra et al. 2007, Iqbal and Bhangar 2006, Prior et al. 1998) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ของสารประกอบฟีนอลิกรวม กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH ให้ค่าค่อนข้างสูง ซึ่งแสดงว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารหลักที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตะคึก (Judprasong et al., 2013)

5.5 ผลของการลวกต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพของตะคึกลวก

เนื่องจากก่อนการบริโภคตะคึก จะต้องผ่านความร้อนโดยการลวก ต้ม หรือผัด ดังนั้น ในงานวิจัยนี้ จึงศึกษาผลของการลวกซึ่งเป็นวิธีการในการประกอบอาหารที่คนนิยมบริโภค โดยผลการศึกษาแสดงบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง เพื่อลดความแตกต่างระหว่างปริมาณน้ำ (ความชื้น) ในตัวอย่างตะคึกสด และลวก

5.5.1 ผลของการลวกต่อสารออกฤทธิ์ชีวภาพของตะคึกลวก

วิตามินซีเป็นวิตามินที่สูญเสียได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน นอกจากนี้ เนื่องจากวิตามินซีเป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ จึงสูญเสียโดยการออกไปกับน้ำที่ลวก/ ต้ม ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าวิตามินซีในตะคึกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ร้อยละ 52 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Oulai et al. (2014) ที่ต้มผักใบ 5 ชนิด เป็นเวลา 15, 25 และ 45 นาที พบการลดลงของวิตามินซีร้อยละ 33.33-82.14 ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และระยะเวลาต้ม โดยหากใช้เวลาต้มนาน ทำให้เกิดการสูญเสียของวิตามินซีเพิ่มขึ้น งานวิจัยโดย Wen et al. (2010) ที่ศึกษาในถั่วชนิดต่างๆ พบว่าการลวกทำให้วิตามินซีลดลงในถั่วทุกชนิดในปริมาณที่แตกต่างกันไป โดย snow pea และ long bean มีการลดลงของวิตามินซีสูงที่สุดถึง ร้อยละ 51 นอกจากนี้ Podsedek et al., 2008 ยังแสดงให้เห็นว่าหากใช้ปริมาณน้ำที่ใช้ในการลวกกะหล่ำม่วงพันธุ์ 2 พันธุ์มาก ทำให้เกิดการสูญเสียของวิตามินซีเพิ่มขึ้น Zhang และ

Hamausa (2004) ศึกษาระยะเวลาในการต้ม (ตั้งแต่ 30-300 นาที) ที่มีผลต่อส่วนต่างๆ ของบล็อคโคลี่ (ดอก และก้าน) ผลการทดลองแสดงว่าวิตามินซี ลดลงตามระยะเวลาที่ต้มเพิ่มขึ้นที่ โดยวิตามินซีลดลงร้อยละ 66-71

คาโรทีนอยด์เป็นสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่ละลายได้ดีในไขมัน แตกต่างสารออกฤทธิ์ชีวภาพชนิดอื่นๆ ที่วิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ ผลการศึกษาพบว่า lutein, β -carotene, α -carotene และผลรวมคาโรทีนอยด์มีค่าลดลงร้อยละ 57, 23, 31 และ 50 ตามลำดับ ทั้งนี้ ผลของการให้ความร้อนต่อสารกลุ่มนี้ในพืชมีทั้งลดลง และเพิ่มขึ้น ขึ้นอยู่กับวิธีการให้ความร้อน (วิธีการ อุณหภูมิ ระยะเวลา) ชนิดของพืช ขนาดของชิ้นพืช เป็นต้น (Rodriguez-Amaya, 1997) Chang et al. (2013) พบการคงอยู่ของ lutein หลังการต้มผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ผักโขมก้านสีขาว ผักโขมแดง ปวยเล้ง ผักปลั่ง มันสำปะหลัง 4 และ 8 นาที ตั้งแต่ร้อยละ 0-428 การทดลองต้มและไมโครเวฟส่วนของดอก และก้านบล็อคโคลี่ที่เวลา 0, 30, 60, 60, 120 และ 300 วินาที แสดงให้เห็นว่า lutein, β -carotene, violaxanthin และผลรวมของคาโรทีนอยด์ลดลง โดยการลดลงของ lutein น้อยกว่าการลดลงของ β -carotene การลดลงของคาโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาต้มที่เพิ่มขึ้น (Zhang and Hamazu, 2004) Sungpaug et al. (1999) การศึกษาเกี่ยวกับผลของการลวก หรือต้มในผักทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ผลการศึกษาพบทั้งการเพิ่ม และลดของ β -carotene แตกต่างกันไปตามชนิดของผัก การลวกผักบุ้ง และผักกวางตุ้ง 5 นาที สูญเสีย β -carotene ร้อยละ 7-11 การนึ่งฟักทอง 40 นาที ทำให้สารลดลงร้อยละ 15 ในขณะที่ตำลึงลวก และผักโขมนึ่งมีสารเพิ่มขึ้นของสารในร้อยละ 15 ในขณะที่ Wen et al. (2010) พบว่า β -carotene ในถั่ว ชนิดต่างๆ เพิ่มขึ้นหลังการลวกร้อยละ 2-31 เนื่องจากความร้อนทำให้เนื้อเยื่อพืชอ่อนนุ่มขึ้น และช่วยสลายพันธะระหว่างโปรตีน และคาโรทีนอยด์ Khachik et al. (1992) ศึกษาผลของการนึ่ง หรือไมโครเวฟ 1.5-9 นาที ในบล็อคโคลี่ ผักโขม และถั่ว พบว่า neoxanthin, lutein, β -carotene และ α -carotene ไม่เปลี่ยนแปลง แต่ violaxanthin และ lutein epoxide ซึ่งเป็นสารที่สลายได้ง่ายด้วยความร้อน มีปริมาณลดลงร้อยละ 34-67 และ 34-100 ตามลำดับ

ฟลาโวนอยด์โดยทั่วไปอยู่ในรูปที่มีน้ำตาลมาเกาะ มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่อยู่ในรูปที่ไม่มีน้ำตาล ซึ่งฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในรูปที่มีน้ำตาลมาเกาะ ทำให้สามารถละลายน้ำได้ดีเช่นเดียวกับฟีนอลิกแอไซด์ ในขณะที่ ฟลาโวนอยด์ในรูปที่ไม่มีน้ำตาลมาเกาะมีความเป็นขั้วน้อยกว่า จึงละลายน้ำได้ไม่ดี (Erlund 2004, Harborne and Williams 2000, Hollman and Katan 1999) ดังนั้น สาเหตุหลักของการสูญเสียฟลาโวนอยด์ในระหว่างการลวกจึงเกิดจากการละลายของฟลาโวนอยด์ออกมาในน้ำที่ใช้ในการลวก และการสลายตัวเนื่องจากใช้อุณหภูมิสูงในการประกอบอาหาร (Ewald et al. 1999, Price et al. 1997) อย่างไรก็ตาม สารมาตรฐานที่มีขาย และใช้กันทั่วไปส่วนใหญ่อยู่ในรูปของฟลาโวนอยด์ในรูปที่ไม่มีน้ำตาลมาเกาะจึงต้องวิเคราะห์ในรูปดังกล่าว ฟลาโวนอยด์ในตะกิลลดลงร้อยละ 42 โดยฟลาโวนอยด์ในกลุ่ม flavonol (quercetin และ kaempferol) ลดลงร้อยละ 45 ซึ่งมากกว่าฟลาโวนอยด์ในกลุ่ม flavone (luteolin และ apigenin) (ลดลงร้อยละ 28) ทั้งนี้ การสลายของฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ขึ้นกับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ อุณหภูมิที่ใช้ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) รวมถึงการมี/ไม่มีออกซิเจน (Irina and Mohamed, 2012) Murakami et al. (2004) รายงานว่า luteolin มีความเสถียรกว่า luteolin-7-glucoside และ rutin เมื่อให้ความร้อน 180°C เป็นเวลา 180 นาที ในขณะที่ rutin มีความเสถียรกว่า quercetin เมื่อให้ความร้อน 97°C เป็นเวลา 240 นาที ที่ pH 8 โดยการที่มีออกซิเจนจะยิ่งเร่งให้เกิดการสลายตัวของสารทั้ง 2 ชนิด (Makris and Rossiter, 2000) การศึกษาในดอกกะหล่ำ พบว่าหลังผ่านการลวก ต้ม นึ่ง ไมโครเวฟ และผัด สารฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ลดลงร้อยละ 66.08-88.27 ขึ้นอยู่กับวิธีการให้ความ

ร้อน หากมีการใช้น้ำเป็นสื่อกลางจะทำให้มีสูญเสียได้มากกว่าวิธีการอื่นๆ (Ahmed and Ali, 2013) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yao และ Ren (2011) ที่แสดงว่าการต้มส่งผลให้ luteolin และ apigenin ลดลงในชิ้นขั้วฝรั่งมากที่สุด รองลงมาคือ การลวก และนี่ ตามลำดับ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในรูปที่มีน้ำตาลมาเกาะ quercetin 3, 4'-O-diglucoside (Qdg) และ quercetin 4'-O-monoglucoside (Qmg) หลังผ่านการต้มในน้ำ 20 นาที ของหัวหอม 2 สายพันธุ์ พบว่า Qdg และ Qmg ลดลงร้อยละ 11.3-14.6 และ 2.6-10.3 ตามลำดับ และยังพบ Qdg และ Qmg ในน้ำที่ใช้ในการต้มด้วย (Price et al., 1997) นอกจากนั้น การศึกษาในกะหล่ำมวง 2 พันธุ์ พบการลดลงของแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ในระหว่างการต้ม โดยอัตราส่วนของน้ำที่ใช้ในการต้มที่น้อยช่วยลดการสูญเสียของสารมากกว่าการลดเวลาที่ใช้ในการต้ม (Podsdek et al. 2008)

