บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ผักและผลไม้เป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยสารอาหารที่สำคัญที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์ ซึ่งเป็นแหล่งของวิตามินโดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินซีและวิตามินเอ และยังมีแร่ธาตุโดยเฉพาะสารอิเลคโทรไลซ์ (electrolyte) โดยทั่วไปผักและผลไม้ให้พลังงานต่ำและมักเป็นแหล่งที่ดีของเส้นใยอาหาร (fiber) และโพแทสเซียม นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมี (phytochemical) ซึ่งทำหน้าที่ในฐานะของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) และสารต้านการอักเสบ (Slavin และ Lloyd, 2012) สารพฤกษเคมีเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ไม่ใช่สารอาหารซึ่งมีอยู่ในพืชเป็นสารประกอบที่พบได้ในผลไม้ ผัก ธัญพืช และพืชอาหารชนิดอื่นๆ คาดว่าสารพฤกษเคมีมีมากกว่า 5,000 ชนิดที่แยกได้จากผัก ผลไม้ และธัญพืชแต่ละชนิด (Liu, 2004) สารพฤกษเคมีที่มีอยู่ในอาหารซึ่งมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (phytochemical antioxidant) ชนิดหลักๆที่มีการรายงานไว้ ได้แก่ 1) สารในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) ซึ่งได้แก่ สารฟลาโวนอยด์ (เช่น isoflavones, flavones, flavonols, anthocyanins, flavanols และ flavanones) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) สตีบีน (stilbenes) และลิกแนน (lignans) 2) สารในกลุ่มกลูโคซิโนเลต (glucosynolates) และ 3) สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (cerotenoids) (Blasa และคณะ, 2010) ผลของสารต้านอนุมูลอิสระในทางที่มีประโยชน์ในการป้องกันโรคได้เป็นที่ทราบโดยทั่วกันโดยในปัจจุบันมีความตระหนักเพิ่มขึ้นว่าสารอาหารอาจมีบทบาทสำคัญในการช่วยต่อต้านสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชัน (Oxidative stress) และความเสียหายที่ถูกชักนำให้เกิดขึ้นโดยอนุมูลอิสระ (free radicals) ดังนั้นสารอาหารบางชนิดและส่วนประกอบของอาหารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระมีความสำคัญสำหรับการป้องกันการบาดเจ็บจากสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันของร่างกาย มีการคาดการณ์ว่าถ้าลดการรับประทานอาหารที่อุดมไปด้วยสารอาหารและต้านอนุมูลอิสระอาจเพิ่มโอกาสการเกิดสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งอาจทำให้เซลล์เกิดการเสียหาย ดังนั้นการรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลจากธรรมชาตินั้นอาจให้ผลในทางป้องกันโรคที่เกิดจากการชักนำโดยอนุมูลอิสระ (free radical induced diseases) (Rajendran และคณะ, 2014) มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าการบริโภคผักและผลไม้ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆที่เกี่ยวข้องกับสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันในร่างกาย (oxidative stress related diseases) ได้แก่ โรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวานและอื่นๆ (Slavin และ Lloyd, 2012; Rajendran และคณะ, 2014)

สภาวะความเครียดที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชัน (oxidative stress) คือการขาดความสมดุลระหว่างการเกิดอนุมูลออกซิเจนกับอนุมูลไนโตรเจนที่รีแอกทีฟ (reactive oxygen/nitrogen species หรือ ROS/RNS) กับความสามารถของสิ่งมีชีวิตในการต่อสู้กับปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยการใช้ระบบการต้านออกซิเดชัน สภาวะความเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันที่เกิดขึ้นนั้นจะทำให้ระบบภายในมีความสามารถลดลงในการต่อสู้กับสิ่งที่เกิดจากการออกซิเดชันซึ่งเข้าโจมตีสารชีวโมเลกุลเป้าหมาย การสร้างอนุมูลอิสระที่มากเกินไปก่อให้เกิดความเสียหายต่อไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มที่สัมผัสกับอนุมูลอิสระจะสูญเสียสภาพความสามารถในการขนส่งอาหาร ไลโปโปรตีน (lipoprotein) ถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์และดีเอ็นเอที่เสียหายจะมีศักยภาพในการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่อง ความเสียหายที่ถูกชักนำโดยอนุมูลอิสระในสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชัน ได้เคยมีการยืนยันแล้วว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค (pathogenesis) และทางพยาธิสรีระวิทยา (pathophysiology) ของหลายโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาต่อสุขภาพ เช่นโรคทางระบบประสาท (neurodegenerative discases) โรคพาร์กินสัน (parkinson) โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และโรค amyotrophic lateral scterosis โรคถุงลมโป่งพอง (emphysema disease) โรคหลอดเลือดหัวใจและการอักเสบ โรคต้อกระจก (cataracts) โรคมะเร็ง (cancer) รวมทั้งโรคเบาหวาน (diabetes mullitus) (Blasa และคณะ, 2010; Pisoschi และ Pop, 2015) ด้วยเหตุนี้การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจำเป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังดังกล่าว

ผักและผลไม้บางชนิดไม่เพียงแต่จะมีสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติแล้วยังมีสารประกอบที่มีคุณค่าทางอาหารสูงชนิดอื่นๆ รวมทั้งสารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อย อย่างเช่น เส้นใยอาหาร (dietary fiber) ซึ่งนอกเหนือจากสารพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (non-starch polysaccharides) แล้วเส้นใยอาหารยังรวมถึงสารคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อย (non-digestible carbohydrates) เช่น รีซิสแตนท์สตาร์ช (resistant starch) รีซิสแตนท์มอลโตเด็กทริน (resistant maltodextrins) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharides) และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galacto-oligosaccharides) ซึ่งสารเหล่านี้จัดเป็นสารพรีไบโอติกโดยมีลักษณะทางกายภาพที่สำคัญคือมีความสามารถในการทนต่อการย่อยในลำไส้เล็กแต่จะไปเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่ มีรายงานว่าเส้นใยอาหารนอกจากจะมีประโยชน์ในด้านการช่วยลดระดับคลอเลสเทอรอลแล้วยังช่วยควบคุมโรคเบาหวานและช่วยปรับปรุงระบบการย่อยอาหาร นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ กิจกรรมของเส้นใยอาหารนี้เป็นที่รู้จักดีว่าคือกิจกรรมพรีไบโอติก (prebiotic activity) (Mudgil และ Barak, 2013) โดย Slavin (2013) ได้กล่าวว่าสารพรีไบโอติกมีประโยชน์ในการช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีประโยชน์ในลำไส้แล้วยังช่วยปรับปรุงการทำงานของผนังลำไส้ และช่วยปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน (host) ช่วยลดจำนวนประชากรเซลล์ของแบคทีเรียก่อโรค (เช่น clostridia) และยังช่วยส่งเสริมการผลิตกรดไขมันสายสั้นๆ (short chain fatty acid) อีกด้วย Muir และคณะ

(2007) ได้รายงานว่าพืชที่พบได้ในธรรมชาติหลายชนิด เช่น กระเทียม แก่นตะวัน หอมแดง หัวกระเทียมต้น และหอมหัวใหญ่ มีสารพรีไบโอติก เช่น ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์หรืออินนูลินเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นจึงน่าสนใจค้นหาผักและผลไม้ที่มีสารพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์อะไมเลสปริมาณสูงประกอบกับมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและสมบัติที่มีประโยชน์อื่นๆ ดังกล่าว เพื่อนำมาศึกษาผลต่อการเจริญและการหมักของแบคทีเรียของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตที่ผลิตจากน้ำนมโค

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในผักและผลไม้

1.2.2 เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในผักและผลไม้

1.2.3 เพื่อศึกษาสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 สกัดสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80

1.3.2 ศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ ทั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

1.3.3 ศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกด้วยการหาสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบคุณสมบัติทางด้านพฤกษเคมี เช่น กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในผักและผลไม้

1.4.2 ทราบสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระ (unpaired electron) อยู่วงนอกของอะตอม มักจะไม่เสถียรและมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยา ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบคือ superoxide, hydroxyl, peroxyl ($RO^{\bullet}_2$), alkoxyl ($RO^{\bullet}$) และอนุมูล hydroperxyl ($HO^{\bullet}_2$) ดังแสดงในตารางที่ 2.1 ไนตริกออกไซด์ และไนโตรเจนไดออกไซด์ ($^{\bullet}NO_2$) เป็นอนุมูลที่ประกอบด้วยไนโตรเจน 2 ตัว อนุมูลอิสระที่ประกอบด้วยออกซิเจนและไนโตรเจนสามารถเปลี่ยนเป็นกลุ่มอื่นๆที่มีปฏิกิริยาที่ไม่รุนแรง เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) กรดไฮโปโปรมัส (HOBr) และ เพอร์ร็อกซีไนเตรท ($ONOO^{-}$) กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, ROS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญจะผลิตขึ้นในสัตว์และมนุษย์ภายใต้สภาพสรีระวิทยา (physiologic) และพยาธิวิทยา (pathologic) ดังนั้นกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญและกลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญเป็นกลุ่มที่รุนแรงและไม่รุนแรง (Fang และคณะ, 2002) อนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวตัวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียรไม่ไวในการเกิดปฏิกิริยาและสามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน การเกิดอนุมูลอิสระมีหลายกลไกที่แตกต่างกัน (โอภา และคณะ, 2550) ดังนี้

ก. การแตกของพันธะโควาเลนท์แบบโฮโมไลซิส

$$A{:}B \longrightarrow A^{\bullet} + B^{\bullet}$$

ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A + e^{-} \longrightarrow A^{-\bullet}$$

ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

$$A \longrightarrow A^{+\bullet} + e$$

2.1.1 การเกิดอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระในสิ่งมีชีวิตเกิดจากการเผาผลาญของเซลล์โดยการใช้ออกซิเจน อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน ($O_2^{-\bullet}$) และอนุมูลไฮดรอกซี ($^{\bullet}OH$) เป็นอนุมูลที่พบในเซลล์มากกว่าอนุมูลชนิดอื่นๆ ๆอนุมูลอิสระเกิดได้จากหลายสาเหตุ ดังนี้

2.1.1.1 ไมโตคอนเดรียทำงานผิดปกติ

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการเผาผลาญจะก่อให้เกิดความเสียหายแก่ไมโตคอนเดรียโดยเฉพาะดีเอ็นเอชนิด mDNA อนุมูลอิสระจะทำให้ mDNA เสียหายทำให้มีรหัสที่ผิดไปส่งผลให้โปรตีนที่สร้างขึ้นจากการถอดรหัสนั้นผิดปกติมีการทำงานบกพร่องไปด้วย หากโปรตีนที่ผิดปกตินั้นมีบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์จะทำให้กระบวนการ

ส่งผ่านอิเล็กตรอนในไมโตคอนเดรียบกพร่องทำงานได้ลดลง มีการรั่วไหลของอิเล็กตรอนมากกว่าปกติ มีผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระ $O_2^{-\bullet}$ เพิ่มขึ้นมากเกินกว่าที่สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่มีอยู่ในเซลล์จะจัดการขจัดได้ นอกจากมีอนุมูลอิสระที่ไม่ถูกกำจัดจำนวนมากแล้วยังมีผลทำให้สารต้านอนุมูลธรรมชาติในเซลล์ เช่น กลูต้าไทโอน (GSH) วิตามินเอ วิตามินซี และวิตามินอี มีปริมาณลดลงหรือหมดไปเกิดสภาวะออกซิเดชันในเซลล์ไม่สมดุลโดยมีอนุมูลอิสระมากเกินไปเซลล์จึงตกอยู่ในสภาวะเครียดถูกบีบคั้นจากการออกซิไดซ์ (oxidative stress) นอกจากนั้นอนุมูลไฮดรอกซีที่เกิดจากอนุมูล $O_2^{-\bullet}$ ยังทำให้ไมโตคอนเดรียเสียหายรุนแรงมากขึ้น โดยอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออนไปออกซิไดซ์กลุ่ม [4Fe-4S] ในเอนไซม์ ทำให้เกิดเหล็กในรูปอิสระ (Fe^{+2}) Fe^{2+} เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซีจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton) ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^{\bullet} + OH^{-}$) นอกจากปฏิกิริยาเฟนตันแล้วยังทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซีโดยปฏิกิริยาฮาเบอร์ไวส์ (Haberweiss) จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{-\bullet} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO^{\bullet} + OH^{-}$) (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.1.2 กระบวนการเมแทบอลิซึม

กระบวนการเมแทบอลึซึมโดยเอนไซม์ ได้แก่ กระบวนการเมแทบอลึซึมอะรักชิโนดิกโดยเอนไซม์ไซโคลออกซิจิเนสให้เป็นโพรสตาแกลนดินส์และลูโคไทรอีน กระบวนการเมแทบอลึซึมแซนทีนและไฮโปแซนทีนโดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเป็นยูริก และการทำงานของเอนไซม์เอ็นเอดีพีเอชออกซิเดส การเกิดอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออนจากกระบวนการเหล่านี้นับว่ามีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับการรั่วไหลจากไมโตคอนเดรีย และไม่เกิดอันตรายแก่เซลล์หากระบบกำจัดอนุมูลทำงานเป็นปกติ ได้แก่ เอนไซม์เอสโอดี เอนไซม์คะตะเลส และเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส เป็นต้น (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.1.3 กรดอะมิโนที่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาทและระบบสื่อประสาท

กรดอะมิโนบางชนิดมีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์ประสาทและระบบสื่อประสาท เช่น กรดกลูตามิกและกรดแอสปาร์ติก รวมทั้งกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้เมื่อมีกรดอะมิโนเหล่านี้ในปริมาณที่มากผิดปกติจะสามารถทำให้เกิดปรากฏการณ์ต่อเนื่องนำไปสู่ความเสียหายแก่เซลล์โดยเฉพาะเซลล์ประสาท และสามารถทำให้เซลล์ประสาทนั้นตายในที่สุด (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.1.4 เมแทบอลิซึมของสารสื่อประสาท

เมแทบอลิซึมและสารสื่อประสาทในสมอง เช่น โดพามีน ทำให้เกิดอนุมูลและสารที่เป็นพิษ โดพามีนออกมาจากถุงเล็กๆ ในเซลล์ประสาทที่สร้างโดพามีน เซลล์ประสาททำหน้าที่ทั้งหลั่งโดพามีนออกมาจากถุงและเก็บโดพามีนกลับสู่ถุง เพื่อควบคุมให้มีปริมาณโดพามีนที่เหมาะสมในไซโตพลาสซึมและบริเวณปลายประสาท ในภาวะที่เป็นสาเหตุโรค เช่น ในภาวะเนื้อเยื่อหรืออวัยวะขาดเลือด หรือภาวะที่มีระดับออกซิเจนต่ำ จะพบว่าโดพามีนจะมีระดับเพิ่มขึ้นระดับโดพามีนที่สูงขึ้นทั้งภายในและภายนอกเซลล์สามารถทำให้สมองถูกทำลายได้ พิษของโดพามีนเกิดจากการที่โดพามีนถูกออกซิไดซ์แล้วให้ผลผลิตได้แก่ อนุมูลอิสระ สารประกอบควิโนนที่เป็นพิษและสารเมลานีน (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.1.5 สารพิษต่อเซลล์ประสาท

MPTP เป็นสารพิษที่ทำลายเซลล์ประสาท เป็นสารพิษโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการหายใจของเซลล์และทำให้เกิดภาวะออกซิไดซ์ ฤทธิ์ยับยั้งการหายใจทำให้ไมโตคอนเดรียผลิต ATP ได้ลดลง ซึ่งเหนี่ยวนำให้ระดับของแคลเซียมในไซโตพลาสซึมของเซลล์เพิ่มขึ้นจนถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อ

ร่างกายได้ ภาวะบีบคั้นจากการถูกออกซิไดซ์เกิดขึ้นได้โดยตรงโดย MPP^+ หรือเกิดโดยเป็นผลต่อเนื่องมาจากการยับยั้งการทำงานของไมโตคอนเดรียทำให้เกิดอนุมูลอิสระจำนวนมาก ซึ่งนำไปสู่การเกิดออกซิเดชันที่ชีวโมเลกุลที่สำคัญและทำให้เซลล์ตายในที่สุด (โอภา และคณะ, 2550)

ตารางที่ 2.1 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง

อนุมูลอิสระ	**สารที่เกี่ยวข้อง**
Reactive oxygen species (ROS,RS)	
Superoxide, Superoxide anion O_2	H_2O_2 Ozone O_3
Hydroxyl, $^{\bullet}OH$	Hypobromous acid, HOBr
Hydroperoxyl, $HO_2^{\bullet}$	Hypochlorous acid, HOCl
Peroxyl, $RO_2^{\bullet}$	Singlet oxygen (O_2^{1} g)
Alkoxyl, $RO^{\bullet}$	Organic peroxides, ROOH
Carbonate, $CO_3^{-\bullet}$	Peroxynitrite, $ONOO^-$
Carbon dioxide, $CO_2^{-\bullet}$	Peroxynitrous, ONOOH
Reactive nitrogen species (RNS)	
Nitric oxide	Nitrous acid, HNO_2
Nitrogen dioxide, $NO_2^{\bullet}$ $NO_2^{\bullet-}$	Nitrosyl cation, NO^+ Nitroxyl anion, NO^- Dinitrogen trtroxide, N_2O_4 Dinitrogen trioxide, N_2O_3 Peroxynitrite, $ONOO^-$ Peroxynitrous acid, ONOOH Nitronium (nitryl) cation, NO_2^+ Alkyl peroxynitrites, ROONO
Reactive chlorine species (RCS)	
Atomic chlorine, Cl	Hypochlorous acids, HOCl Nitryl (nitronium) chloride, NO_2Cl Chloramines Chlorine gas (Cl_2)
Other	
Thioyl radical ($RS^{\bullet}$)	

ที่มา : โอภา และคณะ (2550)

2.1.2 ปัจจัยภายในร่างกาย

2.1.2.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (auto-oxidation) เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะ (เจนจิรา และประสงค์, 2554) คือ

ก.) ระยะเหนี่ยวนำเริ่มต้น (initiation) เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระโดยมีแสง หรืออุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการที่ 1

$$RH + initiator \xrightarrow[T]{light} R\bullet + H\bullet \quad (1)$$

ข.) ระยะเพิ่มจำนวน (propagation) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical) แล้วทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydro peroxide) และอนุมูลอิสระ ซึ่งถ้ามีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งก็จะเกิดปฏิกิริยาต่อทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น แล้วอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก็สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ได้ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ ดังสมการที่ 1 และ 2

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$$

$$ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOH + R^{\cdot}$$

ค.) ระยะสิ้นสุด (Termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นรวมตัวกันกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร ดังสมการที่ 1 และ 2

$$R^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow RR$$

$$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow ROOR + O_2$$

2.1.2.2 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง การทำงานของเอนไซม์สำคัญ 2 ชนิดที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ได้แก่

ก.) เอนไซม์แซนธีนออกซิเดส (Xanthine oxidase : XO)

ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการสลายเบสพิวรีน (purine) โดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโพแซนธีน (hypoxanthine) เป็นแซนธีน (xanthine) และแซนธีนเป็นกรดยูริก (uric acid) พร้อมๆกับเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนให้ออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลซูปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\bullet-}$)
ดังสมการที่ 1 และ 2

$$Hypoxanthine + O_2 + H_2O \xrightarrow{XO} Xanthine + H_2O_2 + O_2^{\bullet-}$$

$$Xanthine + O_2 + H_2O \longrightarrow Uric\ acid + H_2O_2 + O_2^{\bullet-}$$

ข.) เอนไซม์ไลโพออกซีจีเนส (Lipoxygenase: LOX)

ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) ภายในโมเลกุลของเอนไซม์นี้มีเหล็ก (Fe^{2+}) เป็นส่วนประกอบอยู่ซึ่งจะทำหน้าที่ดึงอะตอมไฮโดรเจนจากกรดไขมันและเติมออกซิเจนให้กับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แล้วจะสลายตัวเป็นอนุมูลของกรดไขมันต่อไป (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

2.1.2.3 กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว ในขั้นตอนการทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยเฉพาะเชื้อโรคที่ถูกกลืนกินเข้ามาภายในร่างกาย โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีการดึงโมเลกุลของออกซิเจน (O_2) มาใช้เป็นจำนวนมากเพื่อผลิตเป็นอนุมูลซูปเปอร์ออกไซด์ ($O^{2\bullet-}$) โดยการทำงานของเอนไซม์ NADPH oxidase ที่อยู่บนเยื่อบุชั้นนอก (outer membrane) ของเม็ดเลือดขาว (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ดังสมการที่ 1

$$2O_2 + NADPH \longrightarrow 2O_2^{\bullet-} + NADP^+ + H^+$$

นอกจากนี้ยังพบว่าภายในเม็ดสี (granule) ของเม็ดเลือดขาวยังมีเอนไซม์ไมอีโลเทอรอกซิเดส(myeloperoxidase) ทำให้เกิดอนุมูลไฮโปคลอรัส (hypochlorus, $HOCl^{\bullet}$) ซึ่งเป็นสารที่ทำลายจุลชีพได้ ดังสมการที่ 2

$$H_2O_2 + Cl^- \longrightarrow HOCl^{\bullet} + OH^-$$

2.1.2.4 โลหะทรานสิชัน (Transition metal) ธาตุโลหะทรานซิชัน 2 ชนิดคือเหล็ก (Fe^{2+}) และทองแดง (Cu^{2+}) ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกายสามารถเร่งการสร้างอนุมูลไฮดรอกซิลจากซูปเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ในปฏิกิริยาของ Fenton (Fenton's reaction) (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ดังสมการ

$$H_2O_2 + O^{2\bullet-} + Fe^{2+} + / Cu^{2+} \longrightarrow OH^{\bullet} + OH^- + O_2$$