สารประกอบฟีนอลิกรวมของตะกีกลดลงร้อยละ 47 หลังผ่านการลวก ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารกลุ่มหนึ่งในสารประกอบฟีนอลิก การสูญเสียของสารประกอบฟีนอลิกขึ้นเนื่องจากสารในกลุ่มนี้เป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ จึงละลายออกไปกับกับน้ำที่ใช้ลวก และการสลายตัวของสาร (Podsdek et al. 2008) อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Wen et al. (2010) พบทั้งการเพิ่มขึ้น และลดลงของสารประกอบฟีนอลิก โดยพบการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกรวมใน four-angled bean และ French bean (ร้อยละ 74 และ 32 ตามลำดับ) เนื่องจากความร้อนทำให้เนื้อเยื่อพืชอ่อนนุ่มจึงสามารถสกัดได้ดีขึ้น แต่กลับลดลงใน snap pea และ snow pea ลดลง (ร้อยละ 26 และ 44) ปัจจัยที่มีผลต่อการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ วิธีการให้ความร้อน ระยะเวลาในการให้ความร้อน ขนาดของตัวอย่าง และปริมาณน้ำที่ใช้ การศึกษาของ Ahmed and Ali (2013) แสดงให้เห็นว่าการนึ่ง ผัด และไมโครเวฟ ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกรวมลดลงน้อยกว่าการลวก และต้ม (ร้อยละของการลดลงของสารประกอบฟีนอลิก 16.6, 18.05, 18.30, 37.69 และ 51.90 ตามลำดับ) ในดอกกะหล่ำ Zhang and Hamauza (2004) แสดงให้เห็นว่าการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เวลาในการต้มนานขึ้น ดังเช่นการต้มดอก และก้านบล็อคโคลี่ นาน 30 และ 300 วินาที แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกลดลงร้อยละ 31.6 และ 61.7 ในดอก และร้อยละ 13.3 และ 42.2 ในก้านตามลำดับ ขนาด หรือชิ้นตัวอย่างผักแสดงถึงพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับน้ำ ดังนั้นเมื่อตัวอย่างที่มีขนาดเท่ากัน มาตัด/หั่นเป็นชิ้นย่อยๆ ทำให้พื้นที่ผิวโดยรวมมากกว่า จึงมีการสูญเสียของสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า (Pujimulyani et al., 2010) Podsdek et al. (2008) การศึกษาปริมาณน้ำที่ใช้ในการลวกกะหล่ำมวงพันธุ์ Koda และ Kissendrup พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ลวกด้วยน้ำในอัตราส่วนกะหล่ำมวง:น้ำ=1:1 ลดลงน้อยกว่าการลวกด้วยอัตราส่วนกะหล่ำมวง:น้ำ=1:2 โดยสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายออกมาในน้ำในการลวกด้วยน้ำในอัตราส่วนกะหล่ำมวง:น้ำ=1:1 มีมากกว่าการลวกด้วยอัตราส่วนกะหล่ำมวง:น้ำ=1:2

5.5.2 ผลของการลวกต่อสมบัติเชิงสุขภาพของตะกีก

5.5.2.1 ผลของการลวกต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบในหลอดทดลอง

ผลของการหุงต้มต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบในหลอดทดลองมีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง สำหรับงานวิจัยนี้พบว่า การลวกตะกีก 2 นาที ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ORAC และ DPPH ลดลงร้อยละ 50 และ 57 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลของวิตามินซี ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกรวม ซึ่งเป็นสารที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Zhang and Hamauza (2004) แสดงการลดลงของฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระของบล็อกโคลี่ทั้งดอก และก้าน เมื่อต้มเป็นเวลา 30-300 วินาที (ลดลงร้อยละ 65) Podsedek et al. (2008) รายงานการลดลงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี TEAC โดยหากใช้เวลาในการต้มนาน และใช้ปริมาณน้ำต้มมากจะทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกะหล่ำมวง 2 พันธุ์ลดลงมากกว่าการใช้เวลาในการต้มที่สั้น และปริมาณน้ำที่น้อยกว่า Amin and Lee (2005) ศึกษาในพืชตระกูลกะหล่ำ พบการลดลงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหลังการลวก เนื่องจากสูญเสียสารไปกับน้ำ หรือการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระ การใช้เวลาในการลวกนาน ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงมากขึ้น Yao และ Ren (2011) และ Chuah et al. (2008) พบว่าน้ำที่ใช้ในการต้ม/ลวกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระละลายออกมากในน้ำต้ม/ลวก อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Pujimulyani et al. (2010) แสดงการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในขมิ้นขาวที่ลวกน้ำ และน้ำที่ใช้ลวก เช่นเดียวกับพริกหวาน บล็อกโคลี่ ผักขม ถั่ว และ squash ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นหลังการลวก การนึ่ง และไมโครเวฟ เนื่องจากการให้ความร้อนทำให้เนื้อเยื่อพืชอ่อนนุ่มลง ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกออกมาได้มากขึ้น หรืออาจเกิดจากความร้อนสามารถทำลายพันธะระหว่างน้ำตาลกับ aglycone ซึ่ง aglycone แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าในสถานะที่มีน้ำตาลมาเกาะ (Lu and Foo 2000)

5.6 สมบัติเชิงสุขภาพของตะกีกลวกเมื่อทดสอบด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

5.6.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านการอักเสบ

ภาวะออกซิเดทีฟสเตรส (oxidative Stress) คือการที่เซลล์ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากภายในร่างกาย เช่น การหายใจ การเผาผลาญอาหารเพื่อให้ได้พลังงานภายในร่างกาย และอนุมูลอิสระจากภายนอกในร่างกาย เช่น แสงแดด มลภาวะ อาหาร ยาบางชนิด เป็นต้น ในสภาวะปกติร่างกายจะพยายามรักษาสภาวะให้สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างผลิตขึ้น และได้รับจากอาหารส่วนหนึ่ง แต่ในบางสภาวะอาจจะเสียสมดุลเนื่องจากเกิดอนุมูลอิสระมากเกินไป หรือสารต้านอนุมูลอิสระลดลงจนเกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งคือภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากมายเสียจนสารต้านอนุมูลอิสระมีไม่เพียงพอ และจากสาเหตุดังกล่าวส่งผลให้เกิดการทำลายดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมัน และโมเลกุลขนาดเล็กอื่นๆ โดยการทำลายดังกล่าวจัดเป็น oxidative damage ซึ่งโมเลกุลเป้าหมายที่เกิด oxidative damage จะแตกต่างกันไปขึ้นกับลักษณะของเซลล์ ชนิด และความรุนแรงของสภาวะ oxidative stress ที่เกิดขึ้นซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแห่งความเสื่อมเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็ง โรคข้อต่ออักเสบ โรคเบาหวาน โรคเกี่ยวกับระบบประสาท เช่น อัลไซเมอร์ และ อีกหลายโรคที่น่าสนใจคือกลุ่มโรคลำไส้อักเสบ (Inflammatory bowel diseases; IBD) ซึ่งสามารถจำแนกโรคออกได้ 2 กลุ่ม คือ Ulcerative Colitis (UC) และ Crohn's disease (CD) การศึกษาทางคลินิกหลายงานวิจัยได้แสดงให้เห็นว่า โรคนี้มีสาเหตุส่วนหนึ่งมาจากกระบวนการ oxidative Stress ทำให้เกิดการอักเสบที่บริเวณเยื่อเมือกของลำไส้ มีผลทำให้ผลิตอนุมูลอิสระ (ROS) ที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะทำให้ระบบป้องกันด้วยสารต้านอนุมูลอิสระทางธรรมชาติของลำไส้มีปริมาณลดลง จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าปริมาณของ ROS ที่ตรวจด้วยวิธี chemiluminescence ในชิ้นเนื้อลำไส้ของผู้ป่วยที่เป็นโรค UC และ CD มีปริมาณของ ROS ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับลำไส้ของคนปกติ (Sedghi et al., 1993; Naito et al., 2007) และ การเพิ่มปริมาณของ ROS มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค IBD (Tanida et al., 2011) ซึ่งจากการรายงานของ Reimund et al. (1998) และ Mohammed (2013) พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณ ROS

ลดลง และ ลดการผลิตของ inflammatory cytokines เช่น IL-1 และ TNF- α บริเวณ colonic mucosa ในผู้ป่วย IBD ได้

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างตะกอนจากพบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่หลายกลุ่ม เช่น คาโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก รวมในงานวิจัยนี้ทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตะกอนจากที่เก็บจากจังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี ซึ่งผ่านระบบเลียนแบบการย่อยในการลดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้ที่เหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ร่วมกับ IL-1 β เพื่อเลียนแบบภาวะการอักเสบในลำไส้ของผู้ป่วย IBD มีการศึกษาพบว่าไบโตะคัสต์มีสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าในเปลือกลำต้น และราก (Malla et al., 2014; Padamanabhan et al., 2014; Zia-ul-haq et al., 2013) และเมื่อนำส่วนของที่กินได้ของตะกอนมาลวกพบว่าตะกอนจากทั้ง 3 จังหวัด ยังคงมีศักยภาพในการลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ ถึงแม้ว่าการลวกมีผลทำให้ต่อสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารลดลงแล้วก็ตาม

IL-8 หรือ CXCL8 เป็นคีโมไคน์ (chemokine) ที่เหนี่ยวนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล (neutrophil) เคลื่อนตัวเข้ามาในบริเวณที่อักเสบ เพื่อกำจัดสาเหตุของการอักเสบ อย่างไรก็ตาม ในภาวะที่มีการอักเสบแบบเรื้อรัง จะมีการหลั่ง IL-8 มากเกินไป ทำให้เกิดผลเสียต่อเนื้อเยื่อข้างเคียง เช่น ในคนที่เป็โรคลำไส้อักเสบ (inflammatory bowel diseases; IBD) จะมีการแสดงออกของ IL-8 ในชั้นเยื่อเมือกของลำไส้เล็ก (intestinal mucosa) สูงกว่าคนปกติ โดยระดับความรุนแรงของการอักเสบในชั้นเยื่อเมือกของลำไส้เล็กแปรผันตามระดับ IL-8 (Banks et al., 2003) นอกจากนี้ IL-8 มีคุณสมบัติเป็นสารก่อเนื้องอก (tumorigenic) และ สารก่อให้เกิดกระบวนการสร้างเส้นเลือดใหม่ (pro-angiogenic) ซึ่งมักพบการแสดงออกมากกว่าปกติ (overexpression) ของ IL-8 ในเยื่อลำไส้ใหญ่ของผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่มีการพยากรณ์ของโรคที่ไม่ดี (poor prognosis) เซลล์มะเร็งลำไส้ที่มีการแสดงออกของ IL-8 มากกว่าปกติจะดื้อต่อยาเคมีบำบัด มีการแบ่งตัวเร็วขึ้น เคลื่อนที่ และ แพร่กระจายรวดเร็ว (Ning et al., 2011) ผลจากการศึกษาพบว่า ตะกอนจาก 3 จังหวัดที่ผ่านการลวกแล้วมีศักยภาพในการลดปริมาณ IL-8 ได้ โดยตะกอนจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีศักยภาพใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน quercetin มากที่สุด

MCP-1 หรือ CCL2 เป็นคีโมไคน์ อีกชนิดหนึ่งที่หลั่งออกจากเซลล์หลายชนิด เพื่อเหนี่ยวนำเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (monocytes) เซลล์ภูมิคุ้มกันชนิดที่จำหน้าที่จดจำ (memory T cells) และเดนดริติกเซลล์ (dendritic cells) เข้ามาในบริเวณที่มีการอักเสบ เพื่อกำจัดสาเหตุของการอักเสบในผู้ป่วย IBD พบการแสดงออกของ MCP-1 มากกว่าปกติในชั้นเยื่อเมือกของลำไส้เล็ก (Mazzucchelli et al., 1996; Reinecker et al., 1995) MCP-1 ยังเป็นสาเหตุการเกิดพยาธิสภาพของโรคที่มาจากการอักเสบ และโรคมะเร็งกับบกพร่อง (Yadav et al., 2010) นอกจากนี้ ยังพบว่า MCP-1 เป็นสารที่เหนี่ยวนำเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ เข้ามาอยู่ในองค์ประกอบสภาวะแวดล้อมของเนื้องอกมะเร็ง (tumor microenvironment) (Balkwill and Mantovani, 2012) ในหนูที่มีพันธุกรรมเป็น Apc^{Min/+} มีจำนวน และขนาดของติ่งเนื้องอก (polyps) ในลำไส้แปรผันตามระดับของ MCP-1 (McClellan et al., 2012) นอกจากนี้ ระดับ MCP-1 ยังมีความสัมพันธ์กับจำนวนของเซลล์แมโครเฟจ (macrophage) ในเนื้องอก และระยะของโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ในมนุษย์ด้วย (Bailey et al., 2007) ในหนูทดลองที่ทำให้พร่อง MCP-1 มีจำนวนติ่งเนื้องอกน้อยกว่าหนูปกติ ร้อยละ 20 โดยพบเซลล์ที่ตายแบบแอพอพโทซิสมากขึ้น (McClellan et al., 2012) ผลจากการศึกษาพบว่า ตะกอนจาก 3 จังหวัดที่ผ่านการลวกแล้วมีศักยภาพ

ในการลดปริมาณ MCP-1 ได้ โดยตะคึกหลวงจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีศักยภาพใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน quercetin มากที่สุด

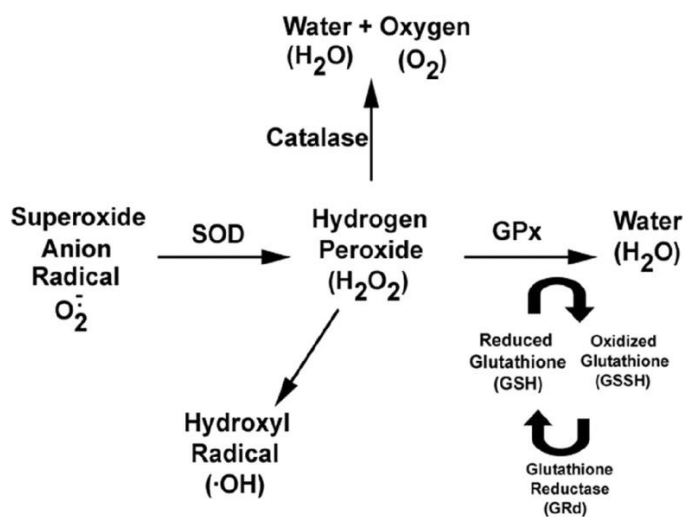
โดยส่วนใหญ่ตะคึกมักนำมาใช้เป็นพืชที่มีคุณสมบัติทางยา เช่น ใช้ในการรักษาอาการท้องเสีย ต้านเชื้อแบคทีเรีย ลดอาการหอบหืด ลดอาการแพ้ ต้านการเกิดมะเร็ง ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบได้ การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าใบของตะคึกสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ลด glycogen ในตับ และเพิ่มการทำงานของ antioxidant enzymes ได้แก่ GHS, SOD, CAT, GPX และ GST ในตับและไตของหนู rat ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ด้วย alloxan (Resmi et al., 2006) สารสกัดจากเปลือกของต้นตะคึกมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบตามข้อ (anti-arthritis) และลดอาการบวมของอุ้งเท้าหนู Wistar rats ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย Carrageenan, Dextran, Cotton Pellet และ adjuvant ทำให้หนูเกิดอาการอักเสบทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง โดยสารสกัดจากเปลือกของต้นตะคึกยับยั้งขบวนการ prostaglandin synthesis (Babu et al., 2009) นอกจากนี้เปลือกของตะคึกยังลดอาการบวมของอุ้งเท้าหนู Wistar rats ลด arthritic index และลด rheumatoid factor ได้อีกด้วย (Pathak et al., 2010) ส่วนเมล็ดของตะคึกที่สกัดด้วย ethanol ก็มีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบโดยสามารถลดอาการบวมของอุ้งเท้าหนู Wistar rats ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยคาราจีแนน ได้เช่นกัน (Verma และ Srivastav, 2011) สารสกัดจากดอกของตะคึกก็ยังสามารถในการต้านการอักเสบในหนู Swiss albino rats โดยจะให้หนูได้รับสารสกัดจากดอกตะคึกก่อน 1 ชั่วโมง จากนั้นหนูจะถูกเหนี่ยวนำให้อุ้งเท้าบวมด้วยคาราจีแนน เมื่อเฝ้าดูอาการพบว่าสารสกัดจากดอกตะคึกที่ขนาด 1 กรัม/น้ำหนักตัว ให้ผลการต้านการอักเสบดีที่สุดในช่วงที่ 2 หลังได้รับคาราจีแนน (Mohamed et al., 2013)

จากการรายงานของ Faisal et al. (2012) พบว่าใบของตะคึกมีสารอาหาร และสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ได้แก่ tannin, flavanoids, saponin และ alkaloids แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัดที่ใช้ ส่วนในดอกของตะคึกพบว่ามี น้ำมันหอมระเหย *p*-nitro benzoate, benzyl alcohol และ benzoic acid เป็นองค์ประกอบ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้จากการทดสอบด้วย HPLC พบว่าตะคึกจาก 3 จังหวัดมีสารคาร์ทีนอยด์เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ lutein, β -carotene และ α -carotene สารฟลาโวนอยด์มี 4 ชนิด ได้แก่ quercetin เป็นสารฟลาโวนอยด์ชนิดหลัก รองลงมาคือ luteolin, kaempferol และ apigenin ตามลำดับ และสารประกอบฟีนอลิกรวม ตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมี quercetin และ kaempferol และสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าจังหวัดอื่น และเมื่อทดสอบความสามารถในการต้านการเกิด ROS และต้านการอักเสบในเซลล์ลำไส้ที่เกิดภาวะ oxidative stress ตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรีก็ให้ผลการทดสอบดีกว่าตัวอย่างจากจังหวัดอื่นเช่นกัน จากการศึกษาของ Boots et al. (2011) พบว่า quercetin สามารถลดตัวชี้วัดการเกิด oxidative stress ได้แก่ ลดระดับของ malondialdehyde (MDA) และตัวชี้วัดการอักเสบ ได้แก่ TNF- α /IL-10 และ IL-8/IL-10 ในเลือดของผู้ป่วย sarcoidosis นอกจากนี้มีการศึกษาในอาสาสมัครที่ออกกำลังกายเป็นประจำพบว่ากลุ่มที่ได้รับ Quercetin ร่วมกับวิตามินซีสามารถลดการเกิด oxidative stress และตัวชี้วัดการอักเสบ ได้แก่ CRP และ IL-6 ได้ (Askari et al., 2012) จากการศึกษาของ Park et al. (2012) พบว่า kaempferol สามารถต้านการอักเสบโดยการลดตัวชี้วัดการเกิดภาวะลำไส้อักเสบในหนู mice เพศเมียชนิด C57BL/6J ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ colitis ด้วย dextran sulfate sodium (DSS) โดยสามารถลด MPO activity และลดระดับของ NO, PGE2, LTB4 ใน plasma และยังลดการแสดงออกของ COX-1, iNOS, TNF- α , IL-1b, และ IL-6 ได้ การศึกษาใน human

colon cancer cells (HT-29) พบว่ากลุ่มที่ได้รับ quercetin ร่วมกับ kaempferol สามารถลดระดับของ NO ในอาหารเลี้ยงเซลล์ และลดการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งตามความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบ (Lee et al., 2007)

5.6.2 ฤทธิ์ต่อปริมาณกลูตาไธโอน และการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส

เมื่อร่างกายเกิดภาวะ oxidative stress ขึ้นภายในเซลล์จะมีสารต้านอนุมูลอิสระที่คอยกำจัดสาร oxidative stress เหล่านี้ เช่น เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีเหล็ก และสังกะสีเป็นส่วนประกอบ จะคอยเป็นตัวกำจัด superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) ได้เป็น H_2O_2 และ O_2 แต่ในสภาวะที่ขบวนการสลาย H_2O_2 บกพร่องจะทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของ H_2O_2 กลูตาไธโอน (glutathione; GSH) จะทำการสลาย H_2O_2 ให้กลายเป็นโมเลกุลของน้ำ โดยมีเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase; GPx) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้ภาวะเครียดออกซิเดชันลดลงหรือกลับมาสู่ภาวะสมดุลกลูตาไธโอนเป็นเปปไทด์ที่มีหมู่ซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการเป็น reducing agent ประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ชนิดคือ cysteine, glutamic acid และ glycine กลูตาไธโอนจัดเป็น primary antioxidant ซึ่งพบอยู่ในเซลล์อยู่ในรูป reduced form (GSH) และปริมาณอีกร้อยละ 5 จะอยู่ในรูป oxidized form (GSSG) และรูป mixed disulphide ทำหน้าที่สำคัญในการเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้กลายเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอันตรายก่อนที่อนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นดังแสดงในรูปที่ 26 (Aitken and Roman, 2008)



รูปที่ 2-26 กลไกและหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระของ antioxidant enzymes (SOD, GPx and CAT) (Hofseth, 2004)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของตะกั่วต่อระบบการต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์ ได้แก่ antioxidant enzymes (GPx) และ non-enzymatic antioxidant (เช่น glutathione) ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด oxidative stress เมื่อถึงผลของ quercetin 200 μ M ที่ใช้ในการศึกษา พบว่า quercetin นั้นมีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณกลูตาไธโอน และรักษาความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ GPx ในเซลล์ลำไส้ได้ดี ผลจากการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นว่า quercetin ในตะกั่วนั้นน่าจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มปริมาณกลูตาไธโอน และรักษาความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ GPx ในเซลล์ลำไส้ซึ่งเป็นคุณสมบัติในการต้านภาวะ oxidative stress ใน