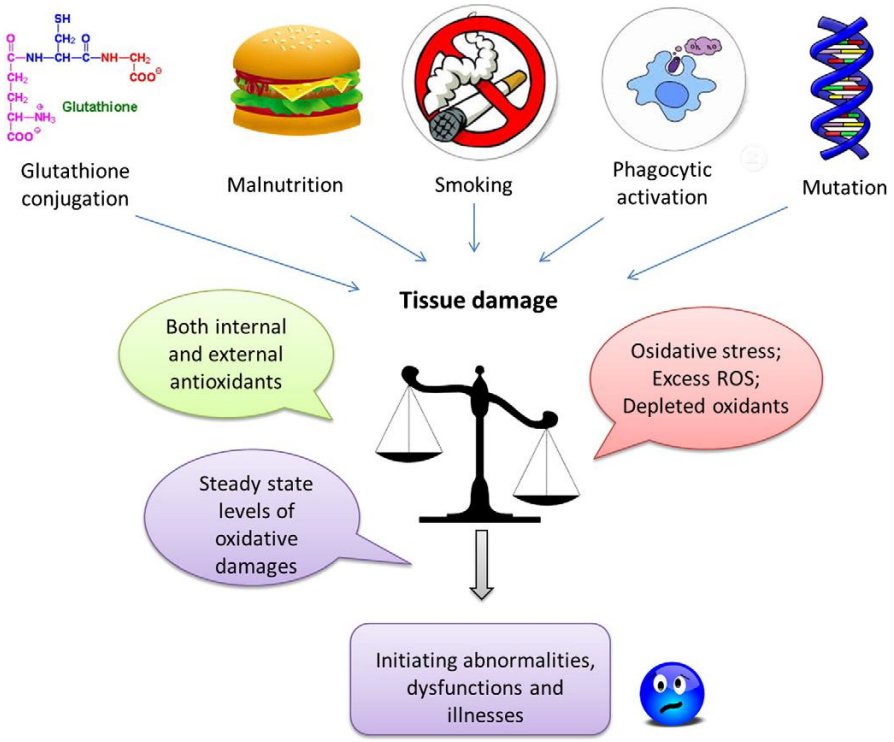
2.1.3 ปัจจัยภายนอกร่างกาย

2.1.3.1 ยารักษาโรค ยาบางชนิดที่รับประทานเข้าไปในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin) แอนทราไซคลินส์ (antracyclines) และเมโธทรีเสต (methotrexate) เนื่องจากมีฤทธิ์เสริมปฏิกิริยาออกซิเดชัน (pro-oxidation) (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

2.1.3.2 รังสี การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (x-ray) รังสีแกมมา (γ-ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

2.1.3.3 ควันบุหรี่ ในควันบุหรี่มีส่วนประกอบของไนตริกออกไซด์ (NO) ไนโตรเจนออกไซด์ (NO_2) และเพอร์ร็อกซีไนไตรท์ ($ONOO^-$) รวมทั้งสารมลพิษได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และคาร์บอนเตรตตะคลอไรด์ (CCl_4) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอนไซม์ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซีเลส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากในเซลล์ตับและพบได้บ้างในเซลล์ปอดและลำไส้เล็ก ทำให้เป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซูปเปอร์ออกไซด์ ภายในเซลล์ดังกล่าว (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

2.1.3.4 โอโซน โอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็นสารออกซิไดซ์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง (เจนจิรา และประสงค์, 2554)



รูปที่ 2.1 การชักนำให้เกิด oxidative stress และชักนำให้เกิด OSRD; ROS: reactive oxygen species; AOX: antioxidants

ที่มา : Saeidnia และ Abdollahi (2013)

2.1.4 ความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรคทั้งเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคและเป็นปัจจัยทำให้โรคมีการพัฒนาอย่างรวดเร็วและมีความรุนแรงยิ่งขึ้น โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวกับความเสื่อมและความบกพร่องของเซลล์ประสาท ระบบสื่อประสาทในสมองและภาวะขาดเลือดของอวัยวะที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตคือหัวใจและสมอง นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ อนุมูลอิสระมีความไวสูงไม่คงตัวเนื่องจากมีอิเล็กตรอนเดี่ยวไร้คู่ ดังนั้นจึงพยายามหาอิเล็กตรอนมาจับคู่ทำให้มีความคงตัวขึ้น เป้าหมายแรกที่อนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรคคือสารชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายโดยจะไวต่อการถูกออกซิไดซ์ ได้แก่ ลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเมมเบรนโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์รีเซพเตอร์ สารสื่อประสาทและดีเอ็นเอ (โอภา และคณะ, 2550)

ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอเป็นสารชีวโมเลกุลที่ถูกอนุมูลอิสระทำให้เกิดความเสียหาย ทั้งนี้เพราะสารชีวโมเลกุลเหล่านี้มีอิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนที่หลุดออกได้ง่ายทำให้อนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเข้าไปจับคู่กับอิเล็กตรอนของชีวโมเลกุล หรือดึงอิเล็กตรอนของอะตอมไฮโดรเจนออกจากสารชีวโมเลกุลนั้นๆ กล่าวคือสารชีวโมเลกุลคือ ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ ถูกออกซิไดซ์โดย

อนุมูลอิสระ อุบัติการณ์เหล่านี้ทำให้คุณสมบัติและการทำงานของชีวโมเลกุลเปลี่ยนไปเกิดความบกพร่องหรือถูกทำลายอันเป็นเหตุของการเกิดโรค (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.4.1 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ลิพิดถูกออกซิไดซ์

ในสิ่งมีชีวิตการที่ลิพิดถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูล เรียกว่า ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวและฟอสโฟลิพิดเกิดการเสื่อมสภาพหรือเสียสภาพจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้เกิดลิพิดไฮเปอร์ออกไซด์ขึ้นในที่เซลล์เมมเบรนหรือลิพิดในเลือดและในของเหลวในร่างกายอื่นๆเป็นต้น อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยาเนื่องจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายที่เซลล์เมมเบรนอันมีลิพิด 2 ชั้นประกอบกันทำให้เกิดสารประกอบเป็นผลผลิตที่หลากหลาย (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.4.2 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ดีเอ็นเอถูกออกซิไดซ์

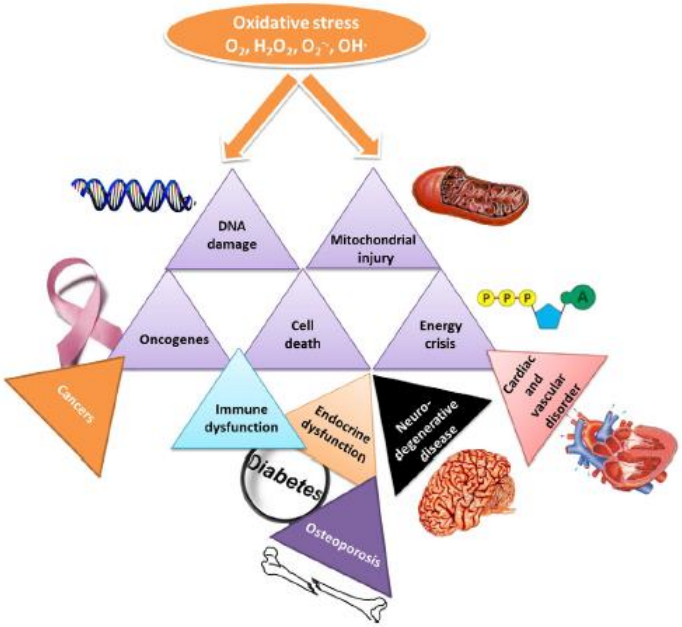
อนุมูลอิสระมีบทบาทในปฏิกิริยาที่ทำให้โครงสร้างของดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะต่างๆ เช่น nicking การจับคู่เบสในดีเอ็นเอผิดไป การจัดเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ผิดไป การหายไปของดีเอ็นเอบางส่วน การมีนิวคลีโอไทด์หรือดีเอ็นเอบางส่วนสอดแทรกและการเพิ่มขึ้นของดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายซึ่งทำความเสียหายต่อดีเอ็นเอ ได้แก่ การเติมหมู่เมทิล การกำจัดหมู่พิวรีนและการกำจัดหมู่อะมิโน อนุมูลอิสระต่างชนิดกันจะมีผลต่อดีเอ็นเอในรูปแบบที่แตกต่างกัน เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะไม่ทำปฏิกิริยากับเบสในดีเอ็นเอ ในขณะที่อนุมูล $^{\bullet}OH$ สามารถทำปฏิกิริยากับเบสในดีเอ็นเอทั้งสี่ชนิดเกิดเป็นสารหลากหลายชนิด ส่วนอนุมูล $O_2^{-\bullet}$ ทำปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงกับกัวนีนเท่านั้น (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.4.3 กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่โปรตีนถูกออกซิไดซ์

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนจะเพิ่มการเผาผลาญโปรตีนซึ่งเป็นสารเชิงซ้อนที่มีโมเลกุลใหญ่ได้เป็นสารโมเลกุลที่เล็กลงผลที่ตามมาจะทำให้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตเพราะจะมีผลกระทบต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย โปรตีนเมื่อถูกออกซิไดซ์โครงสร้างของโปรตีนจะเปลี่ยนไปได้หลายรูปแบบ การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้โปรตีนเสียสภาพซึ่งจะมีผลทำให้เอนไซม์รีเซพเตอร์และสารสื่อต่างๆ ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบไม่สามารถทำงานได้ตามปกติหรือมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง (โอภา และคณะ, 2550)

2.1.5 สภาวะเครียดถูกบีบคั้นจากกระบวนการออกซิไดซ์มากเกิน (Oxidative stress)

สภาวะเครียดถูกบีบคั้นจากกระบวนการออกซิไดซ์มากเกิน คือ ภาวะความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระ และกระบวนการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระโดยสารต้านออกซิเดชัน ภาวะดังกล่าวเป็นผลจากการเกิดอนุมูลอิสระและสารเกี่ยวข้องที่เป็นผลิตผลของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นหรือความบกพร่องของกระบวนการป้องกันอันตรายจากการเกิดออกซิเดชันเนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ต้านการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวลดลงหรือการทำงานที่ผิดปกติ หรือมีระดับสารออกซิเดชันที่ลดลงซึ่งสาเหตุดังกล่าวอาจพบร่วมกันได้ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระอันมีความไวต่อชีวโมเลกุลซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน น้ำตาล และกรดนิวคลีอิก ทำให้เซลล์ถูกทำลายและเกิดผลิตผลของอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญต่อเซลล์ ได้แก่ อนุมูลอิสระออกซิเจนและอนุมูลอิสระไนโตรเจนดังรูปที่ 2.2 (โกสินทร์ และคณะ, 2014)



รูปที่ 2.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง oxidative stress และการตายของเซลล์ หรือความผิดปกติที่เกิดขึ้น

ที่มา : Saeidnia และ Abdollahi (2013)

2.1.5.1 โรคที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินที่เกี่ยวข้อง

ในส่วนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ข้อมูลที่เกี่ยวกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกินไป (oxidative stress) รวมถึงผลในระดับเซลล์ซึ่งสามารถยับยั้งได้โดยสารต้านอนุมูลอิสระ

2.1.5.1.1 โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด (Vascular diseases)

oxidative stress มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด เนื่องจากมีบางปัจจัยที่เสี่ยงสำหรับการเกิดโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือดรวมถึงโรคความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง โรคเบาหวาน และโรคจากการสูบบุหรี่เช่นเดียวกัน โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือดเป็นโรคที่สาเหตุของโรคเกิดจากการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของ reactive oxygen species ในผนังหลอดเลือด จากการเกิดปฏิกิริยาซูปเปอร์ออกไซด์ (superoxide) กับไนตริกออกไซด์ (NO) อาจส่งผลให้เกิด peroxynitrite (ONOO-) จึงทำให้การผลิตไนตริกออกไซด์ลดลงในระดับที่เชื่อกันว่าเป็นกลไกหลักของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้การเกิด oxidative stress ในหลอดเลือดมีรายงานว่าจะทำให้เกิดเส้นเลือดอุดตันที่เกิดได้จากกลไกต่างๆเช่น การเกิดปฏิกิริยา redox sensitive transcription factors (ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของการอักเสบของยีน) และเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน และการเกิดความเสียหายกับไมโตคอนเดรียหรือนิวเคลียสในดีเอ็นเอ (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.2 โรคมะเร็ง (Cancer)

โดยทั่วไปการช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของ reactive oxygen species สามารถเพิ่มได้จากอัตราของการกลายพันธุ์หรือความไวต่อเชื้อกลายพันธุ์ ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของดีเอ็นเอในช่วงการเริ่มก่อตัวของโรคมะเร็ง ในการแพร่กระจายของเนื้องอกจะเพิ่มขึ้นเนื่องจาก

การช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของ reactive oxygen species โดยตัวลิแกนด์อิสระของตัวรับ tyrosine kinase ส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายของโรคมะเร็ง โดย reactive oxygen species สามารถที่จะช่วยเสริมการทำงานของ hypoxia-inducible factor 1 ปัจจัยในการถอดรหัสของการเจริญของเซลล์เยื่อบุผิวของเส้นเลือดที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างเส้นเลือดใหม่ ถึงแม้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถให้ประโยชน์บางอย่างสำหรับการป้องกันมะเร็งโดยการรักษาด้วยสารเคมี การรักษาโรคมะเร็งในบางตำแหน่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งในขั้นตอนการเริ่มต้นของการเกิดมะเร็งที่ยังไม่ชัดเจน ในอีกด้านหนึ่งก็มียาที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระที่ไว้ใช้ในการป้องกันมะเร็งซึ่งทำหน้าที่ผ่านกลไก epigenetic อย่างเช่น ปฏิกิริยา DNA demethylation การเปลี่ยนแปลงโปรตีนฮิสโตน และตัวควบคุมกระบวนการ RNA interference เช่น สารcurcumin, genistein และ resveratrol ในอีกด้านหนึ่งมีสารต้านมะเร็ง เช่น piperlongumine ซึ่งเข้ากับบริเวณเร่งของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่มีเพียงแค่ในเซลล์มะเร็ง ด้วยเหตุนี้จึงต้องมีความระมัดระวังเป็นอย่างมากหรือหลีกเลี่ยงการใช้ยาที่ผสมสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการรักษาด้วยเคมีบำบัดและการรักษาด้วยสารเคมี ในงานวิจัยพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถเพิ่มความอยู่รอดของเซลล์ที่มีการลอกจากสารเคลือบเซลล์ แต่สารอนุมูลอิสระนี้อาจจะทำได้ 2 หน้าที่ทั้งป้องกันการเกิดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอหรือการรักษาเซลล์เนื้องอกโดยการส่งเสริมการอยู่รอดของเซลล์ด้วยการช่วยเผาผลาญอาหาร (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.3 โรคลำไส้อักเสบ (Inflammatory bowel disease)

Crohn's disease และUlcerative colitis เป็นที่รู้จักกันว่าเป็นโรคในกลุ่มของโรคลำไส้อักเสบโดยไม่ทราบถึงสาเหตุของการเกิดโรค ซึ่งดูเหมือนว่าความผิดปกติของลำไส้อาจเกิดมาจากภูมิคุ้มกันผิดปกติและระดับของ reactive oxygen species สูง ในขณะเท่าที่สามารถตรวจสอบได้ ระดับของโมเลกุลที่เกิดการออกซิไดซ์ที่สูงจะเกิดในผู้ป่วยโรคลำไส้อักเสบเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีสุขภาพดี (ทั้งในระบบทางเดินอาหาร และระบบเลือด แม้แต่ในระบบทางเดินหายใจ) ยิ่งไปกว่านั้นในงานวิจัยพบว่าการลดลงของระดับสารต้านอนุมูลอิสระและระดับของตัวช่วยส่งเสริม reactive oxygen species (ROS) จะเป็นลักษณะที่พบในผู้ป่วยโรคลำไส้อักเสบหรือมีสาเหตุอื่นๆที่อาจมีการแทรกแซงในช่วงเริ่มต้นและความคืบหน้าเกี่ยวกับโรคลำไส้อักเสบ อย่างเช่น ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร nuclear factor (NF)-KB, nitricoxide, cyclooxygenase-2 (Cox-2) และ leukotriene B4 ดังนั้นยาที่ใช้สำหรับการรักษาลำไส้อักเสบที่ใช้อยู่ในปัจจุบันปกติจะเป็นสารต้าน TNF-α ยาปฏิชีวนะ สารยับยั้ง NF-KB สารยับยั้ง iNOS สารยับยั้งจำเพาะ Cox-2 และสารต้านอนุมูลอิสระ (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.4 โรคกระดูกพรุน (Osteoporosis)

โรคกระดูกพรุนเป็นโรคที่ค่อนข้างพบได้บ่อยในผู้สูงอายุที่มีความหนาแน่นของกระดูกต่ำและมีอาการกระดูกร้าว ในงานวิจัยพบว่ามีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคกระดูกพรุนมีทั้งการอักเสบ ฮอร์โมน ปัจจัยต่อการเจริญเติบโต paracrine และสารสกัด autocrine, homocysteine, oxidative stress และความเปราะบางของกระดูก ซึ่งพบว่า reactive oxygen species สามารถลดและเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของ fibronectin ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายและสูญเสียหน้าที่ในปมของกระดูก นอกจากนี้ reactive oxygen species อาจช่วยเพิ่มการแสดงออกของไซโตไคเนสที่มีผลต่อโรคกระดูกพรุน ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงมี

ความสามารถในการป้องกันโรคกระดูกพรุนเนื่องจากสามารถระงับผลกระทบของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

และคิดว่าพอลิเมอร์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถที่จะเปลี่ยนการผลิต interleukins (IL-1β และ IL-6) และ TNF-α โดยปรับเปลี่ยนให้ผลิตเป็น prostaglandin อย่างไรก็ตามผลของการตรวจสอบในทางคลินิกแสดงให้เห็นว่ากรดไขมัน n-3 ที่พบในการสร้างกระดูกในผู้ป่วยโรคกระดูกพรุนเพศหญิงไม่มีประโยชน์ที่สำคัญ ในขณะเดียวกันพบว่ากรดไขมัน n มีประโยชน์อย่างมีนัยสำคัญกับตัวบ่งชี้การสลายของกระดูกที่แสดงให้เห็นและมีการตั้งข้อสังเกตว่า IL-1β และ tumor necrosis factor-α (TNF-α) สามารถกระตุ้นการสลายของกระดูก (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.5 การเกิดริ้วรอยก่อนวัย (Aging)

ริ้วรอยของมนุษย์เป็นเรื่องที่เกิดขึ้นอย่างเป็นธรรมชาติที่มีปัจจัยการเกิดจำนวนมากที่แตกต่างกัน เช่น การเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาและสังคมที่เปลี่ยนไป สาเหตุหลักของการเกิดริ้วรอยนั้นเรายังไม่สามารถทราบได้ แต่มีปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดริ้วรอยทั้งวิถีการดำเนินชีวิต อาหาร การบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ ความเครียด ฯลฯ โดยมุ่งเน้นไปที่ระดับของโมเลกุล ซึ่งปัจจัยเกี่ยวกับการดำเนินชีวิตที่มีความเกี่ยวข้องกับแนวคิดของ oxidative stress สำหรับในรายงานนี้ธาตุอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบสำคัญในการรักษาความชราโดยที่ยังมีสุขภาพที่ดีและได้ผลดีที่สุด “ทฤษฎีของ oxidative stress" ระบุว่าสิ่งที่สำคัญของการเกิดริ้วรอยก่อนวัยนั้นเป็นผลมาจากการสะสมของอาการที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เปลี่ยนแปลงไม่ได้และเป็นจุดที่มีผลต่อการทำงานของสรีระวิทยาเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ของการเกิดโรคและช่วงชีวิตที่ลดลง อย่างไรก็ตามสาเหตุที่แน่นอนและผลของความสัมพันธ์ระหว่างความเสียหายจาก reactive oxygen species และการเกิดริ้วรอยก่อนวัยยังไม่มีสาเหตุที่ทำให้เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.6 โรคสมองเสื่อม (Neurodegenerative diseases)

โรคสมองเสื่อม (Alzheimer’s disease) เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางจิตในผู้สูงอายุซึ่งมีผู้ป่วยนับล้านทั่วโลก เนื่องจากสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์ (amyloid β-peptide) ซึ่งเป็นสายเพปไทด์ที่มีหมู่อะมิโน 40-42 หมู่ที่สะสมอยู่ในสมองของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมและในงานวิจัยในปัจจุบันเชื่อว่าสายเพปไทด์นี้เป็นจุดสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคนี้ขึ้น นอกเหนือจากนั้นสมองของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมยังอยู่ภายใต้สภาวะ oxidative stress ที่รุนแรงซึ่งอาจเกิดได้จากปฏิกิริยา lipid peroxidation การต่อต้านของสารอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน (protein oxidation) ไนโตรไทโรซีน (nitrotyrosine) การผลิตผลิตภัณฑ์สุดท้ายในปฏิกิริยาของ glycation ขั้นสูง และปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ (DNA/RNA oxidation) การทดลองในห้องปฏิบัติการได้ตั้งข้อสังเกตว่าสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์ มีความเชื่อมโยงกับรูปแบบของอนุมูลอิสระที่ทำให้เกิดสภาวะ oxidative stress ทำให้เกิดโรคประสาทเสื่อมในสมองของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อม ซึ่งสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์นี้อาจเกิดได้จากกลไกที่เกี่ยวข้องกับการที่กรดอะมิโนเมทไทโอนีน (methionine) มีการตกค้างที่ตำแหน่ง 35 สาเหตุของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีน ปฏิกิริยา lipid peroxidation การต่อต้านของสารอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอและการตายของเซลล์ประสาท (neuronal cell death) ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเหล่านี้ได้โดยการบริโภคสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกวิตามินอี (vitamin E)