ตัวอย่างตะคิกหลวงจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีแนวโน้มในการเพิ่มปริมาณของ total glutathione และ สามารถเพิ่ม GPx activity ได้ดีกว่าตะคิกหลวงจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรี ซึ่งผลที่ได้นั้นสอดคล้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยการลดการเกิด ROS และลดการอักเสบโดยการลดการหลั่งของ IL-8 และ MCP-1 ซึ่งตะคิกหลวงจากจังหวัดสุพรรณบุรีให้ผลดีกว่าอีกสองจังหวัดเช่นกัน ซึ่งน่าจะเกิดจากสารออกฤทธิ์ชีวภาพหลายๆ ชนิด รวมถึงกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ คาโรทีนอยด์ และวิตามินซี เป็นต้น ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้ล้วนมีการศึกษาแล้วว่ามีส่วนช่วยในการต้านการเกิดภาวะ oxidative stress ได้ (Romier et al., 2009) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาททางชีวภาพโดยแสดงฤทธิ์หลายด้าน เช่น การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ (anti-inflammation) ต้านมะเร็ง (Han et al., 2007; Pan et al., 2008) นอกจากสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติสำคัญในด้านการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว กลไกสำคัญที่ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติทางชีวภาพในด้านลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ อีกกลไกหนึ่งที่สำคัญคือ ผลต่อการกระตุ้น ยับยั้ง หรือควบคุมการทำงานของเอนไซม์และโปรตีนระดับเซลล์ที่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน กระบวนการอักเสบ (Weerawatanakorn, 2013) ในการศึกษาครั้งนี้ตะคิกที่ผ่านการหลวงยังคงมีสารออกฤทธิ์ชีวภาพเป็นองค์ประกอบหลายชนิดได้แก่ วิตามินซี คาโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกซึ่งสารออกฤทธิ์ชีวภาพเหล่านี้ถือว่าเป็นกลุ่มที่ไม่เป็นเอนไซม์ (non-enzymatic antioxidants) จึงส่งผลต่อความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ได้ จากการศึกษาของ Kaminski et al. (2009) แสดงให้เห็นว่าแร่ธาตุชนิด macroelements ได้แก่ โซเดียม, โพแทสเซียม, แคลเซียม, แมกนีเซียม, เหล็ก และชนิด microelements ได้แก่ สังกะสี, ทองแดง, แมงกานีส และโคบอล มีผลต่อ antioxidant enzymatic activity ในเลือดของนกชนิด Ciconia ciconia ได้แก่ malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ceruloplasmine (CP), glutathione peroxidase (GPx), and glutathione reductase (GR) ดังนั้น ในศึกษานี้พบแร่ธาตุหลายชนิดในตะคิก และปริมาณที่พบนั้นก็ก็จะแตกต่างกันไปในแต่ละจังหวัด โดยจังหวัดที่มีแร่ธาตุมากที่สุดคือจังหวัดสุพรรณบุรีซึ่งสอดคล้องกับผลที่ศึกษาภายในเซลล์ลำไส้ที่พบว่าตะคิกหลวงจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีแนวโน้มในการเพิ่มปริมาณของ total glutathione และสามารถเพิ่ม GPx activity ได้ดีกว่าตะคิกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรี

6. สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ จัดทำขึ้นเพื่อร่วมสนองพระราชดำริ ในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ในด้านการนำไปใช้ประโยชน์ โดยเป็นงานวิจัยที่ต่อเนื่องมาจากการงานวิจัยในปี 2552-2554 ซึ่งมีการศึกษาพืชอาหารในบริเวณพื้นที่เขื่อนศรีนครินทร์ อ.ศรีสวัสดิ์ จ.กาญจนบุรี และพบว่าตะคิกเป็นพืชที่มีความน่าสนใจ จึงขยายขอบเขตการศึกษาไปในภูมิภาคต่างๆ

ตะคิก หรือพูกซ์ (*Albizia lebbek* (L.) Benth) เป็นพืชพื้นบ้านที่สามารถขึ้นได้ทั่วประเทศไทย และทุกส่วนของตะคิกสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทำเป็นเครื่องอุปโภค สมุนไพร/รักษาโรค รวมถึงเป็นอาหาร ปัจจุบัน มีการศึกษาตะคิกเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแง่ของสมุนไพร/รักษาโรค แต่ในแง่ของการเป็นอาหารนั้น ยังมีศึกษาค่อนข้างน้อย ดังนั้น งานวิจัยนี้ จึงเป็นงานวิจัยแรกที่ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม และศึกษาในเชิงลึกของส่วนที่กินได้ของตะคิก (ยอด และใบอ่อน หรือยอด ใบอ่อน และดอก) รวมถึงผลของการหลวงต่อปริมาณสารต่างๆ และประโยชน์ต่อสุขภาพเมื่อนำมาบริโภค

ข้อมูลจากการสอบถามโรงเรียนสวนพฤษศาสตร์ แสดงให้เห็นว่าตะคึกมีอยู่ทั่วทุกภูมิภาค แต่มีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันไป ทั้งนี้ บางพื้นที่อาจมีต้นตะคึก แต่ไม่ได้มีการนำมาบริโภค เนื่องจากไม่ทราบว่าบริโภคได้ สำหรับกลุ่มที่บริโภคตะคึกนั้น มีการบริโภคในรูปแบบที่หลากหลาย โดยส่วนใหญ่ นำตะคึกมาลวก/ต้มกินกับน้ำพริก บางพื้นที่มีการนำมาแกงส้ม แกงเลียง แกงป่า ผัดน้ำมันหอย ยำ และชุบแป้งทอด จากข้อมูลนี้ ทางคณะวิจัยจึงได้เลือกเก็บตะคึกจาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี ซึ่งเป็นตัวแทนของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตะวันตก และกลาง โดยในการเก็บตัวอย่างพบว่าแม้แต่ในจังหวัดเดียวกันตะคึกยังมีลักษณะของใบ และยอดอ่อนที่แตกต่างกันไปตามสภาวะแวดล้อมที่อยู่

ในแง่ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของตะคึก พบว่าตะคึกจำนวน 49 ตัวอย่าง จาก 3 จังหวัด (จังหวัดนครราชสีมา 17 ตัวอย่าง จังหวัดกาญจนบุรี 20 ตัวอย่าง และจังหวัดสุพรรณบุรี 12 ตัวอย่าง) ไม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม ยกเว้นตะคึก 2 ต้นจากจังหวัดกาญจนบุรี ที่มีความแตกต่างจากตะคึกตัวอย่างอื่นๆ

ตะคึกสดทั้ง 3 จังหวัด มีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีน ใยอาหาร เหล็ก และวิตามินซี อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ แร่ธาตุ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพของของตะคึก จาก 3 จังหวัด บนพื้นฐานของน้ำหนักเปียก พบว่าคุณค่าทางโภชนาการของตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณสูงกว่าจังหวัดอื่นๆ ยกเว้นไขมัน ฟอสฟอรัส และโซเดียมของตะคึกไม่แตกต่างกันทั้ง 3 จังหวัด ส่วนแคลเซียมของตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าใกล้เคียงกับกาญจนบุรี แต่สูงกว่านครราชสีมา ปริมาณโพแทสเซียม แมกนีเซียม และเหล็กของตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรีสูงกว่าจังหวัดอื่นๆ สารออกฤทธิ์ชีวภาพของตะคึกจากทั้ง 3 จังหวัด มีค่าไม่แตกต่างกัน โดยมีแนวโน้มว่าตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา มีปริมาณวิตามินซี และคาโรทีนอยด์ (lutein, β -carotene และ α -carotene) สูงที่สุด ในขณะที่ ฟลาโวนอยด์ (quercetin, Kaempferol, luteolin และ apigenin) และสารประกอบฟีนอลิกรวมมีปริมาณสูงที่สุดในตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรี รองลงมาคือ นครราชสีมา และกาญจนบุรี ตามลำดับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธีORAC และ DPPH ของตะคึกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่าสูงกว่าจังหวัดอื่นๆ ซึ่งให้ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และยังพบว่าค่าทั้ง 3 มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างสูงในเชิงบวก

เมื่อคำนวณบนพื้นฐานน้ำหนักน้ำหนักร้าง ซึ่งใช้ในการเปรียบเทียบข้อมูลโดยไม่คิดความแตกต่างที่อาจเกิดจากปริมาณน้ำ (ความชื้น) ที่ต่างกันจากแต่ละตัวอย่าง พบว่าคุณค่าทางโภชนาการของส่วนที่กินได้ของตะคึกจากทั้ง 3 พื้นที่ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ แคลเซียมของตะคึกจากจังหวัดกาญจนบุรี และสุพรรณบุรี สูงกว่านครราชสีมา และโซเดียมของตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรีสูงกว่าสุพรรณบุรี สำหรับสารออกฤทธิ์ชีวภาพของตะคึกนั้น พบว่าส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกันในทั้ง 3 จังหวัด ยกเว้นปริมาณวิตามินซี และ luteolin ของตะคึกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรีมีค่าสูงกว่าสุพรรณบุรี ในขณะที่ สารประกอบฟีนอลิกรวมของตะคึกจากนครราชสีมา และสุพรรณบุรีมีค่าสูงกว่ากาญจนบุรี ซึ่งส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากส่วนที่กินได้ของตะคึกจากทั้ง 2 จังหวัดมีค่าสูงกว่ากาญจนบุรีด้วยเช่นกัน

จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นความแตกต่างของสารต่างๆ ในตะคึก ซึ่งไม่ได้พบเฉพาะตะคึกที่มาจากจังหวัดที่แตกต่างกันเท่านั้น แม้ภายในจังหวัดเดียวกัน ก็มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากผลของพื้นที่ปลูกที่ต่างกัน สภาพภูมิประเทศ ภูมิอากาศ ฤดูกาล ปริมาณน้ำ ปริมาณแร่ธาตุในดิน ระยะการเจริญเติบโต และระยะเวลาการเก็บเกี่ยวพืช

เนื่องจากตะคึกต้องนำมาผ่านความร้อน ไม่ว่าจะเป็นการลวก/ต้ม (จุ่มกินกับน้ำพริก หรือทำเป็นแกงชนิดต่างๆ เช่น แกงส้ม แกงเลียง เป็นต้น) หรือผัดก่อนการบริโภค ดังนั้น จึงเป็นที่น่าสนใจว่าหลังผ่านความร้อน ปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และสมบัติเชิงสุขภาพจะเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร งานวิจัยนี้เลือกวิธีการลวก (อัตราส่วนตะคึก:น้ำ = 1:2 ลวก 2 นาที) มาเป็นต้นแบบ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการลวกนั้นทำให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพลดลง โดยวิตามินซี ผลรวมคาโรทีนอยด์ ผลรวมฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกรวมลดลงร้อยละ 52, 50, 42, 47 ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของสารออกฤทธิ์ชีวภาพนั้น ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธีทางเคมีลดลงร้อยละ 50 และ 57

เพื่อให้ทราบว่าสมบัติเชิงสุขภาพยังคงอยู่หรือไม่หลังการบริโภค จึงได้นำส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ (bioaccessible fraction) ของส่วนที่กินได้ของตะคึกลวกมาทดสอบการลดอนุมูลอิสระ และลดการอักเสบในเซลล์ลำไส้มนุษย์ที่เหนียวทำให้เกิดภาวะ oxidative stress และการอักเสบ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกเมื่อผ่านการลวกสามารถลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ลำไส้ได้ร้อยละ 20-27 โดยส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีประสิทธิภาพในการลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์สูงกว่าส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกจากจังหวัดนครราชสีมา และกาญจนบุรี ตามลำดับ การศึกษาการลดตัวชี้วัดการอักเสบ พบว่าส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกสามารถลดระดับ IL-8 และ MCP-1 ได้ร้อยละ 32-37 โดยส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกจากจังหวัดสุพรรณบุรีลดตัวชี้วัดการอักเสบได้มากที่สุด ตามด้วยตะคึกลวกจากนครราชสีมาและกาญจนบุรี ตามลำดับ นอกจากนี้ ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกที่ผ่านการย่อยยังมีแนวโน้มในการเพิ่มปริมาณกลูตาไธโอนได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกจากจังหวัดสุพรรณบุรี ยิ่งไปกว่านั้น ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ของตะคึกลวกจากจังหวัดสุพรรณบุรี และนครราชสีมาเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสได้ดีเช่นกัน

ผลการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าตะคึกที่ได้รับการคัดเลือกทางธรรมชาติแล้วจะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพภูมิประเทศ และภูมิอากาศของไทย โดยไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีในการดูแลรักษา เป็นผักพื้นบ้านอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพ เนื่องจากให้ประโยชน์ทั้งในแง่ของคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ชีวภาพ และรวมถึงประโยชน์เชิงสุขภาพ ซึ่งอาจสามารถป้องกัน หรือลดเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังต่างๆ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นจึงควรมีการศึกษาต่อไปในเชิงลึกเพื่อให้ทราบถึงประโยชน์เชิงสุขภาพด้านอื่นๆ ต่อไป นอกจากนี้ สามารถนำตะคึกมาประกอบอาหารได้หลากหลายตำรับ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้แก่ประชาชนทั่วไปในการบริโภคผักที่ปลอดภัย โดยไม่ต้องนำเข้าผักจากต่างประเทศ อย่างไรก็ตาม มีคนเพียงบางกลุ่มเท่านั้นที่นำตะคึกมาบริโภค เนื่องจากตะคึกยังไม่เป็นที่รู้จักกันแพร่หลาย ดังนั้น จึงควรเผยแพร่ข้อมูลจากงานวิจัยนี้ เพื่อใช้ในการสนับสนุน/เพิ่มการบริโภคตะคึก รวมถึงแนะนำตำรับอาหารจากตะคึกเพื่อให้เพิ่มความหลากหลายในการบริโภคตะคึก อย่างไรก็ตาม ตะคึกที่ขึ้นตามธรรมชาติมีช่วงที่ให้ผลผลิต (ยอด ใบอ่อน และดอกอ่อน) เพียงช่วงเดียวใน 1 ปี คือ เดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม ดังนั้น หากมีการนำมาขยายการเพาะปลูกในชุมชน หรือในครัวเรือนโดยการตัดแต่งกิ่ง และรดน้ำ เพื่อให้แตกยอดอ่อนก็สามารถให้ผลผลิตได้มากขึ้นนอกจากนั้น ยังสามารถนำมาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อให้คนแต่ละชุมชนนำตะคึกมาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตาม การนำมาใช้ประโยชน์ จะต้องทำควบคู่ไปกับการอนุรักษ์ โดยการปลูกจิตสำนึกให้แก่คนในชุมชนให้อนุรักษ์ และดูแล รวมถึงเพาะปลูกเพิ่มเติม เพื่อให้คนในชุมชนได้มีตะคึกบริโภคตลอดไป

7. บรรณานุกรม

- กรมอุตุนิยมวิทยา. สภาวะอากาศประเทศไทย เดือนมีนาคม 2557. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://www.tmd.go.th/programs%5Cuploads%5CmonthlySummary%5C%E0%B8%A1%E0%B8%B5%E0%B8%99%E0%B8%B2%E0%B8%84%E0%B8%A157.pdf>.
- เดชา ศิริภัทร. 2542. พฤษภักดิ์ยืนต้นพื้นบ้านไทยหลากหลายชื่อ. หมอชาวบ้าน.[ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://doctor.or.th/node/2307>.
- มูมการจัดการความรู้ศูนย์วิจัยข้าวสุพรรณบุรี. จังหวัดกาญจนบุรี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://spr.brrd.in.th/km/index.php?option=com_content&view=article&id=19#kri3.2.
- มูมการจัดการความรู้ศูนย์วิจัยข้าวสุพรรณบุรี. จังหวัดสุพรรณบุรี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://spr.brrd.in.th/km/index.php?option=com_content&view=article&id=22#spr3.2.
- รัชนี้ คงคาอุยฉายและ รินุ เจริญศิริ โภชนาการกับผัก กรุงเทพฯ: สารคดี, 2554.
- สำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ที่ดิน. 2548. มหัศจรรย์พันธุ์ดิน. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. พฤษภักดิ์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก [http://www.tistr.or.th/sakaerat/Plant in Sakaerat/plant list/.pdf](http://www.tistr.or.th/sakaerat/Plant%20in%20Sakaerat/plant%20list/.pdf).
- สมศรี เจริญเกียรติกุล, ครรชิต จุดประสงศ์, มลฤดี สุขประสาทรพย์, ภรณ์ยา อริยะใจ และเอกราช เกตวัลห์. 2552-2554. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ การสำรวจและจัดทำฐานข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และประโยชน์เชิงสุขภาพ ของแหล่งอาหารในพื้นที่โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี จังหวัดกาญจนบุรี. มหาวิทยาลัยมหิดล.
- สมศรี เจริญเกียรติกุล, สติมา จิตตินันท์, ครรชิต จุดประสงศ์, มลฤดี สุขประสาทรพย์. 2553. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ภูมิปัญญาอาหารพื้นบ้านจากพืชท้องถิ่นต่อสุขภาพ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี จังหวัดกาญจนบุรี. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- อาราม ลำพูน. ต้นตะคึก (2) [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <http://www.gotoknow.org/posts/431885>.
- Ahmed D, Kumar V, Sharma M, Verma A. 2014. Target guided isolation, in-vitro antidiabetic, antioxidant activity and molecular docking studies of some flavonoids from *Albizia Lebbeck Benth.* Bark. BMC Complementary and Alternative Medicine 14(155):1-12.
- Ahmed FA and Ali RFM. 2013. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh and processed white cauliflower. BioMed Res Inter. Article ID 367819.
- Aitken RJ and Roman SD. 2000. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 1:15-24.
- Askari G, Ghiasvand R, Feizi A, Ghanadian SM, Karimian J. 2012. The effect of quercetin supplementation on selected markers of inflammation and oxidative stress. J Res Med Sci 17(7):637-641

- Babu PN, Pandikumar P, Ignacimuthu S. 2009. Anti-inflammatory activity of *Albizia lebbeck* Benth., an ethnomedicinal plant, in acute and chronic animal models of inflammation. *Journal of Ethnopharmacology* 125:356–360.
- Bailey C, Negus R, Morris A, Ziprin P, Goldin R, Allavena P, et al. 2007. Chemokine expression is associated with the accumulation of tumour associated macrophages (TAMs) and progression in human colorectal cancer. *Clin Exp Metastasis* 24:121-30.
- Balkwill FR and Mantovani A. 2012. Cancer-related inflammation: Common themes and therapeutic opportunities. *Seminars in Cancer Biology* 22:33-40.
- Banks C, Bateman A, Payne R, Johnson P, Sheron N. 2003. Chemokine expression in IBD. Mucosal chemokine expression is unselectively increased in both ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Pathol* 199:28-35.
- Barkatullah, Akhtar N, Ibrar M, Rauf A. 2012. Effect of drought on the morphological and mineral composition of *Abelmoschus esculentus*. *Middle-East Journal of Medicinal Plants Research* 1(3):59-62.
- Berdanier CD and Zemleni J. 2009. Advance nutrition macronutrient, micronutrient and matabolism. Boca Raton, FL: CRC Press. p 363-370.
- Bhardwaj HL and Hamama AA. 2009. Effect of cultivar and growing location on the mineral composition of canola sprouts. *HortScience* 44(2):508-511.
- Bobby NM, Wesely GE, Johnson AM. 2012. In vitro anti- bacterial activity of leaves extracts of *Albizia lebbeck* Benth against some selected pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* :S859-S862.
- Boots WA, Drent M, de Boer VCJ, Bast A, Haenen GRMM. 2011. Quercetin reduces markers of oxidative stress and inflammation in sarcoidosis. *Clinical Nutrition* 1:1-7
- Brieger K, Schiavone S, Miller FJ, Krause KH. 2012. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly* 142:w13659.
- Burešová I, Sedláčková I, Famêra O, Lipavský J. 2010. Effect of growing condition on starch and protein content in triticale grain and amylase content in stacrch. *Plant Soil Environ.* 56(3):99-104.
- Butsat S and Siriamornpun S. 2010. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. *Food Chem* 119(2):606-613.
- Chang SK, Prasad N, Amin I. 2013. Carotenoids retention in leafy vegetables based on cooking methods. *Inter Food Res J* 20(1):457-465.
- Cai YQ, Sun ML, Corke H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci* 74:2157-2184.

- Chuah AM, Lee Y, Yamaguchi T, Takamura H, Yin L, Matoba T. 2008. Effect of cooking on the antioxidant properties of colored peppers. *Food Chem* 111:20-28.
- Cooper DA, Eldridge AL and Peters JC. 1999. Dietary carotenoids and certain cancers, heart disease, and age-related macular degeneration: a review of recent research. *Nutr Rev* 57(7):201-214.
- de Azevedo CH, Rodriguez-Amaya DB. 2005. Carotenoid composition of kale as influenced by maturity, season and minimal processing. *J Sci Food Agric* 85:591-597.
- de Quirós AR and Costa MS. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: a review. *J Food Comp Anal* 19:97-111.
- Demming-Adams B, Gilmore AM, Adams WW. 1996. *In vivo* functions of carotenoids in higher plants. *FASEB J* 10:403-412.
- El-Hawary S, El-Fouly K, Sokkar NM, Talaat Z. 2011. A phytochemical profile of *Albizia lebbeck* (L.) Benth cultivated in Egypt. *Asian J. Biochem.* 6(2):122-141.
- Elmastas M. 2006. Antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*) from North Turkey. *Comb Chem High Throughput Screen* 9:443-448.
- Erlund I. 2004. Review of the flavonoids quercetin, hesperitin and naringenin dietary sources, bioactivity, bioavailability, and epidemiology. *Nutr Res* 24:851-874.
- Ewald C, Fjelkner-Modig S, Johansson K, Sjöholm I, Akesson B. 1999. Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. *Food Chem* 64: 231-235.
- Faisal M, Singh PP, Irchhaiya R. 2012. Review on *Albizia Lebbeck* a potent herbal drug. *IRJP* 3(5):63-68.
- Farag M, Gamal EA, Kalil A, Al-Rehaily A, Mirghany EO, Tahir EK. 2013. Evaluation of Some Biological Activities of *Albizia lebbeck* Flowers. *Pharmacology & Pharmacy* 4:473-477.
- Ferreira RM, Viña SZ, Mugridge A, Chaves AR. 2007. Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva. *Sci Hortic* 112:27-32.
- Ferruzzi MG, Lumpkin JL, Schwartz SJ, Failla M. 2006. Digestive Stability, Micellarization, and Uptake of β -Carotene Isomers by Caco-2 Human Intestinal Cells. *J Agric Food Chem* 54:2780-2785.
- Fukumoto LR, Mazza G. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 48:3597-3604.
- Garrett DA, Failla ML, Sarama RJ. 1999. Development of an *in vitro* digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. *J AGR FOOD CHEM* 47:4301-9.