เมลาโทนิน (melatonin) อิพิกาโลคาเทชิน กาเลต (epigallocatechin gallate) เอ็น-อะซิทิลซีสเทอีน (N-acetylcysteine) กรดแอลฟา-ไลโพอิก (α-lipoic acid) สารฟลาโวนชนิดอื่นๆ เอสโตรเจน (estrogen) และสารเอสโตรเจนที่ได้จากพืช (phytoestrogen) และสารจำพวกสารโพลีฟีนอล (polyphenol) ตัวอย่างเช่น เคอคูมิน (curcumin) สารสกัดจากแปะก๊วย ฯลฯ ในจำพวกอื่นๆที่สามารถสามารถป้องกันสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์ที่เกิดจาก oxidative stress และอาการทางประสาท (neurotoxicity) หรือการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเกิดขึ้นโดยมีสาเหตุมาจากการผลิตผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา lipid peroxidation โดยสารอะไมลอยด์ เบต้า-เพปไทด์ (Butterfield และคณะ, 2002)

ในสมองของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมีความไวมากต่อความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่อย่างไรก็ตามเซลล์ที่ใช้อากาศทุกเซลล์ก็สามารถได้รับผลกระทบด้วยเช่นกันถึงแม้ว่าสมองจะไม่ได้มีสารต่อต้านอนุมูลอิสระเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่ออื่นๆ (เช่น มีสารต้านอนุมูลอิสระร้อยละ10 ในตับ) จะใช้ร้อยละ 20 ของการใช้ออกซิเจนทั้งหมด สำหรับในส่วนของเนื้อเยื่อจะใช้ค่อนข้างน้อย (ร้อยละ 2) นอกจากนี้สมองของมนุษย์ยังมีระดับของธาตุเหล็กที่สูงได้ในบางภูมิภาคและระดับของแอสคอร์เบส (ascorbase) ที่สูงได้ในทั่วไป ข้อมูลดังกล่าวข้างต้นทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าเซลล์ประสาทมีความอ่อนไหวมากต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อส่วนอื่นๆ (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

โดยปกติแล้วจะมีความสมดุลระหว่างการสร้างอนุมูลอิสระและสารต่อต้านอนุมูลอิสระแม้จะมีปฏิกิริยาในบางสายพันธุ์ที่แสดงให้เห็นถึงบทบาททางชีวภาพที่แตกต่างกันและด้วยเหตุนี้จึงไม่ควรจะคัดออกในทันที อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระจำนวนมากมีความสามารถที่จะสร้างความเสียหายให้กับเนื้อเยื่อและเพียงพอที่จะนำไปสู่การเกิดโรคเรื้อรัง กรณีนี้ปกติจะเกิดขึ้นได้ในช่วงปลายของชีวิตมนุษย์เพราะระบบที่มีเกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมอาจล้มเหลวไปแล้ว สำหรับในผู้สูงอายุอาจมาจากสาเหตุเดียวกัน ส่วนที่เพิ่มขึ้นมาจากผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบสในกรดนิวคลีอิก การเกิดความเสียหายของโปรตีน และการรวมตัวของการตายของเซลล์ประสาท จากหลักฐานการทดลองแสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่ผิดปกติอาจเริ่มต้นทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวกับระบบประสาทผ่านวิถีที่แตกต่างกัน รวมทั้งที่แสดงออกมากเกินของยีนปกติ ปฏิกิริยา glycoxidation การกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาการตัดสายเอ็มอาร์เอ็นเอ ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโนโดย reactive oxygen species (ROS) การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ quinones-semiquinones ปฏิกิริยา chlorination และกระบวนการเปลี่ยนแปลงผลิตภัณฑ์สุดท้ายในขั้นตอนสุดท้าย (คล้ายกับสาร prostaglandins) ในวิถี cyclooxygenase (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

โรคเส้นประสาทที่เกิดจากเบาหวาน (Diabetic neuropathy) เป็นโรคที่มีการรายงานอย่างมากเนื่องจากเป็นโรคที่เกิดความเสียหายจากการบาดเจ็บที่เส้นประสาท โดยโรคเส้นประสาทที่เกิดจากเบาหวานนี้ดูเหมือนว่าจะมีความเกี่ยวข้องกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูง และเกี่ยวข้องกับความไม่สมดุลของการเผาผลาญอาหาร เช่นเดียวกับการเกิด oxidative stress ซึ่งวิถีที่มีความเกี่ยวข้องมากที่สุด (เช่น polyol, poly-ADP-ribose polymerase, protein kinase c) ซึ่งเริ่มโดยการเกิด oxidative stress จนถึงขณะนี้ยังไม่มียาที่ประสบความสำเร็จในการรักษาความเสียหายที่เกิดขึ้นนี้ได้อย่างตรงจุดและสมบูรณ์ นักวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาเฉพาะทางด้านระหว่างระบบเส้นประสาทและ oxidative stress อย่างเช่น การยับยั้ง protein kinase c, aldose reductase

และปฏิกิริยา glycation ขั้นสูง ซึ่งสารทอรีน (taurine), acetyl-L-carnitine, alpha lipoic acid, ruboxistaurin, fidarestat, epalrestat, ranirestat, benfotiamine, aspirin, aminoguanidine, benfotiamine, nicotinamide และ trandolapril ได้มีการนำมาใช้มีการนำมาพัฒนาในยาแผนปัจจุบันในการรักษาโรคเส้นประสาทที่เกิดจากเบาหวานซึ่งถือเป็นความท้าทายอย่างหนึ่งและมีความต้องการอย่างมากในการทดลองเปรียบเทียบระยะยาว ซึ่งในทุกวันนี้ประโยชน์ของการรักษาด้วยสารต้านอนุมูลอิสระในโรคอัลไซเมอร์มีการรายงานบ่อยครั้งว่ามีสาเหตุของโรคจากการเกิด oxidative stress โปรแกรมการตายของเซลล์ (apoptosis) ก็พิจารณาว่าเป็นสาเหตุของการเกิดริ้วรอยก่อนวัยและโรคอื่นที่เกี่ยวกับระบบประสาท เช่น โรคพาร์กินสัน โรคปลอกประสาทอักเสบ และโรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง ซึ่งมีปฏิสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมและปัจจัยทางพันธุกรรมอาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องในการเสื่อมของระบบประสาท oxidative stress และการเกิดอนุมูลอิสระโดยสารเร่งปฏิกิริยาโดยสาร redox active (คอปเปอร์ และเหล็ก) นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ซึ่งโลหะเหล่านี้มีการทำปฏิกิริยาโดยตรงกับเบต้าเปปไทด์ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของเบต้าอะไมลอยด์ ซึ่งเป็นหนึ่งในสาเหตุเบื้องต้นของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ การมีภาวะโลหะในสมองมากเกินอาจทำให้เกิด oxidative stress และโรคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของอนุมูลอิสระ ระบบประสาทรวมทั้งกลุ่มของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีความไวต่อปฏิกิริยา peroxidation และการเปลี่ยนแปลงด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พันธะคู่ของกรดไขมันซึ่งมีความสำคัญที่จะเป็นที่เริ่มต้นทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระและเป็นที่เริ่มต้นของการเกิดความเสียหายอย่างเป็นระบบต่อๆไป (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.1.5.1.7 โรคเบาหวาน (Diabetes)

โรคเบาหวาน (Diabtes mellitus) เป็นกลุ่มของโรคที่มีความผิดปกติของระบบเผาผลาญเนื่องมาจากระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นผลมาจากข้อบกพร่องในการหลั่งอินซูลิน การทำปฏิกิริยาของอินซูลินหรือทั้งสอง ความสมดุลของระดับน้ำตาลกลูโคสในระหว่างปี 2010 จนถึงปี 2030 คาดว่าน่าจะมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานอีกร้อยละ 69 ในประเทศที่กำลังพัฒนาเพิ่มขึ้นอีกร้อยละ 20 ในประเทศที่พัฒนาแล้วแต่ในสองประเภทหลักของโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 โรคเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นประเภทที่พบมากที่สุด (ร้อยละ 90-95 ของผู้ป่วย) ในการศึกษาล่าสุดแสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระที่สร้างจากไมโตคอนเดรียมีการชักนำให้ระดับของน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นโดยปฏิกิริยาขนส่งอิเล็กตรอนในไมโตคอนเดรีย (mitochondria electron transport chain) ซึ่งดูเหมือนว่าจะเป็นสาเหตุที่เชื่อมโยงกันระหว่างระดับของน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้นและวิถีที่เกี่ยวข้องกับการชักนำให้เกิดระดับน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งวิธีการที่มีประสิทธิภาพสำหรับการบริโภคอาหารที่สามารถแก้ปัญหาในการบริหารจัดการทั้งระดับน้ำตาลในเลือดสูงและปฏิกิริยารีดอกซ์ในเซลล์ หนึ่งในวิธีการสำหรับการรักษาโรคเบาหวานในช่วงเริ่มต้นคือการลดระดับน้ำตาลในเลือด post-prandial การรักษาด้วยวิธีนี้จะไปช่วยชะลอการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรต อย่างเช่น แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) และแอลฟา-กลูโคซิเดส (α-glucosidase) ในระบบทางเดินอาหาร การยับยั้งของเอนไซม์เหล่านี้จะช่วยชะลอการย่อยคาร์โบไฮเดรตและช่วยยืดเวลาในการย่อยคาร์โบไฮเดรตโดยรวม ทำให้เกิดการลดลงของอัตราการดูดซึมกลูโคสและลดปริมาณของน้ำตาลในเลือด post-prandial ที่มีปริมาณสูง แต่ปัญหาหลักของการใช้สารที่มีการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและแอลฟา-กลูโคซิเดสในปัจจุบันตัวอย่างเช่น อะคาร์โบส (acarbose) พบว่ามีผลข้างเคียงที่เกิดจากการยับยั้งที่มากเกินไปของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสจากตับอ่อนในการหมักโดยแบคทีเรีย abnormal ของคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการ

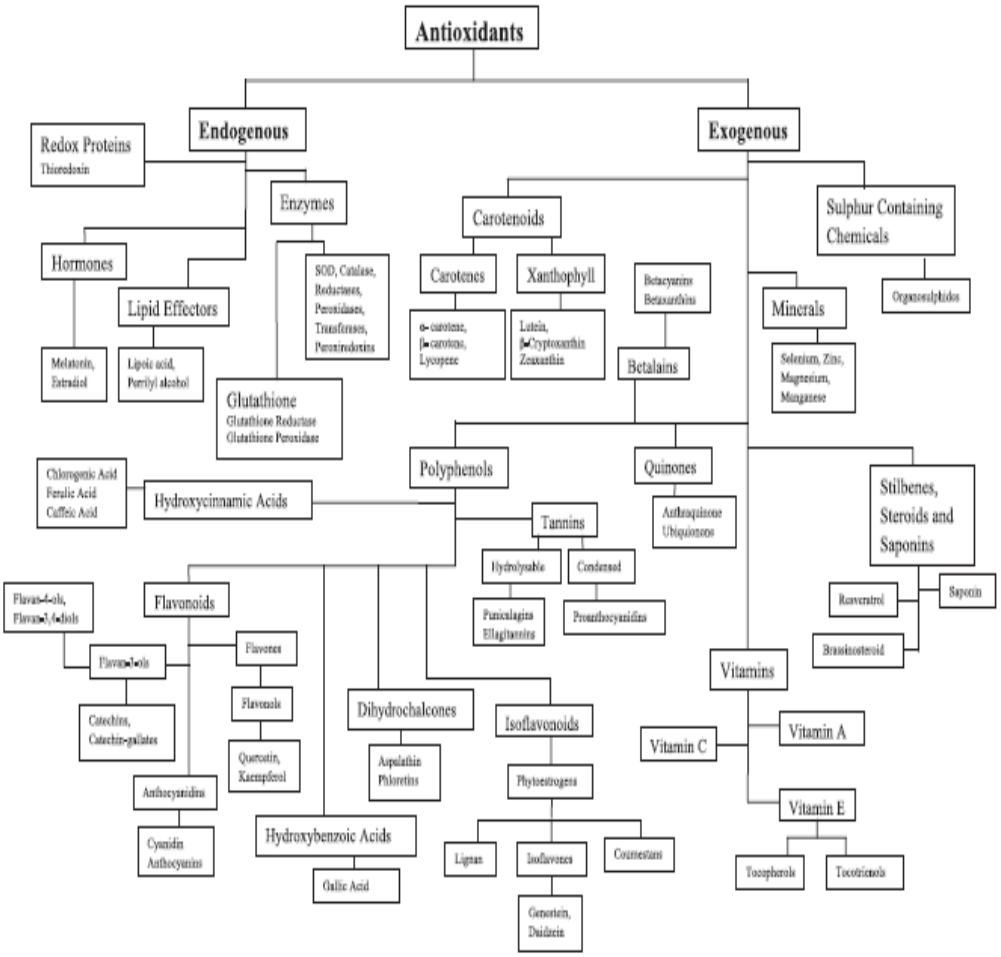
ย่อยในลำไส้ใหญ่ ดังนั้นในปีที่ผ่านมาจึงมีความสนใจอย่างมากในการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระและตัวยับยั้งเอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตจากผลไม้ ผัก และเครื่องเทศที่ผู้คนส่วนใหญ่บริโภค (Loizzo และคณะ, 2013)

ภาวะที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงของโรคเบาหวานก่อให้เกิด oxidative stress ที่มีความเกี่ยวข้องกับปัญหาของโรคเบาหวาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในหลอดเลือดที่มีการเร่งให้เกิดหลอดเลือดแข็งตัวและความเสียหายของเส้นเลือดฝอยบนจอประสาทตา ไตและเส้นประสาท ซึ่งในช่วงที่ระดับของน้ำตาลในเลือดสูงนั้นจะมีการเกิดวิถีโพลิออล และการเกิดปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ aldose reductase ในวิถีโพลีออลจะเปลี่ยนกลูโคสส่วนเกินไปเป็นซอร์บิทอลโดยใช้ NADPH ทั้งหมด ซึ่งกิจกรรมของการเกิด GSH reductase ก็จะขึ้นอยู่กับ NADPH ด้วยเช่นกัน ดังนั้นการสูญเสีย NADPH โดยการเกิด aldose reductase อาจส่งผลให้เกิดการลดลงของ GSH ที่มี ส่วนในการเกิด oxidative stress โดยทั่วไปแล้วเอนไซม์ sorbitol dehydrogenase จะเปลี่ยนซอร์บิทอลไปเป็นฟรุคโตสและจะผลิต NADH ที่มีส่วนก่อให้เกิด reactive oxygen species โดยผ่านเอนไซม์ NADH oxidase แต่ในทางตรงกันข้ามปฏิกิริยา glycation ที่ไม่ใช้เอนไซม์ของโปรตีนและไขมันอาจทำให้เกิดความผิดปกติบางอย่างในสารเคลือบเซลล์และเกิดการเปลี่ยนแปลงในไลโปโปรตีน ซึ่งโรคอ้วนนั้นจะมีผลต่อการเกิด oxidative stress และทำให้อาการแย่ลง และนั่นคือเหตุผลส่วนใหญ่ของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสารป้องกันโรคอ้วน (Saeidnia และ Abdollahi, 2013)

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไปหรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ (โอภา และคณะ, 2550) น้ำผักและผลไม้เป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยโพลีฟีนอล แคโรทีนอยด์ วิตามิน และแร่ธาตุ อาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจะมีสารที่สามารถยับยั้งกลุ่มออกซิเจนหรือกลุ่มไนโตรเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen/nitrogen species, ROS/RNS) จะหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่หรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิแดนซ์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดจะทำการออกซิไดซ์ตัวเองดังนั้นจึงทำให้การยับยั้งมีจำกัด การถ่ายทอดและขอบเขตของปฏิกิริยาลูกโซ่อนุมูลจะส่งผลต่อสารต้านอนุมูลอิสระมีปฏิกิริยาที่ลดลง สารต้านอนุมูลอิสระจะมีประสิทธิภาพในการต่อต้านที่แตกต่างกันไป สารบางชนิดสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ในขณะที่สารอื่นๆส่งผลต่อการรวมกลุ่มของโลหะหนัก ตัวอย่างเช่น แคโรทีนอยด์จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันจาก singlet oxygen การกระทำของสารต้านอนุมูลอิสระโดยตรงในส่วนประกอบของอาหารในปัจจุบันไม่น่าจะมีการดูดซึมต่ำ แต่เป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญไม่เพียงแต่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระแต่รวมถึงรักษาสมดุลรีด็อกซ์ด้วยความหลากหลายขององค์ประกอบการตอบสนองของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant response element, AER) และบทบาทของการส่งสัญญาณต่างๆรวมถึงผลกระทบบางอย่างที่เกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันในไขมัน โปรตีนและดีเอ็นเอ ชี้ให้เห็นว่าโมเลกุลบางชนิดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น โพลีฟีนอล นอกจากนี้อาจส่งผลต่อ pro-oxidant ในเนื้อเยื่อบางอย่าง สารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในอาหารมากที่สุดโดยทั่วไป เช่น โมเลกุล anti-oxidant ในการรักษาระดับของกลุ่มออกซิเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species, ROS) ในระดับที่เหมาะสมเพื่อสุขภาพที่ดี (Wootton-Beard และ Ryan, 2011) ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระที่รวบรวมไว้ทั้งหมด ซึ่งจะแบ่งออกเป็น

เอนโดจีนัสแอนติออกซิแดนซ์ (endogenous) และเอ็กโซจีนัสแอนติออกซิแดนซ์ (exogenous) ดังรูปที่ 2.3

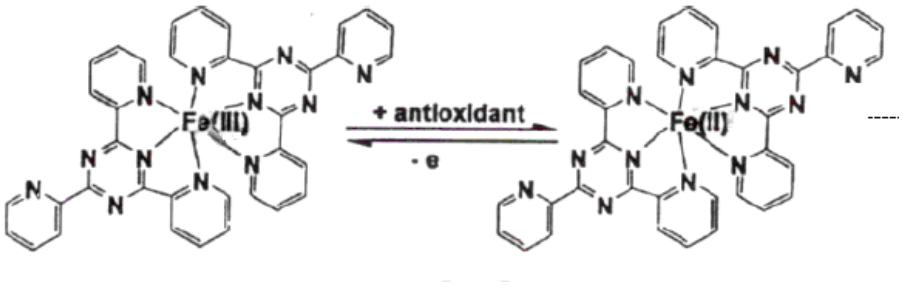


รูปที่ 2.3 แสดงประเภทต่างๆของสารต้านอนุมูลอิสระ
ที่มา : Wootton-Beard และ Ryan (2011)

2.2.1. วิธีวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

2.2.1.1 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)

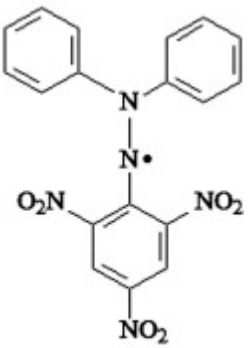
เป็นวิธีวิเคราะห์หาค่า TAC โดยตรงมีหลักการว่าสารต้านออกซิเดชันในร่างกายทำหน้าที่โดยการให้อิเล็กตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า TAC เป็นความสามารถรวมในการรีดิวซ์ วิธีนี้ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+}-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) เป็นสารทดสอบ อะตอมเหล็กในสารนี้จะถูกรีดิวซ์โดยเลือดซึ่งประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันหลายชนิด ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส Fe^{2+}-TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ดังรูปที่ 2.4 (โอภา และคณะ, 2550)



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาของ FRAP assay
ที่มา : รัชฎาพร และคณะ (2554)

2.2.1.2 วิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

อนุมูล DPPH$^{\bullet}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล ดังรูปที่ 2.5 การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องมือ EPR หรือใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์วัดการลดลงของสีเมื่อเติมสารต้านอนุมูลลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (โอภา และคณะ, 2550)



DPPH

รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)
ที่มา : รัชฎาพร และคณะ (2554)

ในการหาความสามารถในการต้านอนุมูลเรียกว่า Antiradical Efficiency (AE) โดยคำนวณจากสมการ $AE = 1/EC_{50}T_{EC50}$

EC_{50} = ความเข้มข้นของสารทดสอบที่สามารถลดปริมาณ DPPH$^{\bullet}$ เริ่มต้นลดลงได้ร้อยละ 50

T_{EC50} = เวลาที่ใช้ในการลดปริมาณอนุมูลให้ได้ EC_{50}

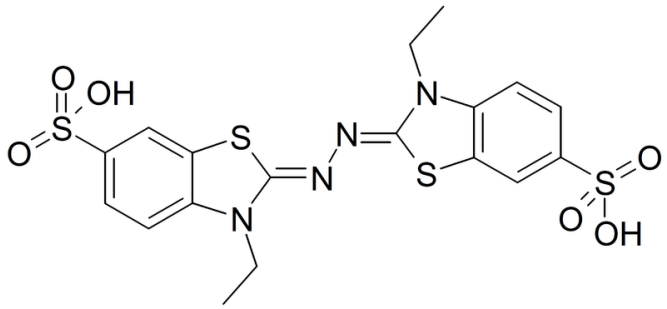
ข้อดีของวิธีนี้คือใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป จึงนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารธรรมชาติ ข้อเสียของวิธีนี้คืออนุมูล DPPH$^{\bullet}$ มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย

2.2.1.3 วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

จัดเป็นการวิเคราะห์โดยทางอ้อม วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) ใช้หาดัชนี TAC โดยการวัดความสามารถของสารที่ทดสอบหรือเลือดในการยับยั้งอนุมูลเปอร์ออกซีไม่ให้ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ด้วยกลไก HAT การวิเคราะห์จะวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยอนุมูลเปอร์ออกซีจะทำปฏิกิริยาเปลี่ยนสารที่ให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ไปเป็นสารที่ไม่ให้ฟลูออเรสเซนซ์ ดังนั้นเมื่อเติมเลือดหรือสารต้านอนุมูลลงไปขจัดอนุมูลเปอร์ออกซี จะทำให้มีแสงฟลูออเรสเซนซ์เพิ่มขึ้นตามปริมาณและความแรงของสารทดสอบที่เติมลงไป (โอภา และคณะ, 2550)

2.2.1.4 วิธี 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical scavenging assay (ABTS assay)