- Gu W, Song J, Cao Y, Sun Q, Yao H, et al. 2013. Application of the ITS2 Region for Barcoding Medicinal Plants of Selaginellaceae in Pteridophyta. PLoS ONE. 8(6): e67818; DOI:10.1371/journal.pone.0067818.
- Han X, Shen T, Lou H. 2007. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. Int. J. Mol. Sci. 8(9):950-988.
- Harborne JB, Williams CA. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry 55:481-504.
- Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. Lancet 342:1007-1011.
- Hertog MGL, Feskens EJM, Kromhout D. 1997. Antioxidant flavonols and coronary heart disease risk. Lancet 349(9053):699.
- Hofseth JL. 2004. The adaptive imbalance to genotoxic stress: genome guardians rear their ugly heads. Carcinogenesis 25(10):1787-1793.
- Hollebeeck S, Winand J, Hérent MF, During A, Leclercq J, Larondelle Y, et al. 2012. Anti-inflammatory effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) husk ellagitannins in Caco-2 cells, an in vitro model of human intestine. Food Funct 3:875-85.
- Hollman PCH, Katan MB. 1999. Dietary flavonoids: intake, health effects, bioavailability. Food Chem Toxicol 37:937-942.
- Horwitz W ed. 2005. Official methods of analysis of AOAC international. 18th ed. AOAC international. Maryland, USA.
- Houghton P, Fang R, Techatanawat I, Steventon G, Hylands PJ, Lee CC. 2007. The sulphorhodamine (SRB) assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. Methods 42:377-87.
- Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. J Agric Food Chem 53:1841-1856.
- Iqbal S, Bhanger MI. 2006. Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. J Food Comp Anal 19:544-551.
- Irina I and Mohamed. 2012. Biological activities and effects of food processing on flavonoids as phenolic antioxidants. In: Petre M. editor. Advances in applied biotechnology. Available from: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/26397.pdf>.
- Issa YA, Volate RS, Wargovich JM. 2006. The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. J Food Comp Anal 19(5):405-419.

- Judprasong K, Charoenkiatkul S, Thiyajai P, Sukprasansap M. 2013. Nutrients and bioactive compounds of Thai indigenous fruits. *Food Chem* 140(3):507-512.
- Junghans A, Sies H, Stal W. 2001. Macular pigments lutein and zeaxanthin as blue light filters studied in liposomes. *Arch Biochem Biophys* 391(2):160-4.
- Kahkonen PM, Hopia IA, Vuorela JH, Rauha PJ, Pihlaja K, Kujala ST, Heinonen M. 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47:3954-3962.
- Kaminski P, Kurhalyuk N, Kasprzak M, Jerzak L, Tkachenko H, Szady-Grad M, Klawe JJ, Koim B. 2009. The Impact of Element-Element Interactions on Antioxidant Enzymatic Activity in the lood of White Stork (*Ciconia ciconia*) Chicks. *Arch Environ Contam Toxicol* 56:325-337.
- Karry-Bouraoui N, Ksouri R, Falleh H, Rabhi M, Abdul Jaleel C, Grignon C, Lachaâl M. 2010. Effects of environment and development stage on phenolic content and antioxidant activities of *Mentha pulegium* L. *J Food Biochem* 34:79-89.
- Katayama S, Mine Y. 2007. Antioxidant activity of amino acids on tissue oxidative stress in human intestinal epithelial cell model. *J Agric Food Chem* 55:8458-64.
- Katsuke T. 2004. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:2391-2396.
- Khachik F, Goli MB, Beecher GR, Holden J, Lusby WR, Tenorio MD, Barrera MR. 1992. Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables. *J Agric Food Chem* 40: 390-398.
- King A and Young G. 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J Am Diet Assoc* 99:213-218.
- Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Maatela J. 1996. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *British Medical Journal* 312:478-481.
- Kokila K, Priyadhashini SD, Sujatha V. 2013. Phytopharmacological properties of *Albizia* species: a review. *Inter J Pharm Pharma Sci* 5(Suppl 3):70-73.
- Kress WJ, Erickson DL, Andrew Jones F, et al. 2009. Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106: 18621-6.
- Kress WJ, Erickson DL. 2007. A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding *rbcl* Gene Complements the Non-Coding *trnH-psbA* Spacer Region. *PLoS one*. 2:e508.

- Krinsky NI, Johnson EJ. 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med* 26:459-516.
- Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD. 2002. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 113:71S-88S.
- Kritikar KK, Basu BD, 1980. *Indian Medicinal Plants*. 2nd Edn., International Book Distributors, Dehradun 26-50.
- Lam SK, Ng BT. 2011. First report of an anti-tumor, anti-fungal, anti-yeast and anti-bacterial hemolysin from *Albizia lebbek* seeds. *Phytomedicine* 18:601–608.
- Lee JE, Choi JE, Choi IC, Park SJ, Sung KM. 2007. Effects of anti-inflammatory quercetin and kaempferol on cell growth and the production of angiogenic factors in HT-29 human colon cancer cells. *The FASEB journal* 21:847.22.
- Lefsrud M, Kopsell D, Wenzel A, Sheehan J. 2007. Changes in kale (*Brassica oleracea* L. var. acephala) carotenoid and chlorophyll pigment concentrations during leaf ontogeny. *Sci Hortic* 112:136-141.
- Lisiewska Z, Kmiecik W, Korus A. 2006. Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height. *J Food Comp Anal* 19:134-140.
- Lu Y, Foo Y. 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem* 68:81-85.
- Lu J, Zhao H, Chen J, Fan W, Dong J, Kong W, *et al.* 2007. Evolution of phenolic compounds and antioxidant activity during malting. *J Agric Food Chem* 55:10994-11001.
- Makris DP and Rossiter JT. 2000. Heat-induced, metal-catalyzed oxidative degradation of quercetin and rutin (quercetin 3-o-rhamnosylglucoside) in aqueous model. *J Agric Food Chem* 48:3830-3838.
- Malla S, Shrotri CK, Jain R. 2014. Antimicrobial, phytochemical and antioxidant screening of leaves and stem bark from *Albizia Lebbeck* (L.). *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 5(2):259-270.
- Masutha TH, Muofhe ML, Dakora FD. 1997. Evaluation of N₂ fixation and agroforestry potential in selected tree legumes for sustainable use in South Africa. *Soil Biol Biochem* 29(5/6): 993-998.
- Mazzucchelli L, Hauser C, Zraggen K, Wagner HE, Hess MW, Laissue JA, *et al.* 1996. Differential in situ expression of the genes encoding the chemokines MCP-1 and rantes in human inflammatory bowel. *J PETROL* 178:201-6.

- McClellan JL, Davis JM, Steiner JL, Enos RT, Jung SH, Carson JA, et al. 2012. Linking tumor-associated macrophages, inflammation, and intestinal tumorigenesis: role of MCP-1. *AM J PHYSIOL-GASTR L* 303:G1087-G95.
- McClellan JL, Davis JM, Steiner JL, Day SD, Steck SE, Carmichael MD, et al. 2012. Intestinal inflammatory cytokine response in relation to tumorigenesis in the ApcMin/+ mouse. *CYTOKINE* 57:113-9.
- Merken HM and Beecher GR. 2000. Liquid chromatography method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones. *Journal of Chromatography A* 897:177-184.
- Mirdehghan SH and Rahemi M. 2007. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae* 111:120-127.
- Mohammed AA, Hamlet MS, Ivanovski S. 2013. Titanium surface hydrophilicity modulates the human macrophage inflammatory cytokine response. *Journal of biomedical materials A* 102A(1):60-67.
- Murakami M, Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T. 2004. Effects of thermal treatment on radical-scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. *Food Chem Toxicol* 69:FCT7-FCT10.
- Naito Y, Takagi T, Yoshikawa T. 2007. Neutrophil-dependent oxidative stress in ulcerative colitis. *J Clin Biochem Nutr* 41:18–26.
- Niinemets U and Kull K. 2003. Leaf structure vs. Nutrient relationships vary with soil conditions in temperate shrubs and trees. *Acta Oecologica* 24:209-219.
- Nikolopoulou D, Grigorakis K, Stasini M, Alexis M, Iliadis K. 2006. Effects of cultivation area and year on proximate composition and antinutrients in three different *kabuli*-type chickpea (*Cicer arietinum*) varieties.
- Ning Y, Manegold PC, Hong YK, Zhang W, Pohl A, Lurje G, et al. 2011. Interleukin-8 is associated with proliferation, migration, angiogenesis and chemosensitivity in vitro and in vivo in colon cancer cell line models. *INT J CANCER* 128:2038-49.
- Nurmin T, Lampi A, Nystrom L, Piironen V. 2010. Effects of environment and genotype on phytosterols in wheat in the healthgrain diversity screen. *J Agric Food Chem* 58:9341-9323.
- Nurul MI, Mizuguchi H, Shahriar M, Venkatesh P, Maeyama K, Mukherjee KP, Hattori M, Choudhuri SKM, Takeda N, Fukui H. 2011. *Albizia lebbeck* suppresses histamine signaling by the inhibition of histamine H1 receptor and histidine decarboxylase gene transcriptions. *Int Immunopharmacol* 11:1766–1772.

- O'Connell OF, Ryan L, O'Brien NM. 2007. Xanthophyll carotenoids are more bioaccessible for fruit than dark green vegetables. *Nutrition Research* 27:258-264.
- Ou B, Huang D, Hampsch-Woodili MH, Flanagan JA, Deemer EK. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:3122-3128.
- Oulai PD, Zoue LT, Bedikou ME, Megnanou R, Niamke SL. 2014. Impact of cooking on nutritive and antioxidant characteristics of leafy vegetables consumed in Northern Côte D'Ivoire. *Inter J Plant Animal Environ Sci* 4(3):576-585.
- Padamanabhan V, Ganapathy M, Evanjelene KV, Ayyavuv N, Angamuthu J. 2014. *In vitro* antioxidant activity of *Albizia Lebbeck* (L) Benth. *International Journal of General Medicine and Pharmacy (IJGMP)* 3(2):9-16.
- Padamanabhan V, Ganapathy M, Evanjelene V, Ayyavuv N, Angamuthu. 2014. *In vitro* antioxidant activity of *Albizia lebbeck* (L.) Benth. *IJGMP* 3(2):9-16.
- Pan MH, Hsieh MC, Kuo JM, Lai CS, Wu H, Sang S, Ho CT. 2008. 6-Shogaol induces apoptosis in human colorectal carcinoma cells via ROS production, caspase activation, and GADD 153 expression. *Mol Nutr Food Res.* 52(5):527-537.
- Papas AM. 1999. Diet and Antioxidant Status. *Food and Chemical Toxicology* 37(9-10): 999-1007.
- Park MY, Ji EG, Sung MK. 2012. Dietary Kaempferol Suppresses Inflammation of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in Mice. *Dig Dis Sci* 57:355–363.
- Parveen B, Upadhyay B, Roy S, Kumar A. 2007. Traditional uses of medicinal plants among the rural communities of Churu district in the Thar Desert, India. *J Ethbopharmacol* 113:387-399.
- Pathak LN, Patel JN, Kasture BS, Jivani PN, Bhalodia SY, Malavia VS. 2010. Free radical scavenging activity of *Abizia lebbeck* methanolic extract in arthritic rats. *International Journal of Pharma Research and Development* 1(12):1-8.
- Pe´rez-Jime´nez J, Saura-Calixto F. 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res Int* 39:791-800.
- Prakash BN, Pandikumar P, Ignacimuthu. 2009. Anti-inflammatory activity of *Albizia lebbeck* Benth., an ethnomedicinal plant, in acute and chronic animal models of inflammation. *J Ethnopharmacol* 125:356-360.
- Price KR, Bacon JR, Rhodes MJ. 1997. Effect of storage and domestic processing on the content and composition of flavonol glucosides in onion (*Allium cepa*). *J Agric Food Chem* 45:938-942.