วิธี ABTS assay เป็นการวิเคราะห์หาสมบัติในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant capacity) ซึ่งใช้สาร reagent คือ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt เป็น stable radical ใน aqueous solution ดังรูปที่ 2.6 สารละลายนี้มีสีเขียวดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร



รูปที่ 2.6 สูตรโครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt

ที่มา : รัชฎาพร และคณะ (2554)

การทำให้เกิด ABTS cation radical ทำได้หลายวิธี ดังนี้

1. ใช้ enzyme reaction คือการใช้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิด ABTS cation radical เช่น peroxidase และ myoglobin เป็นต้น
2. ใช้ chemical reaction คือการใช้สารเคมี เช่น manganese dioxide, potassium persulfate,2,2'-azo-bis-(2-amidinopropane)(ABAP) เป็นต้น

$$OH + ABTS \rightarrow ABTS^{+} + H_2O \quad (1.1)$$

antioxidant (AH) จะทำปฏิกิริยากับ $ABTS^{+}$ ดังนี้

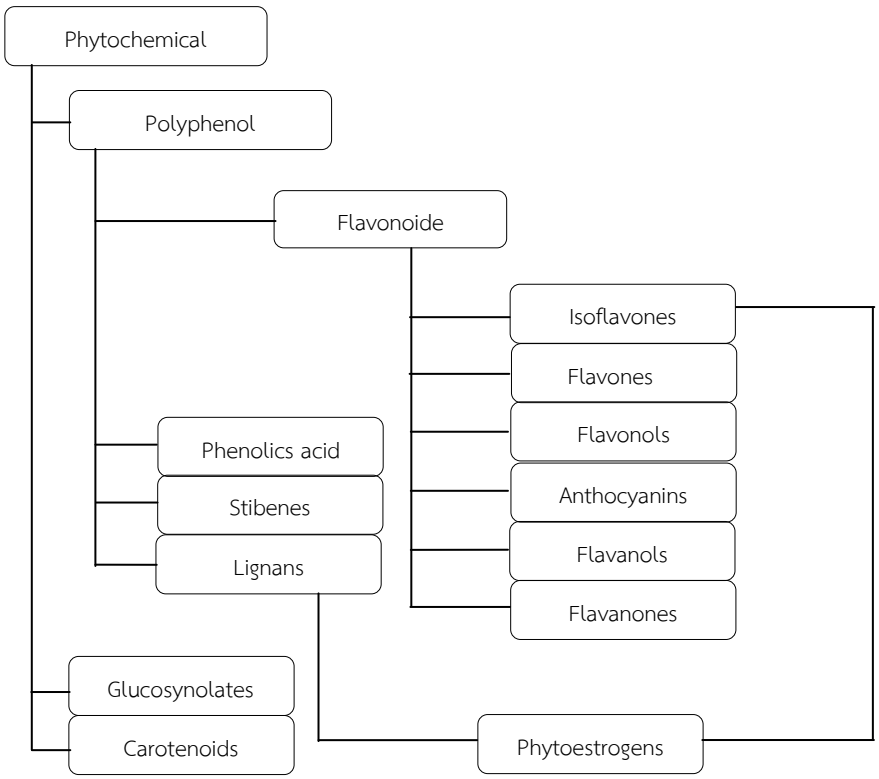
$$ABTS + AH \rightarrow ABTS + A \quad (1.2)$$

มีผลทำให้ความเข้มของสารละลายสีเขียวลดลงด้วย โดยจะทำการรายงานผลการทดลองเป็นค่าร้อยละ 50 effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ $ABTS^{+}$ เหลืออยู่ร้อยละ 50 หรือรายงานผลเป็นร้อยละ 50 inhibition concentration (IC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ $ABTS^{+}$ ลดลงร้อยละ 50 (รัชฎาพร และคณะ, 2554)

2.3 สารพฤกษเคมี

การศึกษาในสัตว์แสดงให้เห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารพฤกษเคมีในอาหารมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ ในสารประกอบพวกฟีนอลิกและโพลีฟีนอลิกเช่น สารประกอบฟลาโวนอยด์ และคาเทชินในพืชที่กินได้ ชาที่มีสารประกอบฟีนอลิกเกี่ยวกับการกำจัดสารอนุมูลอิสระและมีบทบาทในการป้องกันและรักษาโรค ประการแรกสารโพลีฟีนอลจะเพิ่มความต้านทานของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกิน (oxidative stress) ในหลอดทดลอง ประการที่สองสารโพลีฟีนอลสามารถกำจัด superoxide และอนุมูล hydroxyl และยับยั้งการเปลี่ยนแปลงออกซิเดทีฟของไลโพโปรตีนให้มีความหนาแน่นต่ำ ประการที่สามเป็นอาหารที่ช่วยส่งเสริมลดความเข้มข้นของซีรั่มของคอเลสเตอรอลทั้งหมดและ malondialdehyde (ตัวบ่งชี้ของการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation) และเพิ่มความเข้มข้นของซีรั่มให้มีไลโพโปรตีนให้มีความหนาแน่นสูงในมนุษย์ เช่น โพลีฟีนอลมีประโยชน์สำหรับการรักษาโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวานชนิดที่ 2 ประการที่สี่สารประกอบโพลีฟีนอลช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตและการชักนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็ง (Fang และคณะ, 2002)

สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารพฤกษเคมีในอาหารขั้นปฐมภูมิ โดยจะพิจารณาจากส่วนโครงสร้างทางเคมีและความสำคัญในเซลล์ระดับสรีระวิทยาและชีวเคมี โดยจะแบ่งออกตามรูปภาพที่ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ประเภทของพฤกษเคมีที่แตกต่างกันที่พบในอาหารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ
ที่มา : Blasa และคณะ (2010)

2.3.1 วิตามินซี (Vitamin C)

ตามโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี จะเรียกว่ากรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีโครงสร้างคล้ายน้ำตาลเฮกโซส (hexose) ซึ่งมีหมู่ ene-diol ที่เกี่ยวข้องกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 หมู่ ene-diol ทำให้กรดแอสคอร์บิกเป็นตัวรีดิวซ์ที่รุนแรง โดยจะออกซิไดซ์เป็น dehydroascorbic acid ได้ง่าย วิตามินซีเป็นวิตามินที่จำเป็นแก่ร่างกายและหาได้ง่ายจากผักและผลไม้ กรดแอสคอร์บิกมีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการเมแทบอลิก (metabolic) หลายกระบวนการ เช่น ฮอร์โมนคอติโคสเตียร์รอย (corticosteroid hormones) กรดน้ำดี (biliary acid) คาร์นิทีน (carnitine) โพรสตาแกลนดิน (prostaglandins) ฮิสตามีน (histamine) คอลลาเจน (collagen) เหล็ก (iron) ไทโรซีน (thyroxine) และสารสื่อประสาทบางชนิด วิตามินซียังช่วยปรับปรุงการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและสนับสนุนการขจัดซีโนไบโอติก (xenobiotic) และอนุมูล (Blasa และคณะ, 2010)

2.3.2 วิตามินอี (Vitamin E)

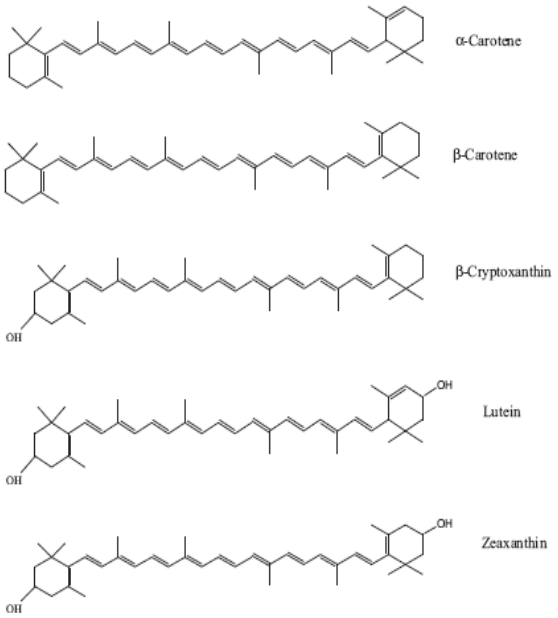
จากกิจกรรมของวิตามินอีซึ่งมีโครงสร้างเฉพาะที่เหมือนกัน ทำให้วิตามินอีถูกจัดกลุ่มว่าเป็นโทโคฟีรอล (tocopherols) วิตามินอีมีโครงสร้างที่เหมือนๆกัน (6-hydroxychromane structure) ถูกจัดแบ่งเป็นทั้งหมด 2 กลุ่ม คือ 1. $\alpha, \beta, \gamma, \delta$-tocopherols ซึ่งมีสายโซ่อิ่มตัวที่คาร์บอนตัวที่ 2 เป็น isoprenic สายยาวและเปลี่ยนกลุ่มของเมทธิลได้ในตำแหน่งวงแหวน chromanol 2. α, β, γ, δ-tocotrienols ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกันกับโทโคฟีรอล ยกเว้นสายโซ่ไม่อิ่มตัวที่มี 3 พันธะ ส่วนใหญ่โทโคฟีรอลจะมาจาก ถั่วงอก ผักใบเขียว ผลไม้ที่มี โอเลอิก เมล็ดและน้ำมัน ตามลำดับ โทโคฟีรอลช่วยการย่อยในลำไส้เล็ก อิมัลซิไฟล์ด้วยกรดน้ำดีขนส่งเลือดที่มีความหนาแน่นต่ำๆโดยลิโปโปรตีนเก็บรักษาในตับและกำจัดออกจากน้ำดีและปัสสาวะ วิตามินอีที่มีประสิทธิภาพจะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายได้ในไขมันซึ่งทำหน้าที่ร่วมกับซีลีเนียมเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของกรดไขมัน (Blasa และคณะ, 2010)

2.3.3 แคโรทีนอยด์ (Carotenoids)

แคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นรงควัตถุตามธรรมชาติที่ละลายได้ในไขมัน แคโรทีนอยด์มากกว่า 600 ชนิด แยกมาจากพืช จุลินทรีย์ และสัตว์ และอีกประมาณ 20 ชนิด ที่แยกได้จากเซรั่มจากเลือดของมนุษย์หลังจากการบริโภคผักและผลไม้ แคโรทีนที่เกิดขึ้นมีหลายรูปแบบ เช่น α-carotene และ β-carotene นอกจากนั้นยังมี γ-carotene, δ-carotene และ ε-carotene ดังรูปที่ 2.8 เบต้าแคโรทีนประกอบด้วยกลุ่มรีตินิล 2 กลุ่ม และถูกทำลายลงในเยื่อบุของลำไส้เล็กโดยเอนไซม์ β-carotene dioxygenase เพื่อให้ร่างกายและจอประสาทตานำไปใช้ได้ทั้ง retinoic acid และ retinals ซึ่งมีการใช้งานในรูปแบบของวิตามินเอ แคโรทีนอยด์ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันไขมันจากปฏิกิริยาเพอโรซิเดชัน (peroxidation) คือจะไปจับกับอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับ singlet oxygen ในผลไม้ตระกูลส้มและผักจำพวก แครอท มันฝรั่งหวาน ฟักทองเทศ ฟักทอง มะละกอ มะม่วง และแคนตาลูป เป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ (Blasa และคณะ, 2010)

ไลโคปีน (lycopene) เป็นส่วนประกอบของแคโรทีนอยด์ที่มีพันธะคู่ที่เหมือนกัน 11 พันธะต่อกันเป็นเส้นตรง เป็นสารตั้งต้นของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเกิดจากโครงสร้างแบบไซคลิก (cyclization) และปฏิกิริยาการเติมหมู่ OH (hydroxylation) เข้าไปภายหลังของตำแหน่งคาร์บอนที่เฉพาะเจาะจง มะเขือเทศ แตงโมง ส้มโอสีชมพู ผลแอปริคอต และฝรั่งสีชมพู เป็นแหล่งที่พบไลโคปีนมากที่สุด (Blasa และคณะ, 2010)

แซนโทฟิล (xanthophyll) เป็นสารแคโรทีนอยด์ที่มีรงควัตถุเป็นสีเหลือง เช่น ซีอะแซนทิน (zeaxanthin) และ ลูทีน (lutein) มีส่วนช่วยในการสังเคราะห์แสงและพบมากในใบของพืช มีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงของการพัฒนาอายุของจอประสาทตาเสื่อมและโรคต้อกระจก (Blasa และคณะ, 2010)



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของสารจำพวกแคโรทีนอยด์
ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid (9 พ.ย. 2557)

2.3.4 กลูโคซิโนเลท (Glucosinolates)

จัดเป็นไทโอกลูโคซิเดส (thioglucosides) ซึ่งเป็นสารกลุ่มเด่นที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในพืชที่จัดอยู่ใน Brassicales order กลูโคซิโนเลท (glucosinolates) กลูโคซิโนเลสประกอบด้วยหมู่ β-D-glucopyranose ที่เชื่อมต่อกับอะตอมของซัลเฟอร์และเชื่อมต่อกับอะลิฟาติก (aliphatic) หรือไม่ก็เชื่อมกับอะโรมาติก (aromatic) หรือ สายโซ่อินโดล (indole chain) กลูโคซิโนเลทมาเป็นทริปโทเฟน (tryptophan) ขณะที่สาร non-indolic glucosinolate ได้มาจากกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ (Blasa และคณะ, 2010)

2.3.5 โพลีฟีนอล (polyphenols)

โพลีฟีนอลเป็นสารทุติยภูมิที่ได้จากพืช ทำให้เกิดคุณภาพทางประสาทสัมผัส สี และช่วยต่อต้านเชื้อโรค โดยโครงสร้างทางเคมีของฟีนอล (phenol) จะมีวงแหวนอะโรมาติก (aromatic) อย่างน้อย 1 วง หรือมากกว่านั้นกับหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) อย่างน้อย 1 หมู่หรือมากกว่า 1 หมู่ กิจกรรมของสารต้านอนุมูลสามารถยับยั้ง ROS หรือจับกับ pro-oxidant ที่เป็นไอออนของโลหะ โดยเฉพาะกลุ่มของ OH (Blasa และคณะ, 2010)

เดิมสารที่เป็นโพลีฟีนอล (polyphenol) จะเคลื่อนย้ายหมู่ไฮโดรเจน (hydrogen) 1 หมู่ไปยัง peroxyl radical ต่อไป

$$ROO^{\cdot} + ArOH \rightarrow ArO^{\cdot} + ROOH$$

ฟีนอกซีเรดิเคิล (fenoxy radical; ArO˙) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยานี้ค่อนข้างจะเสถียรและตอบสนองช้ากับสารตั้งต้นชนิดอื่นๆ จึงรบกวนสายโซ่ของออกซิเดทีฟรีแอคชัน (oxidative reaction) ที่ความเข้มข้นสูง สารโพลีฟีนอล (polyphenol) อาจทำหน้าที่เป็น pro-oxidant เนื่องจากปริมาณของฟีนอกซีเรดิเคิล (fenoxy radical) ที่เกิดขึ้นสามารถกระตุ้นออกซิเดทีฟรีแอคชันได้ (Blasa และคณะ, 2010)

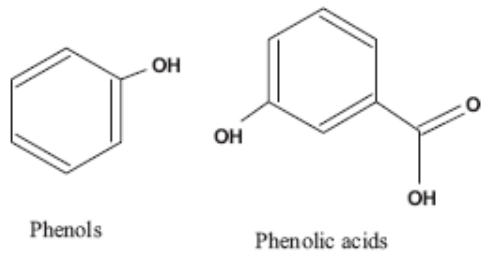
สารประกอบที่เป็นโพลีฟีนอลมีดังนี้

2.3.5.1 กรดฟีนอลิก (phenolic acid)

กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ประกอบด้วยสองกลุ่มหลักๆ คือ กรดเบนโซอิก (benzoic acid) และ กรดซินนามิก (cinnamic acid) โดยธรรมชาติกรดฟีนอลิกที่มีอยู่ในผักและผลไม้มีทั้งแบบอิสระหรือแบบคอนจูเกตมักเป็นพวกเอสเทอร์หรือเอไมด์ (Blasa และคณะ, 2010)

ธัญพืชที่อุดมไปด้วยสารประเภทกรดฟีนอลิก (phenolic acid) เช่น p-coumaric, syringic และ vanillic acid จะพบมากที่สุดในรำข้าวในขณะที่ข้าวโอ๊ตจะเป็น dihydrocaffeic synaptic และ *p*-hydroxybenzoic acid (Blasa และคณะ, 2010)

สารประกอบฟีนอลิกจะประกอบด้วยการเชื่อมกันระหว่างวงแหวนเบนโซนิก (benzonic) 2 วง โดยอีเทนหรือตัวเชื่อมอีเทน ดังรูปที่ 2.9 โดยจะพบอย่างแพร่หลายในพืชชั้นสูงทำหน้าที่เป็น phytoalexins และควบคุมการเจริญเติบโต เรสเวอราทอล (resveratrol; 3,4,5-trihydroxystil bene) อยู่ในกลุ่มของchemical famiry พบในองุ่นและไวน์และสามารถป้องกันโรคหัวใจได้ส่วนใหญ่จะบริโภคในรูปแบบของไวน์แดง (Blasa และคณะ, 2010)



รูปที่ 2.9 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound (9 พ.ย. 2557)

2.3.5.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

โครงสร้างทั่วไปของฟลาโวนอยด์จะประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) 2 วง คือวง A และ B ที่เชื่อมต่อกัน มีการเติมออกซิเจนให้กับเฮเทอโรไซคลิกของวงแหวน C โครงสร้างของวงแหวน C จะเป็นเช่นเดียวกันกับสถานะของออกซิเดชัน (oxidation) และหมู่ของฟังก์ชันของสารประกอบฟลาโวนอยด์แบ่งออกเป็น ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาวาโนน (flavanones) แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) และไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoids) ดังรูปที่ 2.10 ในผักกาดและผลไม้ฟลาโวนอยด์จะพบได้บ่อยในรูปไกลโคไซด์

(glycoside) ปฏิกิริยาไกลโคซิเลชัน (glycosylation) ทำให้โมเลกุลในปฏิกิริยาลดน้อยลงแต่ละลายน้ำได้ กลูโคสเป็นน้ำตาลที่มักจะเกี่ยวข้องกับการเกิดไกลโคไซด์ (glycoside) แต่ยังสามารถพบได้ในกาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไซโลส (xylose) และอะราบิโนส (arabinose) และนอกจากนี้ยังมีพวกไดแซคคาไรด์ (disaccharide) เช่น rutose (Blasa และคณะ, 2010)

แหล่งของฟลาโวนอยด์ขนาดใหญ่ในอาหารตะวันตกรวมทั้งผลไม้ เช่น ผลไม้ตระกูลส้ม แอปริคอต เชอร์รี่ องุ่น แบล็คเคอร์แรนท์ บิลเบอร์รี่ และแอปเปิ้ล ในจำนวนผักรวมทั้งหอมหัวใหญ่ บล็อคโคลี่ มะเขือเทศ ผักขม ผักกาดเขียว ถั่วเหลือง และสมุนไพรที่มีกลิ่นหอม ในความเป็นจริงสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีกลิ่นหอมจะมีความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์สูงกว่าผักทั่วไป สมุนไพรที่มีกลิ่นหอมยังมีสารต้านอนุมูลอิสระพิเศษที่เป็นต้นกำเนิดของสารฟีนอลิก (phenoric) สำหรับกรณีของโรสแมรี่จะเป็นฟีนอลิกพวก diterpene, carnosol และ rosmanol ซึ่งรวมถึงกรด carnosic และกรด rosmarinic จะมีสารต้านอนุมูลอิสระของฟีนอลมากในสมุนไพรชนิดนี้ ซึ่งในพริกไทย (piper nigrum) จะประกอบด้วยเอไมด์ 5 หมู่ของกรดฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (Blasa และคณะ, 2010)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบมากในพืชผัก ผลไม้ ดอกไม้ ไวน์ พืชที่มีฟลาโวนอยด์ในปริมาณมาก ได้แก่ ใบชา เปลือกมังคุด ดอกอัญชัน แอปเปิ้ล กระเจี๊ยบแดง ใบมะรุม ใบหม่อน องุ่น เชอรี่ ใบและดอกสะเดาบ้าน หอมใหญ่ และพืชตระกูลถั่ว ฟลาโวนอยด์มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น C_6-C_3-C_6 สารฟลาโวนอยด์มีความสำคัญต่อร่างกายโดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการต่อต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันมะเร็ง ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด (วีณา, 2556)

ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 6 ประเภทตามการเชื่อมต่อของวงโครเมน คือ

ก.) กลุ่มฟลาโวน (flavones) เป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์กลุ่มหนึ่งที่พบในพืชเป็นจำนวนมากมีการกระจายตัวทั่วไปในวงศ์พืชใบเลี้ยงคู่ ซึ่งส่วนใหญ่มักพบที่ส่วนใบ ส่วนเหนือดินและผลจะพบในผักชีฝรั่ง หอมใหญ่ ชา ส้ม คาโมมาย แอปเปิ้ล และแครอท เป็นต้น

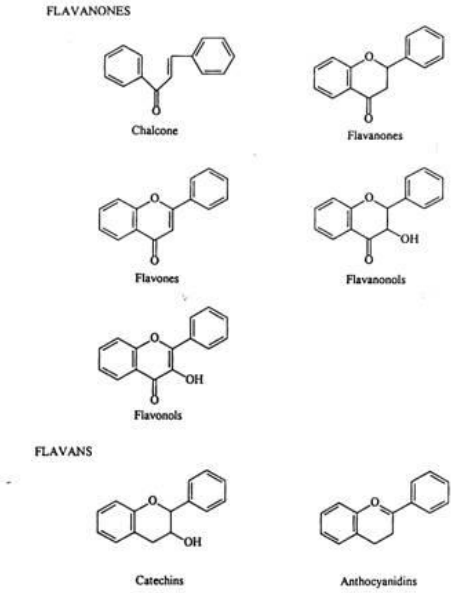
ข.) กลุ่มฟลาโวนอล (flavonols) โครงสร้างจะมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) แทนที่ตำแหน่ง C-3 ดังนั้นอาจเรียกอีกชื่อว่า 3-hydroxyflavone พบในผักผลไม้หลายชนิด เช่น ชาเขียว แอปเปิ้ล องุ่น หอมแดง ชาเรือด มะเขือเทศ เป็นต้น

ค.) กลุ่มฟลาวาโนน (flavanones) ส่วนใหญ่จะไม่มีสี หรืออาจมีสีเหลืองอ่อนๆ การกระจายตัวในพืชพบได้น้อยกว่า ฟลาโวนและฟลาโวนอลพบในเกรปฟรุต ส้ม และองุ่น

ง.) กลุ่มฟลาวาโนนอล (flavanonols) เป็นกลุ่มที่พบในธรรมชาติได้น้อยแต่โครงสร้างมีความหลากหลาย ฟลาวาโนนอลเมื่อถูกด่างที่อุณหภูมิสูงจะสลายตัวให้ชาลโคลแต่จะคงตัวได้ดีในกรดพบในเมล็ดของ milk thistle, Larix sibirica และ Chinese yew เป็นต้น

จ.) กลุ่มฟลาแวน (flavans) ฟลาวานอล (flavanols) โปรไซยานิดิน (procyanidins) และลิวโคแอนโทไซยานิน(leucoanthocyanins) ซึ่งสารกลุ่มฟลาวานอลนั้นจะหมายถึงสารกลุ่มคาเทชิน (catechins) สารกลุ่มเหล่านี้จะพบได้ในชาเขียวและชาดำ

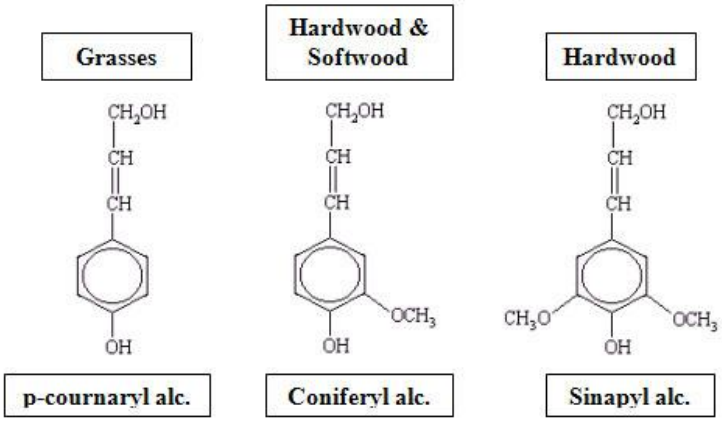
ฉ.) กลุ่มแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) เป็นสารที่ทำให้เกิดสีสันของดอกไม้และผลไม้บางชนิด พบได้ในกลับดอกไม้และส่วนอื่นๆ เช่น กลีบเลี้ยง ใบ เปลือกผล โดยสีจะออกทางโทนส้ม แดง น้ำเงิน และม่วง (วีณา, 2556)



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์
ที่มา : http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning50/FT320/064.htm (9 พ.ย. 2557)

2.3.5.3 ลิกแนน (lignans)

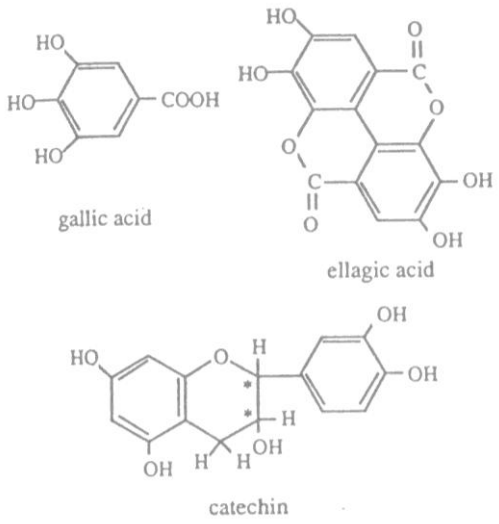
ลิกแนนเป็นไดเมอร์ (dimer) ของไดนามิกส์แอลกอฮอล์ (dynamic alcohol) ซึ่งมี cyclizes ในรูปแบบที่แตกต่างกันไปก่อให้เกิดความหลากหลายของโมเลกุลดังรูปที่ 2.11 ลิกแนนจะอยู่ในเนื้อเยื่อไม้ เมล็ดธัญพืชและพืชผัก เช่น แครอท บล็อกโคลี่ และเบอร์รี่ รวมไปถึงพวกไอโซฟลาโวน ลิกแนนจัดอยู่ในประเภทของไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogens) คือสารธรรมชาติที่ได้จากพืชซึ่งมีผลต่อการป้องกันระบบหัวใจและหลอดเลือดและระบบภูมิคุ้มกัน (Blasa และคณะ, 2010)



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของสารจำพวกลิกแนน
ที่มา : http://www.buranapagroup.com/knowledge_chemical.php (9 พ.ย. 2557)

2.3.5.4 แทนนิน (tannins)

แทนนินเป็นโพลีเมอร์ของกรดฟีนอลิก (phenolic acid) หรือฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ดังรูปที่ 2.12 มีอยู่ในธรรมชาติ มีทั้งชนิดที่เป็นไฮโดรไลซ์แทนนิน (hydrolyzable tannins) และนอนไฮโดรไลซ์แทนนิน (non-hydrolyzable tannins) หรือคอนเดนส์ (condensed) tannin หน่วยพื้นฐานของไฮโดรไลซ์แทนนินเป็นกรดแกลลิกและกรดแอลลาลิก (ellagic acid) ที่ถูกเอสเทอริไฟล์กับโมเลกุลแกนส่วนใหญ่มักเป็นน้ำตาลกลูโคสหรือสารโพลีฟีนอล เช่นคาเทชิน (catechin) คอนเดนส์แทนนิน เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า โปรแอนโทรไซยานิดิน (proanthocyanidins) ส่วนใหญ่จะเป็นโพลิเมอร์ของฟลาโวนอยด์ แทนนินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพแต่แทบจะไม่ถูกดูดซึมโดยลำไส้ และได้รับการพิจารณาว่าเป็นสาร antinutritional factor เนื่องจากสามารถทำให้สารนี้ความซับซ้อนและทำให้โปรตีนตกตะกอนและยับยั้งเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยอาหาร (Blasa และคณะ, 2010)



รูปที่ 2.12 โครงสร้างสารจำพวกแทนนิน
ที่มา : http://www.thaikasetsart.com (9 พ.ย. 2557)

ก่อนหน้านี้มีการศึกษาทางระบาดวิทยา (epidemiological) ที่มีบทบาทในเชิงบวกโดยโฮเกรน ผลไม้และผักจะขัดขวางสภาวะเครียดถูกบีบคั้นจากการเกิดออกซิไดซ์ (oxidative stress) และป้องกันโรค ผลกระทบนี้จะเกี่ยวข้องกับการมีอยู่ของเส้นใย กรดไขมันไม่อิ่มตัว oligoelement (แร่ธาตุ) และวิตามิน พอลิแซคคาไรด์ที่ย่อยไม่ได้เป็นเส้นใยที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเกี่ยวข้องกับการสร้างเมทริกซ์ที่มีลักษณะเป็นวุ้นที่ช่วยเพิ่มมวลอุจจาระนำไปสู่การลดความเข้มข้นของกรดน้ำดีที่เป็นอันตรายและสารประกอบอื่นๆที่ก่อให้เกิดสารก่อมะเร็งขึ้นในร่างกาย (Blasa และคณะ, 2010)

2.4 ผัก ผลไม้

2.4.1 ผัก (Vegetables)

ทุกคนรู้ว่าสิ่งที่เรียกว่า “ผัก” และก็ยังมีการจัดหมวดหมู่หรือคำอธิบายที่แน่นอนเกี่ยวกับส่วนที่แตกต่างกันของพืชที่ใช้สำหรับนำมาปรุงอาหาร ผักนั้นไม่มีโครงสร้างทางชีวภาพทั่วไปที่จะสามารถตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเช่นเดียวกับกรณีตัวอย่างที่เป็นธัญพืช อย่างไรก็ตามแม้จะมีความ

หลากหลายของโครงสร้างพฤกษศาสตร์ผักทุกชนิดก็มีคุณสมบัติทางโภชนาการเดียวกันโดยทั่วไปอย่างน้อยก็ในแง่ของคุณภาพ (Lintas, 1992)

ผักมีค่าพลังงานที่ต่ำซึ่งมักอยู่ระหว่าง 10 ถึง 50 กิโลแคลอรี (40-200 กิโลจูล) ต่อ 100 กรัม ถ้าต้องการที่จะได้รับประมาณ 1000 กิโลแคลอรีก็มีความจำเป็นที่จะต้องรับประทานประมาณ 2-3 กิโลกรัมสำหรับประโยชน์ทางโภชนาการของผักนั้น ผักจะมีปริมาณของธาตุอาหารสูงทั้งยังมีปริมาณแคลอรี่และไขมันต่ำแทบทุกรายงานในระดับชาติหรือระดับนานาชาติได้มีการรายงานเกี่ยวกับการลดน้ำหนักและสุขภาพมีการเรียกร้องให้บริโภคผักและผลไม้เพิ่มขึ้นแทนที่จะรับประมานอาหารที่ให้พลังงานสูง ผักทุกชนิดจะมีปริมาณน้ำที่สูงซึ่งมีค่าอยู่ตั้งแต่ช่วงร้อยละ 79 พบในมันฝรั่ง ถึง ร้อยละ96 พบในแตงกวา (ตารางที่ 2.2) ซึ่งผักต่างชนิดกันจะมีความแตกต่างกันที่องค์ประกอบทางเคมี ซึ่งในความหลากหลายขององค์ประกอบทางเคมีของผักนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิด เงื่อนไขของการเจริญเติบโตและวิธีในการปรุงอาหาร ผักโดยทั่วไปมักจะอุดมไปด้วยคาร์โบไฮเดรตแต่มีปริมาณของโปรตีน (1-5%) และไขมัน (0.1-1%) ต่ำ (Lintas, 1992)

ตารางที่ 2.2 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีของผัก (ต่อปริมาณ 100 กรัม)

สารอาหาร		แร่ธาตุ		วิตามิน		พลังงาน	
น้ำ (กรัม)	79-96	แคลเซียม (มิลลิกรัม)	10-170	เบต้า-คาโรทีน (มิลลิกรัม)	0.1-5.0	(Kcal)	10-85
โปรตีน (กรัม)	0.5-5.0	ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	12-125	ซี (มิลลิกรัม)	3-230	(Kj)	42-356
ไขมัน (กรัม)	0.1-1.0	เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.2-8.0	บี6 (มิลลิกรัม)	0.1-0.2		
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	0.5-18.0	โซเดียม (มิลลิกรัม)	2-150				
เส้นใยอาหาร (กรัม)	0.8-8.0	โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	200-600				

ที่มา : Lintas, 1992

2.4.2 ผลไม้ (Fruits)

ในผลไม้นั้นมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่ให้ค่าพลังงานในระดับปานกลาง และในผลไม้ยังมีวิตามินที่มีฤทธิ์ป้องกัน แร่ธาตุและเส้นใยอาหาร แต่มีปริมาณของโปรตีนจำนวนน้อยมาก (ตารางที่ 2.3) ในผลไม้จะมีปริมาณไขมันที่ต่ายกเว้นในอะโวคาโดและมะกอกซึ่งทั้งสองจะมีปริมาณไขมันถึงร้อยละ 15 (Lintas, 1992)

ผลไม้ชนิดต่างๆก็จะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ต่างกัน (ระหว่างร้อยละ 1.5 ถึง 26) ในผลไม้สุกจะไม่มีพวกสตาร์ช โดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสและกลูโคสเป็นหลักซึ่งมักจะอยู่ในสัดส่วนที่เท่ากัน ในแอปเปิ้ลและลูกแพร์พบว่ามีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณมาก ในขณะที่แอปริคอทและลูกพีชยังมีน้ำตาลซูโครส ทั้งผักและผลไม้ยังจะประกอบด้วยเส้นใยอาหารรวมทั้งกรดอินทรีย์ต่างๆในผลไม้สุกจะผลิตรสเปรี้ยว ซึ่งในระหว่างการสุกความเข้มข้นของกรดจะลดลงและปริมาณน้ำตาลจะ

เพิ่มขึ้นวิตามินซีนั้นจะพบอยู่ในผลไม้สด แต่สตอเบอร์รี่และผลไม้จำพวกซิตรัสโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกีวีนั้นเป็นแหล่งของวิตามิน ตัวอย่างเช่น ในกีวีหรือส้มขนาดกลางประกอบด้วยวิตามินที่ต้องการในชีวิตประจำวันสำหรับผู้ใหญ่ทั่วไป สำหรับในแอปเปิ้ลและลูกพีชมีปริมาณของวิตามินซีในระดับปานกลางซึ่งสามารถให้วิตามินในปริมาณที่สมควรเมื่อรับประทานในปริมาณที่เพียงพอ (Lintas, 1992)

ตารางที่ 2.3 ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีของผลไม้สด (ต่อปริมาณ 100 กรัม)

สารอาหาร		แร่ธาตุ		วิตามิน		พลังงาน	
น้ำ (กรัม)	80-95	แคลเซียม (มิลลิกรัม)	6-50	เบต้า-คาโรทีน (มิลลิกรัม)	0.2-2.0	(Kcal)	6-66
โปรตีน (กรัม)	0.5-1.5	เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.3-1.0	ซี (มิลลิกรัม)	10-90	(Kj)	25-276
ไขมัน (กรัม)	0.1-1.0	โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	110-450	บี6 (มิลลิกรัม)	0.03-0.35		
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	1.5-26.0						
เส้นใยอาหาร (กรัม)	0.2-6.4						

ที่มา : Lintas, 1992

ในผลไม้นั้นพบว่ามีปริมาณของธาตุเหล็กและแคลเซียมอยู่ ซึ่งปริมาณของแคลเซียมที่พบนั้นมีปริมาณน้อยในผลไม้พวกซิตรัส เช่น มะนาว ซึ่งในผลไม้ทั้งลูกนั้นจะมีปริมาณเป็น 2 เท่าของปริมาณที่มีอยู่ในปริมาณที่เท่ากันในน้ำผลไม้ ส่วนในสตอเบอร์รี่และมะเดื่อแห้งนั้นยังพบแคลเซียมอีกด้วย ส่วนแร่ธาตุพวกโซเดียม แมกนีเซียมและโพแทสเซียมนั้นยังมีความจำเป็นสำหรับเถ้า (ash) ที่มีคุณสมบัติเป็นด่างในผลไม้เมื่อเกิดระบบการเผาผลาญในร่างกาย นอกจากนี้แร่ธาตุต่างๆยังมีอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกันในผลไม้ชนิดต่างๆ (Lintas, 1992)

2.4.3 เส้นใยอาหาร (Fiber)

คำนิยามเกี่ยวกับเส้นใยอาหารที่เป็นที่ยอมรับคือปัจจัยด้านลักษณะทางกายภาพ ซึ่งลักษณะทางกายภาพของเส้นใยอาหารที่สำคัญหลักๆคือสามารถทนต่อการย่อยในลำไส้เล็กได้ คำนิยามของเส้นใยอาหารที่ผ่านๆมานั้นยังรวมถึงคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยชนิดอื่นๆด้วย ตัวอย่างเช่น รีซิสแตนท์สตาร์ช มอลโตเด็กทรินที่ทนต่อการย่อย ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ คุณสมบัติที่คล้ายคลึงกับเซลลูโลสที่ถูกดัดแปล และพอลิเมอร์ที่มาจากการรวมตัวกันของคาร์โบไฮเดรต ตัวอย่างเช่น โพลีเดกซ์โตส (polydextrose) คำนิยามที่ถูกนำเสนอล่าสุดโดย Codex Alimentarius จะรวมถึงคาร์โบไฮเดรตพอลิเมอร์ที่มีระดับของการพอลิเมอไรเซชันไม่น้อยกว่า 3 (Mudgil และ Barak, 2013)

ชนิดของเส้นใยอาหารถูกจำแนกได้จากแหล่งที่มาของความสามารถในการละลายน้ำ ประสิทธิภาพในการหมักและผลทางกายภาพ ปกติแล้วเส้นใยอาหารรวมทั้งพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช โอลิโกแซคคาไรด์ ลิกนิน และสารจากพืชที่เกี่ยวข้อง สารต่างๆเหล่านี้โดยทั่วไปจะสามารถรับ

ได้จากธัญพืช ผั่วที่มีฝัก ผักและผลไม้ สตาร์ซที่ทนต่อการย่อยจะจัดเป็นเส้นใยอาหารพวกที่สามารถทนต่อการย่อยส่วนประกอบที่เป็นน้ำตาลกลูโคสในลำไส้เล็กของมนุษย์และผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเส้นใยอาหารอย่างแพร่หลายมากขึ้นในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาเพราะว่ามีผลทางกายภาพที่เป็นประโยชน์ ตัวอย่างเช่น ช่วยลดระดับคลอเลสเทอรอลในเส้นเลือด ช่วยปรับปรุงการทำงานของลำไส้ใหญ่ และช่วยลดระดับน้ำตาลและระดับของอินซูลินในเลือด เส้นใยอาหารยังสามารถแบ่งกลุ่มออกได้ตามความสามารถในการละลายน้ำ ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ กับเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ ในส่วนของประโยชน์ที่ได้จากคุณสมบัติทางกายภาพ ตัวอย่างเช่น ช่วยลดระดับคลอเลสเทอรอล ควบคุมโรคเบาหวานและช่วยปรับปรุงระบบการย่อยอาหาร เส้นใยอาหารนั้นยังช่วยปรับปรุงการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียชนิดดีในลำไส้ กิจกรรมของเส้นใยอาหารนั้นเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของพรีไบโอติก สารพวกพรีไบโอติกนั้นเป็นสารประกอบในอาหารที่มีความสามารถทนต่อการย่อยซึ่งช่วยส่งผลประโยชน์ต่ออวัยวะของเจ้าบ้าน (host) โดยจะไปกระตุ้นการเจริญและเพิ่มกิจกรรมของแบคทีเรียชนิดดี อย่างเช่น *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* ในลำไส้ใหญ่ และยังช่วยปรับปรุงสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) ซึ่งสารที่เป็นพวกพรีไบโอติกโดยส่วนใหญ่ ได้แก่ เกอร์กัม กัม ทากาแซนกัม ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยจะทำหน้าที่เป็นอาหารสำหรับแบคทีเรียชนิดดีในลำไส้ และช่วยส่งเสริมการเจริญและช่วยเพิ่มกิจกรรมของแบคทีเรียในลำไส้ (Mudgil และ Barak, 2013)

เส้นใยอาหารโดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตพอลิเมอร์ (พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ซ) โดยเป็นส่วนปะกอบของผนังเซลล์พืชทั้ง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพคติน ซึ่งจะมีความคล้ายกับพอลิแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆของพืชและสาหร่าย ตัวอย่างเช่น กัม และมิวสิเลค และโอลิโกแซคคาไรด์ ตัวอย่างเช่น อินนูลิน ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายกับคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยซึ่งสามารถผ่านส่วนของลำไส้เล็กไปได้แต่จะถูกย่อยโดยการหมักที่ลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงรีซิสแตนท์สตาร์ซ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เซลลูโลสที่ถูกดัดแปล และพอลิเมอร์ที่เกิดการจากรวมตัวกันของคาร์โบไฮเดรตตัวอย่างเช่น โพลีเดกซ์โตส (Mudgil และ Barak, 2013)

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมีระดับของการพอลิเมอไรเซชันประมาณ 3-10 ตามธรรมชาติที่พบในอาหารของพืช ซึ่งจะพบมากในผลไม้ ผักและธัญพืช ซึ่งเป็นการรวมกันของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่โดยกระบวนการทางเคมีหรือการใช้เอนไซม์ และจากสารพอลิแซคคาไรด์โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยถูกจัดให้เป็นเส้นใยอาหารเพราะว่ามีหน้าที่ของลักษณะทางกายภาพเช่นเดียวกันกับพอลิแซคคาไรด์ขนาดใหญ่ เนื่องจากมีคุณสมบัติของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยและมีคุณสมบัติของการเป็นพรีไบโอติกด้วย ทั้งฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์นั้นเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีการบริโภค โดยจะเป็นสารอาหารที่นำมาใช้เป็นอาหารของแบคทีเรียชนิดดีตัวอย่างเช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* โดยในการศึกษามีการแสดงให้เห็นว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลินสามารถช่วยในการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียชนิดดีในลำไส้ ขณะที่จะทำการกระตุ้นเพื่อให้เกิดการลดจำนวนลงของแบคทีเรียที่เป็นอันตราย ประโยชน์เสริมในด้านอื่นๆของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลินจะไปช่วยเพิ่มผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นของกรดไขมันสายสั้นๆที่เป็นประโยชน์เช่น บิวทีเรต (butyrate) ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียม และช่วยทำให้กำจัดสารพิษได้ดีขึ้น แหล่งที่พบฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินตามธรรมชาติ ได้แก่ อาติร์โชค เบอร์ด็อก (burdock) ชิคอรี่ รากต้นแดนดิไลออน กระเทียมต้น หัวหอม และหน่อไม้ฝรั่ง นอกจากนี้ฟรุคโต

โอลิโกแซคคาไรด์ยังสามารถสังเคราะห์ได้จากซูโครสด้วยการใช้เอนไซม์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ก็สามารถสังเคราะห์ได้จากแลคโตสโดยการใช้เอนไซม์โดยที่สามารถพบกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ตามธรรมชาติได้จากถั่วเหลือง (Mudgil และ Barak, 2013)