- Prior RL. 2014. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): new horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *J Functional Foods*: doi:10.1016/j.jff.2014.12.018.
- Prior RL, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwen J, O'Brien C, Lischner N, Ehlenfeldt M, Kalt W, Krewer G, Mainland CM. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *J Agric Food Chem* 46:2686-2693.
- Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53:4290-4302.
- Podsdek A, Sosnowska D, Redzynia M, Koziolkiewicz M. 2008. Effect of domestic cooking on the red cabbage hydrophilic antioxidants. *Inter J Food Sci Technol* 43: 1770-1777.
- Pujimulyani D, Raharjo S, Marsono Y, Santoso U. 2010. The effects of blanching treatment on the radical scavenging activity of white saffron (*Curcuma mangga* Val.). *Inter Food Res J* 17:615-621.
- Puwastien P, Raroengwichit M, Sungpuag P, Judprasong K. 1999. Thai Food Composition Tables. Institute of Nutrition, Mahidol University. Nakorn Pathom.
- Raffo A, Malfa GL, Fogliano V, Maiani G, Quaglia G. 2006. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *J Food Comp Anal* 19:11-19.
- Reinecker HC, Loh EY, Ringler DJ, Mehta A, Rombeau JL, MacDermott RP. 1995. Monocyte-chemoattractant protein 1 gene expression in intestinal epithelial cells and inflammatory bowel disease mucosa. *Gastroenterology* 108:40-50.
- Reimund JM, Allison AC, Muller CD, Dumont S, Kenney JS, Baumann R, Duclos B, Poindron P. 1998. Antioxidants inhibit the *in vitro* production of inflammatory cytokines in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Eur J Clin Invest* 28:145-50.
- Resmi CR, Venukumar MR, Latha MS. 2006. Antioxidant activity of *Albizia lebbek* (Linn.) Benth. in alloxan diabetic rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 50(3):297-302.
- Rodriguez-Amaya DB. 1997. Carotenoids and food preparation: the retention provitamin A carotenoids in prepared, processed and stored foods. Office of Health and Nutrition, Bureau for Global Programs, Field Support and Research, US.
- Romier-Crouzet B, Van De Walle J, During A, Joly A, Rousseau C, Henry O, Larondelle Y, Schneider YJ. 2009. Inhibition of inflammatory mediators by polyphenolic plant extracts in human intestinal Caco-2 cells. *Food Chem Toxicol.* 47(6):1221-30.

- Sanchez-Mata MC, Camara-Hurtado M, Diez-Marques C, Torija-Isasa E. 2000. Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Food Research and Technology* 210: 220-225.
- Sangpuag P, Tangchitpianvit S, Chittchang U, Wasantwisut A. 1999. Retinol and beta carotene content of indigenous raw and home-prepared foods in Northeast Thailand. *Food Chem* 64: 163-167.
- Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 45(4):287-306.
- Sedghi S, Fields JZ, Klamut M, Urban G, Durkin M, Winship D, et al. 1993. Increased production of luminol enhanced chemiluminescence by the inflamed colonic mucosa in patients with ulcerative colitis. *Gut* 34:1191-7.
- Shaban H, Richter C. 2002. A2E and blue light in the retina: the paradigm of age-related macular degeneration. *Biol Chem* 383(3-4):537-545.
- Shou S, Lu G, Huang X. 2007. Seasonal variations in nutritional components of green asparagus using the mother fern cultivation. *Sci Hortic* 112:251-257.
- Sungpuag P, Tangchitpianvit S, Chittchang U, Wasantwisut A. 1999. Retinol and beta carotene content of indigenous raw and home-prepared foods in Northeast Thailand. *Food Chem* 64:163-167.
- Tanida S, Mizoshita T, Mizushima T, Sasaki M, Shimura T, Kamiya T, Kataoka H, Joh T. 2011. Involvement of oxidative stress and mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) in inflammatory bowel disease. *J Clin Biochem Nutr* 48:112-6.
- Tasnim J, Saha A, Ahmed S, Sultana N, Muslim T, Rahman A. 2014. Biological Studies of the bark of *Albizia Lebbeck* (L.) Benth. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 5(11):4969-4974.
- Tiwari KA. 2001. Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current Science* 81(9):1179-1187.
- Turkmen N, Sari F, Velioğlu SY. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry* 93:713-718.
- Upadhyay B, Parveen B, Dhaker AK, Kumar A. 2010. Ethnomedicinal and ethnopharmacological studies of Eastern Rajasthan, India. *J Ethnopharmacol* 129(1):64-86.
- USDA. 2013. USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 26, Nutrient vitamin C. Available from: <http://ods.od.nih.gov/pubs/usdandb/VitaminC-Content.pdf>.
- USDA. 2007. USDA table of nutrient retention factors release 6. Available from: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/retn6/retn06.pdf>.

- Van Den Berg H and Van Vliet T. 1998. Effect of simultaneous, single oral doses of beta-carotene with lutein or lycopene on the beta-carotene and retinyl ester responses in the triacylglycerol-rich lipoprotein fraction of men. *Am J Clin Nutr* 68(1):82-89.
- Veberič R. 2010. Bioactive compounds in fruit plants. ISBN 978-961-6275-35-4. Available from: http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2712/Bioactive_compounds_in_fruit_plants_-_Veberic.pdf.
- Verma N, Srivastav KR. 2011. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activities of *Albizia Lebbeck* Benth. Seeds. *Pharmacologyonline* 3:1209-1216.
- Weerawatanakorn M. 2013. Chemical reaction between proteins and polyphenols and human biological consequences of reaction. *Burapha Sci. J.* 18(1):210-218.
- Wen TN, Prasad KN, Yang B, Ismail A. 2010. Bioactive substance contents and antioxidant capacity of raw and blanched vegetables. *IFET* 11:464-469.
- Wright JS, Johnson ER, DiLabio GA. 2001. Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J Am Chem Soc* 123:1173-1183.
- Xu F, Guo W, Xu W, Wang R. 2008. Habitat effects on leaf morphological plasticity in *Quercus acutissima*. *Acta Biologica Cravoviensia Series Botanica* 50(2):19-26.
- Xu F, Guo W, Xu W, Wei Y, Wang R. 2009. Leaf morphology correlated with water and light availability: What consequences for simple and compound leaves?. *Progress in Natural Science* 19:1789-1798.
- Yao Y and Ren G. 2011. Effect of thermal treatment on phenolic composition and antioxidant activities of two celery cultivars. *LWT-Food Sci Technol* 44:181-185.
- Yochum L, Kushi LH, Meyer K, Folsom AR. 1999. Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am J Epidemiology* 149:943-919.
- Yadav A, Saini V, Arora S. 2010. MCP-1: Chemoattractant with a role beyond immunity: A review. *Clinica Chimica Acta* 411:1570-9.
- Yu J, Xue JH and Zhou SL. 2011. New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. *J. Syst. Evol.* 49(3):176-81.
- Yun ZF, Sheng Y, Guoyao W. 2002. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition* 18:872-879.
- Zhang D, Hamazu Y. 2004. Phenolics, ascorbic acid and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chem* 88:503-509.

- Zheljazkov VD, Cantrell CL, Ebelhar MW, Coker C, Evans WB. 2007. Quality assessment and yield of Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*) grown at multiple location. Hortscience: 42(5):1183-1187.
- Zhou Z, Robards K, Helliwell S, Blanchard C. 2004. The distribution of phenolic acids in rice. Food Chem 87:401-406.
- Zia-ul-haq M, Ahmad S, Qayum M, Ercişli. 2013. Compositional studies and antioxidant potential of *Albizia lebbeck* (L.) Benth. Pods and seeds. Turk J Biol 37:25-32.

ภาคผนวก ข

แบบสอบถาม

ชื่อโครงการ องค์ประกอบสำคัญด้านอาหาร และโภชนาการของตะคึก จากความหลากหลายของแหล่งที่พบในประเทศไทย

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อผู้ให้ข้อมูล.....อายุ.....ปี อาชีพ.....

ชื่อโรงเรียน/หน่วยงาน.....อำเภอ.....จังหวัด.....

หมายเลขโทรศัพท์..... อีเมลล์.....

1. ท่านหรือบุคลากรอื่นในโรงเรียนรู้จักตะคึกมาก่อนหรือไม่ ☐ รู้จัก ☐ ไม่รู้จัก
(ถ้ารู้จัก) มีชื่อเรียกในท้องถิ่นว่า

2. ท่านเคยนำตะคึกมาประกอบอาหารหรือไม่ ☐ ไม่เคย (ข้ามไปตอบข้อ 3.) ☐ เคย

ถ้าเคยประกอบอาหาร ท่านชอบรสชาติหรือไม่ ☐ ไม่ชอบ ☐ ชอบ

3. ท่านสามารถระบุแหล่งที่มาของตะคึกในพื้นที่รอบๆชุมชนของท่าน ☐ ไม่ได้ (ข้ามไปข้อ 4.) ☐ ได้

ถ้าสามารถระบุได้ ปริมาณต้นตะคึกที่มีอยู่จำนวน.....ต้น

4. หากทางโครงการต้องการผู้ประสานงานโครงการสำหรับการวิจัย กรุณาระบุชื่อผู้ที่เหมาะสมได้แก่.....

หมายเลขโทรศัพท์..... อีเมลล์.....

5. ช่วงเวลาที่ต้นตะคึกแตกยอดอ่อนเหมาะแก่การเก็บคือเดือน.....