2.4.3.1 ประโยชน์ต่อสุขภาพของเส้นใยอาหาร

2.4.3.1.1 ผลต่อระบบทางเดินอาหาร

จุลินทรีย์บางส่วนในลำไส้หรือการหมักคาร์โบไฮเดรตที่สมบูรณ์ซึ่งต้านการย่อยและเกิดการดูดซึมในลำไส้เล็ก ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักตัวอย่างเช่น กรดไขมันสายสั้นๆซึ่งมีบทบาททางกายภาพที่สำคัญ คาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยจะสามารถผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่แล้วทำให้อุจจาระมีความอ่อนนุ่มขึ้น เพิ่มปริมาณของอุจจาระและช่วยให้ขับถ่ายได้ดีขึ้น ถ้ารับประทานเส้นใยอาหารเข้าไปมากก็จะไปช่วยเพิ่มปริมาณของอุจจาระให้เพิ่มขึ้น และจะทำให้ช่วยเพิ่มเวลาการขับถ่ายให้มากขึ้น ซึ่งมีส่วนอย่างมากที่จะป้องกันความผิดปกติที่อาจเกิดขึ้นในลำไส้ใหญ่ เช่น อาการท้องผูก ลำไส้อักเสบ และมะเร็งลำไส้ใหญ่ คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกดูดซึมส่วนใหญ่จะให้ฤทธิ์เหมือนเป็นยาระบายแล้วก็ทั้งช่วยเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียหรือผลการออสโมติก (Mudgil และ Barak, 2013)

2.4.3.1.2 ผลต่อการลดระดับคลอเลสเทอรอล

จากการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้แสดงให้เห็นถึงความสอดคล้องกันของความสัมพันธ์ที่ผกผันกันระหว่างเส้นใยอาหารและอันตรายของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด โดยจะพิจารณาจากปริมาณที่พอเหมาะของระดับการรับประทานเส้นใยอาหารจะไปช่วยลดความเสี่ยงของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดได้ เมื่อเร็วๆนี้มีหลายตัวเชื่อมโยงเกี่ยวกับการรับประทานเส้นใยอาหารว่าเป็นสิ่งที่ส่งผลต่อผลของความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ กลไกการตั้งสมมติฐานต่อระดับที่ลดลงของคลอเลสเทอรอลทั้งหมดและคลอเลสเทอรอลชนิดไขมันที่มีความหนาแน่นต่ำรวมทั้งการรักษาระดับการดูดซึมคลอเลสเทอรอลและกรดน้ำดี รวมทั้งการดูดซึมและการแก้ไขระบบเมแทบอลิซึมของตับและการสลายไขมันในเส้นเลือด เส้นใยอาหารที่มีความหนืดสูง (ตัวอย่างเช่น ข้าวโอ๊ต เบต้ากลูเคน เพคติน และเกอร์กัม) มีอิทธิพลต่อระดับไขมันในเลือดแต่เส้นใยอาหารที่ไม่หนืด ตัวอย่างเช่น เส้นใยอาหารจากข้าวสาลีและเซลลูโลสทั่วไปจะไม่สามารถทำได้ ในบางที่พบว่าคุณสมบัติของการลดระดับคลอเลสเทอรอลของเส้นใยอาหารที่มีความหนืดบางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเบต้ากลูแคนจากข้าวโอ๊ตสามารถที่จะลดความเสี่ยงของโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดได้ (Mudgil และ Barak, 2013)

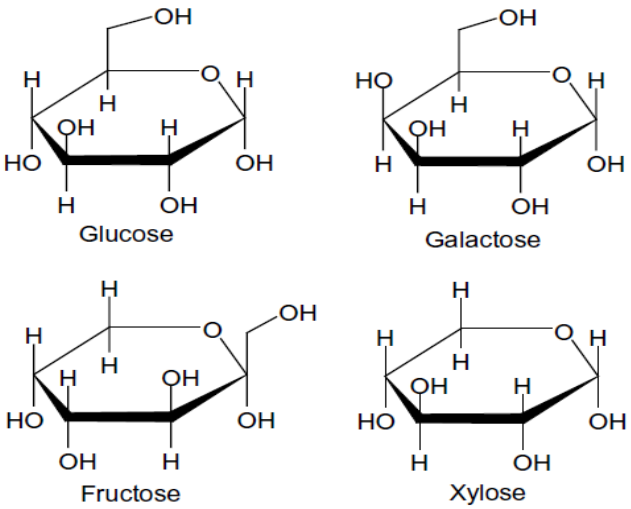
2.4.3.1.3 ลดการตอบสนองต่อระดับน้ำตาลในเลือด

ในบางรายงานการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ที่ผกผันกันระหว่างเส้นใยอาหารที่รับประทานกับความเสี่ยงของการเกิดโรคเบาหวานประเภทที่2 เส้นใยอาหารบางชนิดจะไปช่วยลดการตอบสนองต่อระดับน้ำตาลในเลือด เส้นใยอาหารที่มีความหนืดแสดงให้เห็นผลทั้งที่มาจากอาหารทั่วไปมีผลที่เหมือนกับในอาหารเสริมที่แยกได้ มีความขัดแย้งเกิดขึ้นจากข้อมูลที่คาดหวังแสดงให้เห็นว่าการรับประทานเส้นใยอาหารที่ไม่หนืด เช่น ธัญพืชเต็มเมล็ดเป็นผลดีต่อความเสี่ยงของการต้านอินซูลินและโรคเบาหวาน (จะมีความเสี่ยงน้อยถ้ารับประทานมาก) เส้นใยอาหารที่บริโภคนั้นมีความสัมพันธ์ตรงกันข้ามกับดัชนีมวลกาย อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาเกี่ยวกับการแทรกแซงความอยากอาหาร พลังงาน และอาหารทั้งหมดที่รับประทานนั้นมีไม่ความสอดคล้องกัน มีข้อบ่งชี้บางอย่างว่าเส้นใยอาหารที่มีความหนืด ตัวอย่างเช่น เพคติน และเกอร์กัมทำให้เกิดการย่อยที่กระเพาะอาหารได้ช้า และเกิดการย่อยสตาร์ชกับรีซิสแตนท์สตาร์ชได้ช้าทำให้อิ่มไว มีข้อมูลว่าประโยชน์ที่ได้จากธัญพืชเต็มเมล็ด ผลไม้และผักช่วยให้เกิดสมดุลของส่วนประกอบที่แยกจากสารอาหารเหล่านี้ (ใช้ทั้ง

อาหารเสริมและที่เพิ่มลงในอาหาร) ความเป็นไปได้อื่นๆที่ยังไม่มีคือการรวมตัวกันของเส้นใยอาหาร สารอาหาร และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ทำหน้าร่วมกันซึ่งการรวมกันนี้ส่งผลดีต่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามการจำแนกชนิดของเส้นใยอาหาร ตัวอย่างเช่น สตาร์ชที่ทนต่อการย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย และโพลีเดกซ์โตสมีส่วนช่วยในการป้องกันและช่วยบรรเทาความผิดปกติของลำไส้และลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และโรคเบาหวานประเภทที่ 2 (Mudgil และ Barak, 2013)

2.4.4 พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย (Non-digestible polysaccharide)

คาร์โบไฮเดรตนั้นสามารถนำมาแบ่งประเภทได้ตามขนาดของโมเลกุล หรือดีกรีของการพอลิเมอไรเซชัน (จำนวนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว) กลายเป็นโมโนแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์ หรือพอลิแซคคาไรด์ ตามระบบการตั้งชื่อ IUB-IUPAC โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ถูกจัดให้เป็นแซคคาไรด์ (saccharides) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 3-10 โมเลกุล ซึ่งในหน่วยงานอื่นได้ให้คำจำกัดความว่าสารใดก็ตามที่จัดเป็นแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวตั้งแต่ 3-19 โมเลกุล อย่างไรก็ตามไม่มีเหตุผลทางชีวภาพ กายภาพ หรือทางเคมี สำหรับการตั้งข้อจำกัดเหล่านี้ ดังนั้นโอลิโกแซคคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมวลโมเลกุลต่ำในขณะเดียวกันถ้าพิจารณาโดยอาศัยสมบัติพื้นฐานทางชีวภาพกายภาพคาร์โบไฮเดรตยังสามารถแบ่งประเภทได้เป็น คาร์โบไฮเดรตที่สามารถย่อยได้และคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย แนวคิดของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยเริ่มมาจากการสังเกตว่ามีคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 หรือ 2 ของโมโนแซคคาไรด์ซึ่งเป็นส่วนประกอบในหน่วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารบางชนิดมี configuration ให้พันธะโอซิดิก (osidic bond) ในโมเลกุลโอลิโกแซคคาไรด์นี้ไม่สามารถถูกย่อยโดยกิจกรรมไฮโดรไลติกของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยในอาหารของมนุษย์ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยกลุ่มหลักๆที่มีอยู่ในปัจจุบันหรือที่กำลังพัฒนาให้เป็นส่วนประกอบในอาหารรวมถึงคาร์โบไฮเดรตที่มีหน่วยของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็น ฟรุกโตส (fructose) กาแลคโตส (galactose) กลูโคส (glucose) และไซโลส (xylose) ดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 สารประกอบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย
ที่มา : Mussatto และ Mancilha (2007)

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยเป็นที่รู้จักกันดีในการนำมาช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสายพันธุ์ของ *Bifidobacteria* และได้รับการยอมรับให้เป็นพรีไบโอติก (prebiotic) โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยที่มีหน้าที่ bifidogenic ซึ่งมีการผลิตขึ้นจำหน่ายทั้งหมด 13 ชนิดแสดงในตารางที่ 2.4 ความแตกต่างทางเคมีของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยเหล่านี้อย่างเช่น ความยาวของสายโซ่ในโมเลกุล องค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จำนวนสายกิ่งและความบริสุทธิ์ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่สร้างจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่แตกต่างกัน 1 2 หรือ 3 ชนิด ถึงแม้ว่าโอลิโกแซคคาไรด์จะประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอย่างน้อย 3 โมเลกุล แลกทูโลส (lactulose) เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่คุณสมบัติคล้ายคลึงกับโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยและด้วยเหตุนี้จึงจัดว่าเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งด้วย ในทำนองเดียวกัน ไซโลไบโอส (xylobiose) เป็นน้ำตาลที่มาจากกระบวนการ polymerization ระดับ 2 ซึ่งถือว่าเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharide) เนื่องจากพบว่ามีคุณสมบัติทางเทคโนโลยีและยังส่งผลต่อสุขภาพคล้ายกับที่ได้จากไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากกระบวนการ polymerization ในระดับที่สูงกว่า (Mussatto และ Mancilha, 2007)

ตารางที่ 2.4 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยที่มีหน้าที่ bifidogenic ซึ่งที่มีจำหน่ายทางการค้า

สารประกอบ	โครงสร้างโมเลกุล[a]
Cyclodextrins	$(Gu)_n$
Fructooligosaccharides	$(Fr)_n$-Gu
Galactooligosaccharides	$(Ga)_n$-Gu
Gentiooligosaccharides	$(Gu)_n$
Glycosylsucrose	$(Gu)_n$-Fr
Isomaltooligosaccharides	$(Gu)_n$
Isomaltulose (หรือ palatinose)	(Gu-Fr)
Lactosucrose	Ga-Gu-Fr
Lactulose	Ga-Fr
Maltooligosaccharides	$(Gu)_n$
Raffinose	Ga-Gu-Fr
Soybean oligosaccharides	$(Ga)_n$-Gu-Fr
Xylooligosaccharides	$(Xy)_n$

[a] Ga,กาแลคโตส;Gu,กลูโคส;Fr,ฟรุคโตส;Xy,ไซโลส

ที่มา : Mussatto และ Mancilha (2007)

2.4.4.1 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

โอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติละลายน้ำได้และโดยปกติจะมีความหวานเป็น 0.3-0.6 เท่าของน้ำตาลทราย ซึ่งในความเป็นจริงแล้วความหวานนี้จะขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมี ระดับของการเกิด polymerization ของโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่และระดับของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ภายในโครงสร้าง มีรายงานว่าความหวานจะลดลงตามความยาวของสายโมเลกุลที่เพิ่มขึ้น ความหวาน

ที่ต่ำนี้มีประโยชน์อย่างมากกับอาหารหลายชนิดที่ต้องการจำกัดการใช้น้ำตาลซูโครส (sucrose) เนื่องจากมีความหวานมาก

การที่โอลิโกแซคคาไรด์มีความหวานที่ค่อนข้างต่ำทำให้โอลิโกแซคคาไรด์มีประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเมื่อต้องการลดความหวานลงเพื่อเพิ่มกลิ่นรสของอาหารชนิดอื่นๆ ในกรณีของอาหารที่มีความหวานมากเราอาจจะใช้โอลิโกแซคคาไรด์ในฐานะของ bulking agent ร่วมกับสารให้ความหวานแทนน้ำตาล ตัวอย่างเช่น แอสปาร์แทม (aspartame) หรือซูคราโลส (sucralose) เพื่อช่วยบดบังกลิ่นรสที่ไม่ดีของสารให้ความหวานบางชนิด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่แล้วจะพบว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าจะให้ความหนืดที่มากกว่าซึ่งจะทำให้ปรับปรุงลักษณะของอาหารและรสสัมผัสในปาก (Mussatto และ Mancilha, 2007)

ความคงตัวจะมีความแตกต่างกันตามกลุ่มของโมเลกุลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งขึ้นอยู่กับการ sugar residues ที่มีอยู่ รูปร่างที่เป็นวงแหวน การจัดเรียงตัวแบบ 3 มิติของ anomeric carbon และชนิดของพันธะในโมเลกุล โดยทั่วไปแล้วพันธะเบต้าจะมีความแข็งแรงมากกว่าพันธะแอลฟาและน้ำตาลเฮกโซส (hexose) จะมีพันธะที่เชื่อมกันแข็งแรงกว่าน้ำตาลเพนโทส (pentose) แต่อย่างไรก็ตามน้ำตาลทั้งหมดที่ค่า pH น้อยกว่า 4.0 และในสภาพที่มีการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นหรือในสภาพของการเก็บไว้เป็นเวลานานที่อุณหภูมิห้อง โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในอาหารสามารถถูกไฮโดรไลซ์ทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ โอลิโกแซคคาไรด์ยังสามารถนำไปใช้ในการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่แข็งอาหารแช่แข็ง และควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยา Millard ในอาหารที่ผ่านการแปรรูปโดยการให้ความร้อนและยังทำให้มีความสามารถในการกักเก็บความชื้นซึ่งช่วยป้องกันการแห้งมากเกินไปและยังช่วยให้ปริมาณน้ำอิสระอยู่ในระดับต่ำซึ่งช่วยให้สะดวกขึ้นในการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ค่าของพลังงานที่ได้ (caloric value) ของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมีค่าประมาณ 1.5-2.0 กิโลแคลอรี่ต่อกรัม คือมีค่าประมาณร้อยละ 40-50 ของพลังงานที่ได้จากคาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อยได้ ตัวอย่างเช่น ซูโครส (Mussatto และ Mancilha, 2007)

2.4.4.2 คุณสมบัติทางกายภาพ

โอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่สำคัญซึ่งถือเป็นที่น่าสนใจที่จะนำมาใช้ทำเป็นส่วนประกอบของอาหารเนื่องจากมีคุณสมบัติทางกายภาพหลายอย่างที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพอย่างมากหนึ่งในนั้นก็คือจุลินทรีย์ประจำถิ่นภายในช่องปากจะไม่ใช้โอลิโกแซคคาไรด์นี้ซึ่งแตกต่างจากสตาร์ช (strach) และน้ำตาลทั่วไป ดังนั้นจึงไม่เกิดการผลิตกรดและโพลีกลูแคน (polyglucan) (สารที่ทำให้เกิดฟันฝุ) เกิดขึ้น ดังนั้นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยจึงสามารถนำมาใช้เป็นสารที่นำมาใช้ทดแทนน้ำตาลเพื่อลดการทำให้เกิดอาการฟันฝุในผลิตภัณฑ์พวกขนมหวานชนิดต่างๆ หมากฝรั่ง โยเกิร์ต และเครื่องดื่ม (Mussatto และ Mancilha, 2007)

โอลิโกแซคคาไรด์หลายชนิดจะไม่ถูกย่อยได้ในร่างกายมนุษย์เพราะไม่มีเอนไซม์ที่สามารถนำมาใช้ย่อยพันธะเบต้าที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวบางชนิด สารประกอบเหล่านั้นรวมถึงคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น ฟรุกโตส กาแลคโตส กลูโคส และไซโลส คุณสมบัตินี้ทำให้โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในอาหารหวานที่ให้พลังงานต่ำสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Mussatto และ Mancilha, 2007)

โอลิโกแซคคาไรด์ส่วนใหญ่จะถูกไฮโดรไลซ์ในส่วนบนของระบบทางเดินอาหาร น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ย่อยได้จะถูกขนส่งไปตามกระแสเลือดไปยังตับ และต่อมาก็เข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือดผ่านไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย คาร์โบไฮเดรตเหล่านั้นมีความจำเป็นต่อสุขภาพเนื่องจากทำหน้าที่เป็นซับสเตรท (substrate) และเป็นตัวควบคุมของวิถีเมแทบอลิซึมที่สำคัญ แต่อย่างไรก็ตามโอลิโกแซคคาไรด์บางชนิดก็มีคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพที่จำเพาะและต้านทานต่อกระบวนการย่อยทำให้สามารถผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ส่วน caeco ได้ ใน caeco-colon โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยส่วนใหญ่ (แต่ไม่ใช่ทั้งหมด) จะถูกย่อยเป็นโอลิโกเมอร์และโมโนเมอร์ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมต่อไปโดยจะถูกย่อยด้วยแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศจำนวนเล็กน้อยหรือจำนวนมาก ตัวอย่างของกระบวนการเมแทบอลิซึมนั้นซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าคือกระบวนการหมัก ไม่เพียงแค่จะทำหน้าที่ให้พลังงานแก่แบคทีเรียสำหรับการเจริญและยังเกิดการผลิตแก๊ส (แก๊สไฮโดรเจน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และแก๊สมีเทน) ซึ่งไม่มีประโยชน์กับเจ้าบ้าน (host) และยังเกิดการผลิตกรดอินทรีย์โมเลกุลเล็กๆ (กรดไขมันสายสั้นๆ) ตัวอย่างเช่น แอซิเตต (acetate) โพรพิโอเนต (propionate) บิวทีเรต (butyrate) และแอล-แลคเตต (L-lactate) ถึงแม้ว่าจะไม่ให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวให้แก่ร่างกาย โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยเป็นซับสเตรทที่ให้พลังงานทางอ้อม และยังเป็นตัวควบคุมในกระบวนการเมแทบอลิซึมอีกด้วย โดยปริมาณและชนิดของกรดไขมันสายสั้นๆที่ผลิตได้ในลำไส้จะขึ้นอยู่กับชนิดของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่ถูกใช้เป็นซับสเตรท รวมทั้งสายพันธุ์ต่างๆของแบคทีเรียประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้ (Mussatto และ Mancilha, 2007)

ในระบบทางเดินอาหารนั้นเต็มไปด้วยแบคทีเรียจำนวนมากซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ โดยจำนวนของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศในลำไส้กลุ่มจุลินทรีย์ที่เด่นๆแสดงดัง (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 กลุ่มของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศที่มีลักษณะเด่นในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์

กลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์	ปริมาณเซลล์ในหน่วย log (g dry wt^{-1})
Bacteroides	9.2 – 13.5
Eubacteria	5.0 – 13.3
Bifidobacteria	4.9 – 13.4
Clostridia	3.3 – 13.1
Lactobacilli	3.6 – 12.5
Ruminococci	4.6 – 12.8
Peptostreptococci	3.8 – 12.6
Peptococci	5.1 – 12.9
Streptococci (สายพันธุ์ไม่ต้องการอากาศ)	7.0 – 12.3
Methanobrevibacter	7.0 – 10.3
Desulfovibrios	5.2 – 10.9

ที่มา : Mussatto และ Mancilha (2007)

กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยประมาณ 10^{13} เซลล์ และความหลากหลายที่มีมากกว่า 400-500 สายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันตามรายงาน จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเหล่านี้ส่วนใหญ่จะมีความเป็นพิษต่อเจ้าบ้าน (host) อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ในลำไส้บางชนิดเป็นจุลินทรีย์ก่อโรค และอาจเกี่ยวข้องกับการเริ่มต้นของความผิดปกติแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยทำให้สารนี้ถูกย่อยด้วยแบคทีเรียจำนวนที่จำกัดเท่านั้น ดังนั้นสารนี้จึงช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรีย ในบรรดากลุ่มของแบคทีเรียที่มีอยู่ในทางเดินอาหารเช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* เป็นแบคทีเรียที่มีการนำโอลิโกแซคคาไรด์มาใช้มากที่สุด ดังนั้นแบคทีเรียทั้งสองสกุลนี้จึงถูกพิจารณาว่าเป็นจุลินทรีย์กลุ่มเดียวที่ส่งผลให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) (Mussatto และ Mancilha, 2007)

อัตราของการหมักโอลิโกแซคคาไรด์จะขึ้นอยู่กับระดับของพอลิเมอร์ไรเซชัน ประเภทน้ำตาลและประเภทของพันธะไกลโคซิดิกและระดับของสายกิ่ง ซึ่งการทำงานร่วมกันระหว่างแบคทีเรียในช่วงการเกิดกระบวนการหมักความสัมพันธ์ระหว่างซับสเตรทของแบคทีเรียและผลิตภัณฑ์จากการหมักสภาวะธรรมชาติของการหมักและความสามารถในการผลิตแซคคาไรด์ การหมักพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยในลำไส้ใหญ่ caeco จากเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่อาจทำให้เกิดสาเหตุที่มีผลต่อสุขภาพต่อไปนี้

1. การเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ เพราะโอลิโกแซคคาไรด์เหล่านี้เป็นสับสเตรทสำหรับการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศส่วนใหญ่คือแบคทีเรียจำพวก *Bifidobacteria* ซึ่งจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของ putrefactive และเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในลำไส้ใหญ่ caeco