6. ท่านหรือบุคลากรอื่นใช้ประโยชน์จากตะคึกเป็นอาหารอย่างไร

ส่วนที่นำมาใช้ ประโยชน์ของตะคึก	รสชาติ (เปรี้ยว ขม มัน ฝาด จืด เผ็ด)	วิธีทำเป็นอาหาร (สด ลวก ต้ม แกง ผัด)	ชื่ออาหาร
ยอดและใบอ่อน			

ภาคผนวก ค

สรุปข้อมูลที่ได้การตอบกลับจากแบบสอบถามที่ส่งไป

No.	ชื่อผู้ให้ข้อมูล	อายุ	ชื่อโรงเรียน	อำเภอ	จังหวัด	โทรศัพท์	ชื่อเรียกในท้องถิ่น	เคยประกอบอาหาร	ชอบรสชาติหรือไม่	มีอยู่จำนวน (ตัน)	ผู้ประสานงาน	โทรศัพท์	ช่วงเวลาที่เหมาะสม	รสชาติ	ใช้ประโยชน์จากตะคึก
1	สมควร พักหอม	55	การไฟฟ้าเขื่อนศรีนครินทร์	ศรีสวัสดิ์	กาญจนบุรี	0898301799	ตะคึก	Y	Y	>50	สมควร พักหอม	0898301799	มค.-มีค.	มัน	แกงส้มตะคึก แกงเลียง ต้มจืด น้ำพริก
2	คณิจ เชื้อฉาย	55	บ้านหนองกระดี่	ด่านช้าง	สุพรรณบุรี	081-435-2822	มะคึก ฮีตุด	Y	Y	50	คณิจ เชื้อฉาย	081-435-2822	มค.-มีค.	มัน	แกงส้มตะคึกปลาอย่าง ต้มจืด น้ำพริกปลาร้า
3	รวีวรรณ ศรีจันทัก	49	ชุมพวงศึกษา	ชุมพวง	นครราชสีมา	087-880-1669	ฮีตุมช้าง ฮีตัก	Y	N	30	รวีวรรณ ศรีจันทัก	087-880-1669	ธ.ค.-ก.พ.	มัน ขม	ต้ม ลวก
4	ประทีป แดงแดง	53	บ้านกระทุมทอง	โพธาราม	นครสวรรค์	034-511-124 ต่อ 123	ตะคึก	Y	Y	>10	ศรินทร์ย์ สว่างอารมณ์	081-526-2489	ปลายเดือน มค.	จืด	ลวกจิ้ม น้ำพริก ผักน้ำมันหยด
5	ไพรวลัย ทุมพร	44	หนองหัวคูปวงประชานุเคราะห์	บ้านฝือ	อุดรธานี	087-413-6311	มะครึก	Y	-	10	ไพรวลัย ทุมพร	087-413-6311	ธ.ค.-ก.พ.	มัน ขมอมหวาน	ลวกจิ้ม น้ำพริก แกงส้ม ขุปแป้งทอด
6	ลดาวรรณ เทศยงค์	30	สามมิตร	ท่าตะโก	นครสวรรค์	086-940-3999	ต้นแคะ	Y	Y	10	ลดาวรรณ เทศยงค์	086-940-3999	-	ขมและฝาด	ลวก ต้ม
7	ภัทราธิษฐาน ไหลรวมภาคิน	31	สมเด็จพระปิยมหาราชรมณียเขต	ไทรโยค	กาญจนบุรี	089-260-7265	จามจุรี ฉ่ำฉา	N	N	10	ภัทราธิษฐาน ไหลรวมภาคิน	089-260-7265	ม.ค.-ก.พ.	-	-
8	อรรช เที่ยงยุติธรรม	56	วัดเขมาภิรตาราม	เมือง	นนทบุรี	-	-	Y	N	5	อรรช เที่ยงยุติธรรม	-	ม.ค.-มี.ค.	-	ลวกจิ้ม น้ำพริก
9	มังกร ชุ่มพงค์	53	ลำพระเพลิงพิทยาคม	ปักธงชัย	นครราชสีมา	089-864-3189	พฤกษ์ มะรุมป่า	N	-	2	มังกร ชุ่มพงค์	089-864-3189	มี.ค.-พ.ค.	มัน	จิ้ม น้ำพริก
10	สมพิศ ทิพย์สุนา	47	คอนสวรรค์	คอนสวรรค์	ชัยภูมิ	084-490-4599	ผักชีก	Y	Y	2	สมพิศ ทิพย์สุนา	084-490-4599	ก.พ.-มี.ค.	ขมเล็กน้อย มัน	ลวกจิ้ม น้ำพริก แกงเลียงยอดชีก แกงส้มยอดชีก ชิกผักน้ำมันหยด
11	วราภรณ์ พฤกษาศิลป์	43	ปรีดาวิทย	คูทอง	สุพรรณบุรี	042-150-418, 089-942-2088	คาสูง	N	-	2	วราภรณ์ พฤกษาศิลป์	042-150-418, 089-942-2088	พ.ค.	มัน	แกงส้ม ลวกจิ้ม น้ำพริก
12	ทิพย์วรรณ กุลธีระมงคล	31	ตชด.บ้านดั้นมะม่วง	ไทรโยค	กาญจนบุรี	055-511-343	ผักตูด	Y	Y	1	อังคณา เงินยวง	086-611-4822	ก.พ.-มี.ค.	ฝาดนิดๆ ส่วนยอดอ่อนขมเล็กน้อย	แกงส้มผักตูด ยำผักตูด ผัด ลวก
13	นฤมล พิศมัย	50	เทศบาล ๑ กิตติขจร	เมือง	ตาก	086-254-3175	มะขามโคก มะรุมป่า	N	-	1	นฤมล พิศมัย	086-254-3175	ม.ค.-มี.ค.	-	-
14	กนกกร ทองน้อย	38	สาธิตม.ราชภัฏนครสวรรค์	เมือง	นครสวรรค์	038-282-533	-	N	-	-	กนกกร ทองน้อย	038-282-533	-	-	-
15	สุริยา จันทร์สงค์	49	บ้านคลองนามิตรภาพที่ 201	กาญจนดิษฐ์	สุราษฎร์ธานี	081-918-4844	-	N	-	-	สุริยา จันทร์สงค์	081-918-4844	-	เปรี้ยว ฝาด	จิ้ม น้ำพริก แกงขอม
16	ปัทมวิษณุ ชาติ	35	ร่มเกล้า กาญจนบุรี	ทองผาภูมิ	กาญจนบุรี	080-652-1716	-	Y	Y	-	ปัทมวิษณุ ชาติ	080-652-1716	ม.ค.-มี.ค.	มัน ขม	แกงส้ม ลวกจิ้ม น้ำพริก
17	ปาณิสรา ลัดดากุล	31	ไทรโยคเมธีกาญจนวิทยา	ไทรโยค	กาญจนบุรี	034-591-016	ฮีตุด	Y	Y	-	ปาณิสรา ลัดดากุล	034-591-016	เม.ย.	ขมเล็กน้อย	แกงกะทิใส่ปลาย่าง ลวกจิ้ม น้ำพริก
18	ธีรพล ทองเพชร	51	วิทยาลัยอาชีวศึกษาสุราษฎร์	เมือง	สุราษฎร์ธานี	080-114-8408	ชีชีก	Y	Y	-	ธีรพล ทองเพชร	080-114-8408	ม.ค.-ก.พ.	มัน ฝาด	ลวกจิ้ม น้ำพริก ต้ม ผัด

Y = เคย N = ไม่เคย

สรุปข้อมูลที่ได้การตอบกลับจากแบบสอบถามที่ส่งไป (ต่อ)

No.	ชื่อผู้ให้ข้อมูล	อายุ	ชื่อโรงเรียน	อำเภอ	จังหวัด	โทรศัพท์	ชื่อเรียกในท้องถิ่น	เคยประกอบอาหาร	ชอบรสชาติหรือไม่	มีอยู่จำนวน (ตัน)	ผู้ประสานงาน	โทรศัพท์	ช่วงเวลาที่เหมาะสม	รสชาติ	ใช้ประโยชน์จากตะคึก
19	เครือดาว ชำห็นต้า	48	กาญจนนาภิเษกวิทยาลัย	เมือง	ชัยภูมิ	044-373-180	มะขามป้อม	N	-	-	เครือดาว ชำห็นต้า	044-373-180	มี.ค.-เม.ย.	-	-
20	วิสาวรรณ น้อยวิจิตร	37	วิทยาลัยอาชีวศึกษา กาญจนบุรี	เมือง	กาญจนบุรี	02-525-0470	-	N	N	-	วิสาวรรณ น้อยวิจิตร	02-525-0470	-	-	-
21	จิราพร พัฒนสม	25	ศึกษาสงเคราะห์สุราษฎร์ธานี	เมือง	สุราษฎร์ธานี	077-284-499, 083-644-2113	-	N	-	-	จิราพร พัฒนสม	077-284-499, 083-644-2113	-	-	-
22	สุนธิ พ่วงไป	-	โรงเรียนบ้านทุ่งยาว	หัวหิน	ประจวบฯ	085-054-1744	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	ณรงค์ ศรีทองกุล	53	วัดกาญจนาราม	กาญจน ศิษย์	สุราษฎร์ธานี	077-244-421	-	N	-	-	ณรงค์ ศรีทองกุล	077-244-421	-	-	-
24	ปิยะวุฒิ สมจรรยา	34	อนุบาลวัดบ้านสร้าง	บ้านสร้าง	ปราจีนบุรี	089-550-8897	-	N	-	-	ปิยะวุฒิ สมจรรยา	089-550-8897	-	-	-
25	มะลิวัลย์ หีบสระน้อย	36	บ้านหนองแวง	วังน้ำเขียว	นครราชสีมา	087-060-4828	ตะคึก	N	-	-	มะลิวัลย์ หีบสระน้อย	087-060-4828	-	-	-
26	หทัยรัตน์ เกตุจันทร์	26	บ้านมะเดื่อทอง	ทับสะแก	ประจวบฯ	035-551-727	ต้นตะคึก	N	Y	-	หทัยรัตน์ เกตุจันทร์	035-551-727	-	จัด ค่อนข้างมัน	แกงเลียง แกงส้ม ลวกจิ้ม น้ำพริก
27	สุรธีร์ หล่อหลอ ประจักษ์ศิริ	39	เทศบาลอินทปัญญาฯ	เมือง	ชลบุรี	081-120-3947	-	N	-	-	อโณทัย ประจวบมอญ	082-120-3022	-	-	-
28	สุวรรณ แดงโสภา	54	หนองหญ้าไผ่วิทยา	หนอง หญ้าไผ่	สุพรรณบุรี	077-355-481	-	N	-	-	สุวรรณ แดงโสภา	083-596-6483	-	-	-
29	สิรดา อุทอง	30	อนุบาลเมืองปราจีนบุรี	เมือง	ปราจีนบุรี	-	-	N	N	-	สิรดา อุทอง	-	ม.ค.-มี.ค.	-	-
30	ศิริติ เชื้อสิงห์	54	จุฬารัตน์ราชวิทยาลัย	ชะอำ	เพชรบุรี	080-015-3150	-	N	-	-	ศิริติ เชื้อสิงห์	080-015-3150	-	-	-
31	วิยาพร โพธิ์สุข	39	พระหฤทัยนทบุรี	ปากเกร็ด	นนทบุรี	086-043-6334	-	N	-	-	วิยาพร โพธิ์สุข	086-043-6334	-	-	-

Y = เคย N = ไม่เคย