2. การลดลงของค่าพีเอชในลำไส้ใหญ่และในอุจจาระ เป็นผลมาจากการผลิตกรดไขมันชนิดสายสั้นๆ ระดับของค่าพีเอชที่ต่ำจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคบางสายพันธุ์ ขณะที่ก็จะกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *Bfidobacteria* และจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติกชนิดอื่นๆ

3. การผลิตสารอาหาร เช่น วิตามินบีรวม (บี1 บี2 บี6 และ บี12) ไนอะซินและกรดโฟลิค

4. การเพิ่มปริมาณของน้ำหนักอุจจาระแห้งซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากการหมักพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยได้ในปริมาณมาก

5. ช่วยบรรเทาอาการท้องผูก เนื่องจากขนาดของอุจจาระและอาจเป็นผลจากการหดตัวคลายตัวของลำไส้ ความสามารถในการทนต่อการย่อยของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยแสดงให้เห็นว่ามีผลคล้ายกับการบริโภคอาหารจำพวกเส้นใยอาหาร และสามารถป้องกันอาการท้องผูกได้ ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการหมักโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ กรดไขมันชนิดสายสั้นๆจะถูกดูดซึมและถูกนำมาใช้โดยเซลล์เยื่อบุผิวในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ และจะเกิดการกระตุ้นเจริญเติบโตของแบคทีเรียเช่นเดียวกับการช่วยดูดซึมเกลือและน้ำ การเพิ่มขึ้นของความชื้นในก้อนอุจจาระโดยการผ่านแรงดันออสโมติก และจะไปช่วยการปรับปรุงการหดตัวคลายตัวของลำไส้

6. การบรรเทาโรคอุจจาระร่วง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีส่วนเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในลำไส้ ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องโดยตรงกับผลของการยับยั้งที่เกิดขึ้นได้ของเชื้อ *Bifidobacteria* ทั้งประเภทแกรมบวกและแกรมลบ

7. ช่วยป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และระบบทางเดินปัสสาวะเนื่องจากความสามารถในการยับยั้งการยึดเกาะของแบคทีเรียในการพื้นผิวของเยื่อบุผิว (ในขั้นตอนแรกของกระบวนการติดเชื้อ)

8. การเพิ่มการดูดซึมของแร่ธาตุชนิดอื่น เช่น ธาตุเหล็ก แคลเซียม และแมกนีเซียม เนื่องจากการรวมตัวหรือความสามารถในการกักเก็บของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย แร่ธาตุที่รวมตัวหรือกักเก็บและผลก็คือโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยจะไม่ดูดซึมทั้งในลำไส้เล็กไปจนถึงลำไส้ใหญ่ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้จะปล่อยออกมาจากเมทริกซ์ของคาร์โบไฮเดรตและถูกดูดซึม การที่มีการดูดซึมแคลเซียมเพิ่มขึ้นนั้นจะไปช่วยลดช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคกระดูกพรุน ซึ่งแร่ธาตุชนิดนี้จะไปช่วยส่งเสริมการเพิ่มขึ้นของความหนาแน่นของกระดูกและมวลกระดูก

9. ประโยชน์ของการช่วยเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตและไขมันซึ่งจะทำให้ระดับของคลอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิพิดในเลือดลดลง จึงทำให้ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเบาหวานและโรคอ้วน

10. ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง หลักๆคือโรคมะเร็งลำไส้ผลของสารช่วยต้านมะเร็งนี้ดูเหมือนจะเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของการสร้างภูมิคุ้มกันในเซลล์ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์และเป็นส่วนประกอบของพื้นผิวภายนอกของเชื้อ *Bifidobacteria*

2.4.4.3 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยที่พบในธรรมชาติ

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมีหลากหลายชนิดที่พบได้ในธรรมชาติซึ่งจะพบได้ใน นม น้ำผึ้ง ผลไม้และผัก ตัวอย่างเช่น หัวหอม กระเทียม กล้วย เยรูซาเลมอาร์ติโชค (Jerusalem artichoke) ชิคอรี่ (chicory) กระเทียมต้น (leeks) ข้าวไรน์ ข้าวบาเล่ย์ ยาคอน (yacon) และซาลซิไฟด์ (salsify) โดยส่วนมากของแหล่งที่กล่าวนี้มีความเข้มข้นของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยอยู่ในช่วงร้อยละ 0.3-6.0 ของน้ำหนักสด สำหรับชิคอรี่และซาลซิไฟด์มีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 5-10 ขณะที่อาร์ติโชคและยาคอนมีความเข้มข้นมากถึงร้อยละ 20 ส่วนในตัวอย่างอื่นๆที่พบตามธรรมชาติจะมีโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยอย่างเช่น กาแลคโตซิลซูโครส (galactosylsucroses) ราฟฟิโนส (raffinose) และ สตาชิโอส (stachyose) ในถั่วเหลือง เมล็ดถั่วชนิดต่างๆ และในเมล็ดของพืชตระกูลถั่ว ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์พบในหน่อไม้ และโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกาแลคโตสที่พบได้ในนมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในน้ำนมถั่วเหลือง (colostrums) หรือน้ำนมของแม่วัวหลังคลอดใหม่ๆ ทั้งในรูปอิสระหรือในรูปของ glycoconjugates

โดยเฉพาะใน หน่อไม้ฝรั่ง หัวบีท กระเทียม ชิคอรี่ หัวหอม อาร์ติโชค ข้าวสาลี (wheat) น้ำผึ้ง กล้วย ข้าวบาเล่ย์ มะเขือเทศ และข้าวไรน์เป็นแหล่งของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความพิเศษมาก ส่วนไอโซมอลทูโลส (isomaltulose) ที่พบตามธรรมชาติสามารถพบได้ใน น้ำผึ้ง น้ำเชื่อมอ้อย และในผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากกากน้ำตาลในระดับที่ปลอดภัยสำหรับการผลิตอาหาร ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์พบได้ในธรรมชาติใน หน่อไม้ ผลไม้ ผัก นม และน้ำผึ้ง กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharide) โดยจะพบได้ในธรรมชาติในน้ำนมของมนุษย์ และในน้ำนมของวัวปริมาณเล็กน้อย ไซโครเด็กทริน (cyclodextrin) พบได้ในธรรมชาติในกลูแคนที่ละลายน้ำได้ในเมล็ดของถั่วที่เป็นฝัก (legumes) ถั่วเลนทิล (lentils) ถั่วพีส์ (peas) ถั่วเหลือง ถั่วลูกไก่ มอลโล่ (mallow) คอมโพไซท์ (composite) และมัสตาร์ส (mustard) พบว่ามีปริมาณของโอลิโกแซคคาไรด์พวกราฟฟิโนสจำนวนมาก (Mussatto และ Mancilha, 2007)

2.4.4.4 การนำโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยมาประยุกต์ใช้

โอลิโกแซคคาไรด์จำนวนหนึ่งได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการใช้เป็นส่วนผสมของอาหารเพื่อสุขภาพในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมานี้ และยังมีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมและมีการนำมาใช้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่วนใหญ่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม (น้ำผลไม้ กาแฟ โกโก้ ชา โซดา

เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์) ผลิตภัณฑ์นม (นมหมัก นมผงที่ละลายในน้ำเย็นได้ นมผง และไอศครีม) โยเกิร์ตที่มีจุลินทรีย์โพรไบติก (หลักการคือเพื่อให้จุลินทรีย์ที่มีชีวิตนำโอลิโกแซคคาไรด์ไปใช้แล้วส่งผลประโยชน์ต่อโฮสต์ (host) โดยไปช่วยปรับปรุงให้เกิดความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้) และผลิตภัณฑ์ซินไบโอติก (synbiotic product) (ซึ่งเป็นการผสมรวมกันของพรีไบโอติกและโพรไบโอติกซึ่งช่วยทำให้เกิดประโยชน์ต่อโฮสต์ (host) โดยจะช่วยปรับปรุงการอยู่รอดและมีการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต) ในระบบทางเดินอาหารโดยจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือทำให้เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยแบคทีเรียชนิดหนึ่งหรือแบคทีเรียที่ทำให้สุขภาพดีจำนวนจำกัด และยังส่งผลให้โฮสต์ (host) มีสุขภาพที่ดีอีกด้วย (Mussatto และ Mancilha, 2007)

แนวโน้มอื่นๆที่จะนำโอลิโกแซคคาไรด์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารทั้งของหวาน ตัวอย่างเช่น เจลลี่ พุดดิ้ง และไอศกรีมเชอร์เบท อุตสาหกรรมการทำลูกกวาด อย่างเช่น ลูกอม คุกกี้ บิตกิต ธัญพืชอาหารเช้า ช็อคโกแลต และของหวาน สำหรับขนมปัง และเพสทรี (pastries) อย่างเช่น ในผลิตภัณฑ์ทาขนมปัง ตัวอย่างเช่น แยม และมาร์มาเลต (marmalades) และผลิตภัณฑ์เนื้อ ตัวอย่างเช่น ปลากระป๋อง และเต้าหู้ แต่อย่างไรก็ตามความจำเพาะของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ทำจากโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของส่วนผสมของโอลิโกแซคคาไรด์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการนำมาประยุกต์ใช้ (Mussatto และ Mancilha, 2007)

2.5 พรีไบโอติก (Prebiotic)

พรีไบโอติกเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ย่อยอาหารในร่างกายมนุษย์ และได้ถูกเรียกว่า คาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆที่ต้านทานการย่อย บางครั้งจะถูกเรียกว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย ซึ่งจะละลายได้ในเอทานอลร้อยละ 80 พรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบของอาหารที่ไม่ว่องไวต่อการเปลี่ยนไปยังลำไส้ใหญ่และถูกคัดเลือกโดยการหมักซึ่งเป็นประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน (host) ทั้งเป็นสื่อกลางระหว่างกระตุ้นการคัดเลือกของการเจริญเติบโต และกิจกรรมอย่างใดอย่างหนึ่งหรือจำกัดจำนวนของแบคทีเรีย คำจำกัดความของพรีไบโอติกคาบเกี่ยวกันกับความสำคัญของคำจำกัดความของเส้นใยอาหาร ด้วยข้อยกเว้นของการคัดเลือกสำหรับจีนัส (genus) ที่หลากหลายหรือขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียต้นกำเนิด ปัจจุบันมีเพียงแค่โมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยที่อยู่ในช่วงของไดแซคคาไรด์ (disaccharide) โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) และพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) รีซิสแตนท์สตาร์ช (resistant starch) และน้ำตาลโพลีออลที่ได้รับการอ้างว่ามีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

พรีไบโอติกที่ผ่านไปยังลำไส้เล็กไปสู่ทางเดินอาหารส่วนล่างและแบคทีเรียโพรไบโอติกนำไปใช้ประโยชน์ แต่ไม่ถูกใช้โดยแบคทีเรียชนิดอื่นในลำไส้ แลคทูโลส (lactulose) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharides) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide) อินนูลิน (inulin) และไฮโดรไลเสต (hydrolysate) ของอินนูลิน และมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (malto-oligosaccharide) รีซิสแตนท์สตาร์ช (resistant starch) เป็นพรีไบโอติกที่มีอยู่ในอาหารของมนุษย์ตามปกติ องค์ประกอบด้านปลายของเมแทบอลีซึมของคาร์โบไฮเดรตที่จำเป็นคือ กรดไขมันสายสั้นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริกซึ่งจะถูกใช้โดยเจ้าบ้าน (host) เพื่อเป็นแหล่งพลังงานสามารถพบได้ในแหล่งต่างๆ อย่างเช่น ชิคอรี (chicory) หัวหอม กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง อาทิโชก (artichok) กระเทียมต้น กล้วย มะเขือเทศ และพืชชนิดอื่นๆอีก

มากมาย โดยทั่วไปโอลิโกแซคคาไรด์เป็นสารที่มีการรวมตัวกันของน้ำตาลหลายชนิดที่มีดีกรีของพอลิเมอร์ไรเซชันต่างกัน พรีไบโอติกโอลิโกแซคคาไรด์สามารถผลิตได้ 3 วิธีด้วยกัน คือ 1) การแยกออกจากพืช 2) การผลิตโดยอาศัยจุลินทรีย์หรือการสังเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ 3) การย่อยสลายพอลิแซคคาไรด์โดยเอนไซม์ โดยส่วนมากพรีไบโอติกที่เป็นพวกโอลิโกแซคคาไรด์มีการผลิตขึ้นและสามารถหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.1 ชนิดและแหล่งที่มาของพรีไบโอติก

สารคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย (non-digestible carbohydrate) สามารถถูกพิจารณาว่าเป็นสารจำพวกพรีไบโอติกได้หากผ่านเกณฑ์ดังต่อไปนี้

A) ต้านทานต่อกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
B) มีความไวต่อการหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้
C) มีความสามารถในการส่งเสริมการรอดชีวิตหรือกิจกรรมของจุลินทรีย์

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินเป็นพรีไบโอติกที่รู้จักกันมากที่สุด กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ไม่ถูกย่อยและได้มาจากแลคโตสที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมและประกอบด้วยโมเลกุลของกาแลคโตสต่อกัน (inulin type fructans) อินนูลินและอินนูลินประเภทฟรุกแทน (inulin type fructans) เป็นเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำ (soluble dietary fibres) ที่รู้จักกันดีนอกจากนี้พอลิแซคคาไรด์หลายชนิดที่ไม่ใช่สตาร์ชที่มีเส้นใยอาหารเป็นส่วนประกอบ เช่น เซลลูโลส (cellulose) เดกซ์ตริน (dextrins) เพคติน (pectin) เบต้า-กลูแคน (beta-glucans) ไข (waxes) และลิกนิน (lignin) สามารถปรับเวลาการขนถ่ายผ่านทางเดินอาหารได้ ดังนั้นจึงให้ประโยชน์เช่นเดียวกับอินนูลินประเภทฟรุกแทน สารพรีไบโอติกที่มีตามธรรมชาติสามารถพบได้ในอาหารหลายชนิด เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ชิคอรี (chicory) มะเขือเทศ และข้าวสาลี และเป็นส่วนประกอบตามธรรมชาติในของนมแม่ (breast milk) ประเภทของพรีไบโอติกที่หลากหลายและแหล่งที่พบสารพรีไบโอติกจะแสดงในตารางที่ 2.6

2.5.2 ความสามารถในการหมักและการคัดเลือกของพรีไบโอติก

คาร์โบไฮเดรตที่มาถึงลำไส้ใหญ่ส่วนต้น (cecum) เป็นสารตั้งต้นสำหรับการหมักโดยแบคทีเรียมีหลักฐานมากมายที่สนับสนุนหลักการนี้ จากการศึกษาโดยการให้มนุษย์ที่ได้รับอาหารจำพวกนี้จะไม่พบอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอุจจาระ และมีข้อมูลจากการทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro) และการทดสอบภายในร่างกายเกี่ยวกับกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ จากการศึกษาในหลอดทดลองได้ชี้ให้เห็นว่ามีกรดไขมันสายสั้นหลายชนิดช่วยส่งเสริมการมีชีวิตรอดและส่งเสริมกิจกรรมของแบคทีเรีย

พรีไบโอติกเป็นสารตั้งต้นที่เลือกใช้โดยแบคทีเรียโพรไบโอติกจำนวนหนึ่ง โพรไบโอติกจะถูกกระตุ้นโดยพรีไบโอติกให้เจริญเติบโต และผลิตกรดไขมันสายสั้น เพราะฉะนั้นพรีไบโอติกจึงสามารถปรับเปลี่ยนจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ของโฮสต์ (host) ไปสู่การมีสุขภาพที่ดี เพื่อยืนยันการคัดเลือกของพรีไบโอติกที่สำคัญและตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในอุจจาระที่มีการเสริมพรีไบโอติกทั้งในหลอดทดลอง (in vitro) และในร่างกาย (in vivo) (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

ตารางที่ 2.6 แสดงประเภทและแหล่งที่พบพรีไบโอติก

ประเภทของพรีไบโอติก	แหล่งที่มาของพรีไบโอติก
Fructooligosaccharides	Asparagus, sugar beet, garlic, chicory, onion, Jerusalem, artichoke, wheat, honey, banana, barley, tomato and rye
Isomaltulose	Honey, sugarcane juice
Xylooligosaccharides	Bamboo shoots, fruits, vegetable, milk, honey and wheat bran
Galactooligosaccharide	Human's milk and cow's milk
Cyclodextrins	Water-soluble glucan
Raffinose oligosaccharides	Seeds of legumes, lentils, peas, beans, chickpeas, mallow composite and mustard
Soybean oligosaccharide	Soybean
Lactulose	Lactose (Milk)
Lactosucrose	Lactose
Isomaltulose	Sucrose
Palatinose	Sucrose
Maltooligosaccharide	Starch
Isomaltooligosaccharides	Starch
Arabinoxylooligosaccharide	Wheat bran
Enzyme-resistant dextrin	Potato starch

ที่มา : Al-Sheraji และคณะ (2013)

2.5.3 ความสามารถในการย่อยของพรีไบโอติก

พรีไบโอติกไปถึงลำไส้ใหญ่ส่วนต้นโดยที่ไม่ถูกย่อย เนื่องมาจากลักษณะทางเคมีของพรีไบโอติกมีบางส่วนของสารพรีไบโอติกนี้ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในตับอ่อนและเอนไซม์ในลำไส้เล็กในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และดังนั้นจึงไปถึงลำไส้ใหญ่ จากการศึกษามีรายงานว่าเมื่ออินนูลินหรือโอลิโกแซคคาไรด์ที่ถูกนำเข้าไปยัง ileostomy subjects การคืนสภาพของลำไส้ใหญ่ให้กลับมาเป็นปกติจะอยู่ระหว่างร้อยละ 86 และ 89 ของวัสดุที่นำเข้าไป (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.4 การประยุกต์ใช้พรีไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหาร

การใช้ประโยชน์ของพรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบของอาหารมีข้อได้เปรียบหลายอย่าง เนื่องจากจะช่วยปรับปรุงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสและให้องค์ประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการซึ่งมีความสมดุลมากขึ้น เมื่อใช้พรีไบโอติกเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และอาหารเช้าประเภทธัญพืชจะให้ผลดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใยอาหารพื้นฐาน พรีไบโอติกจะช่วยให้ขนมขบเคี้ยวและธัญพืชมีความสดใหม่มากกว่าและมีอายุยาวนาน และยังทำให้ขนมปังและเค้กมีความชุ่มชื้นและสดใหม่เป็นเวลานาน ความสามารถในการละลายได้ในของเหลวทำให้นำพรีไบโอติกมาใช้ได้ในเครื่องดื่ม

ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาขนมปัง (table spreads) สารพรีไบโอติกมักถูกใช้ในฐานะของเส้นใยอาหารในรูปของยาเม็ดและใช้เป็นส่วนผสมในอาหารทางเลือกใหม่ (functional food) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์นมและขนมปัง โดยส่วนผสมอาหารที่เป็นพรีไบโอติกช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้

เนื่องจากพรีไบโอติกมีสมบัติในการทำให้เกิดเจล พรีไบโอติกจึงช่วยปรับปรุงอาหารที่มีไขมันต่ำโดยไม่มีผลกระทบต่อรสชาติและเนื้อสัมผัส สิ่งนี้สำคัญในผลิตภัณฑ์ อาทิ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทาขนมปัง (table spreads) ผลิตภัณฑ์ที่คล้ายเนย (butter-like product) ผลิตภัณฑ์นมที่ใช้ทาขนมปัง (dairy spreads) ครีมชีส (cream cheeses) และเนยแข็งแปรรูป (processed cheeses) ซึ่งการเติมสารพรีไบโอติกยังใช้สำหรับทดแทนไขมันและรักษาสภาพอิมัลชันและยังให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่แผ่ได้ การเติมพรีไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์เนื้อที่ลดไขมัน ใช้ในการทำครีมที่มีความรู้สึกฉ่ำในปากและมีความรู้สึกเหมือนเดิม เพราะน้ำยังคงเกาะอยู่เพื่อรักษาสภาพเดิมไว้ จะเพิ่มพรีไบโอติกลงในส่วนผสมที่ให้พลังงานต่ำและเพิ่มเส้นใยในผลิตภัณฑ์ช็อคโกแลตที่ไม่เติมน้ำตาล ในตลาดขายผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์อาหารที่แสดงให้เห็นถึงการพัฒนาที่มั่นคง โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารประเภทโยเกิร์ตที่ผสมผลไม้ การเพิ่มพรีไบโอติกลงในสูตรระหว่างการเตรียมผลไม้จะพัฒนาความรู้สึกเมื่อเข้าไปอยู่ในปาก เพื่อลด syneresis และเสนอ synergistic ผลการทดสอบในการรวมกันกับแอสปาแทม (aspartame) และอะซีซัลแฟม (acesulfame) ปริมาณแคลอรี่ไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.5 ผลกระทบของพรีไบโอติกต่อการเจริญเติมโตของโพรไบโอติก

2.5.5.1 น้ำนมแม่และปัจจัยของบิฟิดัส

อุจจาระของทารกที่กินนมแม่มีปริมาณ *bifidobacteria* ร้อยละ 99 ของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ในขณะที่เด็กทารกกินนมผงของทารกตามสูตรที่มีผู้ผลิตขึ้นจำหน่ายจะมีจุลินทรีย์ในลำไส้แปรผันเป็นอย่างมาก ในน้ำนมแม่มีโอลิโกแซคคาไรด์และส่วนประกอบอื่นๆช่วยส่งเสริมการมีชีวิตรอดและกิจกรรมของ *bifidobacteria* และได้เรียกสิ่งนี้ว่าเป็น “ปัจจัยบิฟิดัส” หรือพรีไบโอติกตามธรรมชาติ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.5.2 ผลกระทบของพรีไบโอติกต่อจำนวนการมีชีวิตรอดของโพรไบโอติก

มีการยืนยันว่าโอลิโกแซคคาไรด์ส่วนใหญ่นั้นช่วยส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียจำพวก *bifidobacteria* ในลำไส้ใหญ่ การบริโภคกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10 กรัมต่อวัน เพียงพอที่จะทำให้เกิด bifidogenic effect ได้ ซึ่งในชีวิตประจำวันพบว่าการบริโภคพรีไบโอติก 2.5 กรัมต่อวันเพียงพอที่จะเพิ่มระดับของ *bifidobacteria* ในอุจจาระได้ ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยชนิดอื่นๆมีความจำเป็นต่อ bifidogenic effect ซึ่งเหมือนกันกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สำหรับไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 2 กรัมต่อวัน ถือว่าเพียงพอที่จะทำให้เกิด bifidogenic effect มีรายงานว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่จำเป็นต้องบริโภคเพื่อให้เกิดการกระตุ้น bifidogenic effect อยู่ระหว่าง 2 และ 10 กรัมต่อวันในผู้ใหญ่ แต่อย่างน้อยต้องบริโภคฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 4 กรัมต่อวันเพื่อเพิ่มระดับ bifidogenic ในลำไส้ของมนุษย์และการเพิ่มอินนูลินซึ่งเป็นพรีไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์อาหารสามารถปรับปรุงการมีชีวิตรอดและการทำงานของแบคทีเรียโพรไบโอติกได้ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.6 ประโยชน์ต่อสุขภาพของพรีไบโอติก

2.5.6.1 โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน

โรคกระเพาะและลำไส้อักเสบเฉียบพลัน (acute gastroenteritis) มักจะเกี่ยวข้องกับการบริโภคอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์หรือสารพิษจากจุลินทรีย์ สาเหตุโดยทั่วไปเกิดจาก *Shigellae, Salmonella, Yersinia enterocolitica, Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Vibrio cholera* และ *Clostridium perfringens* เชื้อโรคเหล่านี้อาจตั้งถิ่นฐานและเจริญเติบโตในระบบทางเดินอาหาร และบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารหรืออาจจะหลั่งสารพิษออกมาปนเปื้อนในอาหารก่อนบริโภค สารพิษดังกล่าวจะส่งผลต่อการทำงานของเยื่อเมือกในลำไส้ (intestinal mucosa) ทำให้เกิดการคลื่นไส้ อาเจียนและท้องเสีย ดังนั้นการมีอยู่ของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ซึ่งมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในลำไส้ใหญ่ร่วมกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ระบบภูมิคุ้มกันอาจให้การป้องกันที่มีการปรับปรุง ความคิดในการรวมคุณสมบัติของพรีไบโอติกด้วย anti-adhesive activities ในปัจจุบันยังอยู่ภายใต้การวิจัยจะเพิ่มฟังก์ชัน (functionality) ที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงแนวทางการเกิดโรคทางเดินอาหาร เชื้อโรคในลำไส้ส่วนใหญ่จะใช้โมโนพอลิแซคคาไรด์ (monooligo saccharide) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) สายสั้นๆเป็นตัวรับ (receptors) และความรู้เกี่ยวกับบริเวณเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับการส่งเสริมพรีไบโอติก Binding ของเชื้อโรคต่อตัวรับเหล่านี้เป็นขั้นตอนแรกของกระบวนการ โคโลนิเซชัน (colonization) ซึ่งในปัจจุบันการเตรียมยาหลายๆ ชนิดจะขึ้นอยู่กับโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ในการทดลองระดับคลีนิก ซึ่งสารที่เป็นอนุพันธ์ของน้ำตาล multivalent ทำหน้าที่เป็น blocking factors ทำให้ตัวจับของเชื้อหลุดออกทำให้มีศักยภาพมากพอที่จะพัฒนาพรีไบโอติกซึ่งจะรวมไปถึงลำดับของตัวรับที่เป็นโมโนแซคคาไรด์หรือโอลิโกแซคคาไรด์ โมเลกุลเหล่านี้ควรจะมีกิจกรรม anti-adhesive มากพอที่จะยับยั้งการเกาะจับระดับต่ำของเชื้อโรค (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.6.2 การลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง

ได้เคยมีรายงานการค้นพบว่ากิจกรรมของ Genotoxic enzyme ลดลงเมื่อได้รับประทานสารพรีไบโอติกเข้าไป จากการศึกษาในช่วงต้นซึ่งได้คนรับประทานกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่าส่งผลให้เกิดการลดลงของ ไนโตรรีดักเทส (nitroreductase) ซึ่งเป็นสารกระตุ้นการเกิดมะเร็ง และยังลดระดับของอินโดลและกรดไอโซวาลีริก (isovaleric acid) เมื่อนำรูปแบบของระบบทางเดินอาหารของมนุษย์มาใช้ในการตรวจสอบผลของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ต่อ genotoxic enzyme พบว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์เหล่านี้ได้ β-glucosidase, β-glucuronidase และarylsulphatase
(Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.6.3 การดูดซึมแร่ธาตุ

การดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมเป็นสิ่งสำคัญสำหรับโครงสร้างของกระดูกและการดูดซึมที่เพิ่มขึ้นสามารถป้องกันไม่ให้เกิดโรค เช่น โรคกระดูกพรุน มีรายงานว่าการเพิ่มกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ลงในอาหารของหนู สามารถเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมได้ ซึ่งกลไกนี้ยังไม่มีความชัดเจน แต่ในกรณีนี้มีจุลินทรีย์เจ้าถิ่นในลำไส้ใหญ่ที่เป็นสิ่งจำเป็นที่มีผลต่อกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ แม้ว่าผู้เขียนจะยอมรับมีจุลินทรีย์ที่เป็นสื่อกลางและจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่สื่อกลางสำหรับกลไกที่มีอยู่ นอกจากนี้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังมีผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุและการศึกษามนุษย์ต้องได้รับโอลิโกแซคคาไรด์ 15 กรัมต่อวัน หรืออินนูลิน 40 กรัมต่อวัน พบว่าช่วยเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียม ส่วน

การดูดซึมแมกนีเซียมพบว่าจะมีการดูดซึมแมกนีเซียมเพิ่มขึ้นจากการบริโภคฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.5.6.4 การควบคุมไขมัน

นอกจากนี้สารพรีไบโอติกอาจมีผลต่อการควบคุมไขมัน ถึงแม้ว่ากลไกนี้ยังไม่เป็นที่ทราบกันดีแต่การศึกษาได้แสดงให้เห็นถึงผลบวกและได้มีการพัฒนา mechanistic hypotheses โดยได้มีการศึกษาในหนูที่เป็นโรคเบาหวานพบว่าเมื่อใช้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์แทนคาร์โบไฮเดรตอย่างง่ายในอาหาร พบว่าคลอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในซีรัมเพิ่มขึ้นในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน และไตรกลีเซอไรด์ในตับเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่มีสุขภาพดี ในการศึกษาอื่นๆมีการตรวจสอบฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่าช่วยลดไขมันในเลือดสิ่งเหล่านี้คาดว่าเป็นเพราะการยับยั้งเอนไซม์ลิโพจีนิก (lipogenic enzyme) ในตับซึ่งอาจเป็นผลของกิจกรรมของ propionate ที่ถูกสร้างจากการหมักสารพรีไบโอติกโดยแบคทีเรียในลำไส้ (Al-Sheraji และคณะ, 2013)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kubola และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับศักยภาพในการช่วยส่งเสริมประโยชน์ต่อสุขภาพของผลไม้ที่ทำการคัดเลือกมาจากป่าในประเทศไทยจำนวน 19 ชนิดที่แตกต่างกันซึ่งเก็บตัวอย่างมาจากป่าตามธรรมชาติในภาคตะวันออกฉียงเหนือของประเทศไทยมาทำการทดลองต่างๆ อย่างเช่น ปริมาณสารพฤกษเคมี กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณวิตามินซี และปริมาณน้ำตาล ผลปรากฏว่า ในเนื้อของผลจัน (*Diospyros decandra* Lour.) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (215 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 187 มิลลิกรัมของรูทินต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนเปลือกและเนื้อของสมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.) มีกิจจกรมการต้านอนุมูลอิสระสูงเมื่อเทียบกับผลไม้ชนิดอื่นๆ ซึ่งทำการวิเคราะห์โดยการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (เปอร์ เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 99) และมีความสามารถในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเฟอริกเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอรัส (63 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) และน้ำตาลทั้งหมด (ซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส และกาแลคโตส) มีค่าตั้งแต่ 33 ถึง 430 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด โดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (มีค่าตั้งแต่ 7.5 ถึง 244 มิลลิกรัมต่อกรัม) และน้ำตาลฟรุกโตส (มีค่าตั้งแต่ 5.3 ถึง 193 มิลลิกรัมต่อกรัม) ผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุดคือส่วนของเปลือกและเนื้อของมะขามป้อม (*Phyllanthus embica* Linn) (2.2 มิลลิกรัมต่อกรัม) สรุปได้ว่าผลไม้จากป่าในประเทศไทยที่นำมาใช้ในการศึกษานี้แสดงบทบาทของการเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมี

Abirami และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส การยับยั้งเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส และการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในผลสดที่ได้จากผลไม้พื้นเมืองได้แก่ *Citrus hystrix* และ *C. maxima* (สีแดง และ สีขาว) ซึ่งทำการทดลองโดยใช้รูปแบบการทดลองด้วยสารเคมีในหลอดทดลอง พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 836.90 ถึง 909.52 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อลิตร 333.33 ถึง 523.21 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อลิตรและ 224.88 ถึง 262.22 มิลลิกรัมของรูทินต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผลสดทำการตรวจหาโดยใช้หลายวิธีการโดยใช้วิธีการทดลองในหลอดทดลองอย่างเช่น วิธีการหาความสามารถในการรีดิวซ์ การหาความสามารถในการจับอนุมูล DPPH ความสามารในการจับอนุมูล ABTS

ความสามารถในการจับอนุมูลไฮดรอกซี กิจกรรมการยับยั้งปฏิกิริยาเพอร็อกซิเดชัน และวิธีการยังยั้งการทำลายเม็ดเลือด นอกจากนั้นยังพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเท่ากับร้อยละ 75.55 ถึง 79.75 และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเท่ากับร้อยละ 70.68 ถึง 72.83 ซึ่งทำการทดลองโดยการย่อยสตาร์ชในหลอดทดลอง (starch digestion bioassay) ยิ่งกว่านั้นในตัวอย่างน้ำผลไม้สดจาก *Citrus hystrix* และ *C. maxima* ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (ร้อยละ 76.95 ถึง 80.79) การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (ร้อยละ 75.71 ถึง 79.74) และการยับยั้งเอนไซม์เบต้า-กลูคูโรนิเดส (ร้อยละ 68.15 ถึง 69.38) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวนี้ชี้ให้เห็นว่าน้ำผลไม้สดจาก *Citrus hystrix* และ *C. maxima* (สีแดง และสีขาว) สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ อาหารทางเลือกใหม่เพื่อสุขภาพและนำมาใช้เป็นยาได้

Al-Sheraji และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับประชากรของเชื้อ *Bifidobacterium longum* BB 536, *Salmonella choleraesuis* JCM 6977, *Escherichia coli* ATCC 35922 และ *B. seudocatenulatum* G4 โดยตรวจที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงของการย่อยเส้นใยจาก *Mangifera pajang* (MPF) และพอลิแซคคาไรด์โดยทดสอบด้วยน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของมนุษย์และเอนไซน์แอลฟา-อะไมเลสของมนุษย์ MPF และพอลิแซคคาไรด์พบว่าเกิดการเพิ่มจำนวนของเชื้อ bifidobacteria แต่ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. choleraesuis* JCM 6977 หรือ *E. coli* ATCC 35922 ยิ่งกว่านั้นผลเหล่านี้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับอินนูลินซึ่งเป็นพรีไบโอติกทางการค้า พบว่าพอลิแซคคาไรด์จากเส้นใย *M. pajang* แสดงผลการไม่ถูกย่อยสูงสุดโดยน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของมนุษย์และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสของมนุษย์ เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่าง MPF และ inulin พบว่า MPF แสดงผลการไม่ถูกย่อยได้สูงกว่า inulin MPF และพอลิแซคคาไรด์แสดงให้เห็นถึงการหมักที่มีประสิทธิภาพและคุณสมบัติของการไม่ถูกย่อย ดังนั้น จึงอาจถูกคาดหวังให้เป็นพรีไบโอติกที่อาจจะนำมาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด จากตลาดแถวปากเกร็ด รังสิต และตลิ่งชันในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ได้แก่

ตารางที่ 3.1 ผักและผลไม้ที่นำมาใช้ในการสกัด

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	ชื่อสามัญ	ส่วนที่นำมาใช้
Acanthopanax trifoliatum Merr.	ต้นแปม	Lopea tree	ทั้งต้น
Alium sativum Linn.	กระเทียมไทย	Common garlic	หัว
Allium oschaninii	หอมแดงไทย	Shallot	หัว
Aloe vera	ว่านหางจระเข้	Star cactus	วุ้นในใบ
Ananas comosus L. Merr.	สับปะรดศรีราชา	Pineapple	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
Annona squamosa Linn.	น้อยหน่า	Sugar apple	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
Carissa carandas Linn.	มะม่วงหาวมะนาวโห่	Karunda	ผล
Centella asiatica (Linn.) Urban.	ต้นบัวบก	Asiatic pennywort	ทั้งต้น
Chrysophyllum cainito Linn.	แอปเปิ้ลพื้นเมือง	Star apple	ผล
Dregea volubilis Stapf.	ฮ้วนหมู	-	ดอก
Elaeagnus latifolia Linn.	มะหลอด	Elaeagnus latifolia	ผล
Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst	เห็ดหลินจือ	Supernatural mushroom	ดอกเห็ด
Garcinia mangostana Linn.	มังคุด	Mangosteen	เปลือกผล
Ginkgo biloba	แปะก๊วย	Maidenhair tree	ใบ
Gymnema inodorum (Lour.) Decne	ผักเชียงดา	Perrpioca of the woods	ทั้งต้น
Helianthus tuberosus Linn.	แก่นตะวัน	Jerusalem artichoke	หัว
Ipomoea batatas	มันต่อเผือก	Purple sweet potato	หัว
Ipomoea batatas (Linn.) Lamk.	มันเทศ	Sweet potato	หัว
Malus domestica Borkh.	แอปเปิ้ลแดง	Red apple	เนื้อและเปลือก
Morinda citrifolia Linn.	ยอ	Great morinda	ผล
Morus alba Linn.	หม่อน	White mulberry	ผล
Momordica cochinchinensis (Lour.) Spreng.	ฟักข้าว	Spring bitter cucumber	ผล
Musa acuminate	กล้วยเล็บมือนาง	Lep Mue	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
Musa acuminata Colla.	กล้วยไข่	Pisang Mas	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
Musa sapientum Linn.	กล้วยน้ำว้า	Cultivated banana	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
Nelumbo nucifera Gaertn.	เม็ดบัว	Lotus seed	เม็ด
Oryza sativa	ข้าวดำ	Black rice	เมล็ด
Passiflora laurifolia Linn.	เสาวรส	Jamica honey-suckle	เนื้อและเมล็ด
Phyllanthus emblica Linn.	มะขามป้อม	Indian gooseberry	ผล
Salacca zalacca	สละ	Salak plum	เนื้อในผล ไม่รวมเปลือก
Tiliacora triandra (Colebr.) Diels	ย่านาง	Bamboo grass	ใบ
Zanthoxylum limonella Linn.	มะแขว่น	Kamchat ton	เมล็ด
Zea mays Linn. var. saccharata	ข้าวโพดหวาน	Sweet corn	เมล็ด
Zingiber zerumbet (Linn) Smith.	จีกุก	Shampoo ginger	หน่อ

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 และ *L. bulgaricus* TISTR 451 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (Thailand Institute of Scientific and Technological Research) ส่วนเชื้อ *L. casei* spp. casei BCC 4308 และ *Streptococcus thermophilus* BCC 5366 ได้มาจาก BIOTEC Culture Collection (BCC) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnology) จากหลอดเม็ดลูกปัดที่เก็บไว้ที่ตู้อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ De Man Rogosa Sharpe Broth (MRS, Difco, Becton, Dickinson and Company, USA)

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 สาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Germany) ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร สารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ (พีเอช 3.6) สาร 2,4,6 tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ สาร Folin-Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) น้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูง (Ultra pure water) สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 20 สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid, 48630, Fluka, Spain) สารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ สารมาตรฐานคาเทชิน (Catechin hydrate, 22110, Aldrich, Germany) สารแอลฟา-โทโคฟีรอล (α-tocopherol, 95240, Fluka, Switzerland) เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus*, C2888, Sigma, USA) ความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ (พีเอช 8.0) สารละลาย 5,5'-Dithiobis [2-nitrobenzoic acid] (DTNB, D8130, Sigma, USA) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ สารละลายอะซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (Acetylthiocholine iodide (ATCI), 01480, Fluka, United Kingdom) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ สารกาแลนทามีนบริสุทธิ์ (Galanthamine, G1660, Sigma, France) สาร Dimethyl sulfoxide (DMSO, CaelovErba, Italy) สารมาตรฐานอะคาร์โบส (acarbose, A9890-1G, Sigma, China) เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (porcine pancreas, A6255-10 mg, Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สารละลายสตาร์ชความเข้มข้นร้อยละ 1 (Starch soluble, 14418, Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., India) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ประกอบด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (พีเอช 6.9) สารโซเดียมโพแทสเซียมทาเทรต สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ rat-intestinal acetone powder

(I1630, Sigma-Aldrich, USA) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (พีเอช 6.9) สาร *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside (487506-1G, Calbiochem, Switzerland) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ สารละลายน้ำเกลือ (saline) ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 สารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) (พีเอช 1.0) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (พีเอช 7.0) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 นอร์มอล กรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid, Aldrich, India) สารกลูโคสมาตรฐาน (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) สารอินนูลิน (Inulin, from chicory, I2255, Sigma, USA) สารละลายฟีนอล (PANREAC QUIMICA, EU) ความเข้มข้นร้อยละ 5 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (QRëC, Newzealand)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร หลอดทดลอง ปิเปตต์แบบปริมาตร (volume pipette) จุกยาง แท่งแก้วคนสาร ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) กรวยแก้วกรองสาร ลูปเขี่ยเชื้อ ตะเกียงแอลกอฮอล์ เครื่องบด (blender, National, MX 795N) เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง (TE214S, Sartorius, Germany) เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Heizbad Hei-VAP, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Germany) ตู้อบลมร้อน (hot air oven, Memmert, UN 110, Germany) ตู้เย็น (Samsung) หม้อนึ่งความดัน (autoclave, TOMY, ES-315, Japan) ตู้บ่มเชื้อ (incubator, Memmert, INP 600, Germany) ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow, BIOHAZARD CLASS II, CLEAN, V6, USA) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Hermle, Z 383 K, Germany) เครื่องเขย่า (shaker, Gallenkamp, United Kingdom) เครื่องผสมสาร (vortex mixer, G560E, VORTEX GENIE 2, USA) เครื่องเขย่าสารด้วยความถี่สูง (Ultrasonic cleaner, Crest, 2800HT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 500-5,000 ไมโครลิตร (eppendrof, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 100-1,000 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 10-100 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) ไมโครปิเปตปริมาตร 2-20 ไมโครลิตร (Thermo Scentific, USA) เครื่องวัดกรด-ด่างแบบตั้งโต๊ะ (Benchtop pH meter, Starter 3000, Ohaus, USA) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, WNB 14, Germany) เครื่อง microplate reader (N12648 Thermo Labsystem IEMS Reader MF Type 1401, Finland) และเครื่องจ่ายตัวอย่างลงเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอัตโนมัติ (Spiral plate, Autoplate 4000, Spiral Biotech, USA)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากผักและผลไม้

3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากผักและผลไม้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80

ในการสกัดผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด ได้แก่ แก่นตะวัน กระเทียมไทย กล้วยไข่ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า ข้าวโพดหวาน ข้าวดำ จีกุก น้อยหน่า บัวบก ใบย่านาง ใบแปะก๊วย เปลือกมังคุด ผักเชียงดา ผักแปม ฟักข้าว มะขามป้อม มะแขว่น เม็ดบัว มันเทศ มันต่อเผือก มะม่วงหาวมะนาวโห่ มะหลอด ยอ ว่านหางจระเข้ สับปะรดศรีราชา สละ เสาวรส เห็ดหลินจือ หม่อน หอมแดง

ไทย แอปเปิ้ลแดง แอปเปิ้ลพื้นเมือง และฮ้วนหมู เริ่มจากการนำผักและผลไม้เหล่านี้มาล้างให้สะอาด แล้วนำไปทำให้แห้งด้วยตู้อบอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยนำผักและผลไม้สดไปอบจนแห้ง เมื่อได้ตัวอย่างผักและผลไม้ที่แห้งแล้วนำไปปั่นให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น ในการเตรียมสารสกัดหยาบทำได้โดยการชั่งตัวอย่างผงผักและผลไม้แห้งปริมาณ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ลงไป ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าโดยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง (เป็นการกรองครั้งที่ 1) กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (เป็นการกรองครั้งที่ 2) จากนั้นนำสารละลายของสารสกัดที่กรองได้ไประเหยเอาเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ออกโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Heizbad Hei-VAP, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Germany) จนได้สารสกัดเข้มข้น จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ขวดสีชาและปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรู นำไประเหยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสจนกระทั่งเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ระเหยออกจนหมดจะได้สารสกัดแห้ง เมื่อวิเคราะห์จะเตรียม stock solution ของสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางสารสกัดแห้งด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

3.2.2.1 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักและผลไม้ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Brand-Wiliams และคณะ (1995) โดยทำการเจือจางสารสกัดผักและผลไม้ด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ที่ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นำสารสกัดผักและผลไม้แต่ละชนิดของแต่ละความเข้มข้น หรือชุดควบคุมเชิงบวกแอลฟา-โทโคฟีรอล (α-tocopherol, 95240, Fluka, Switzerland) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich, Germany) ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร (ในเมทานอล) ปริมาตร 2,925 ไมโครลิตรในหลอดทดลองแต่ละหลอดและใช้เมทานอลเป็นแบลงค์ (Blank) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) พร้อมกับบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ 0 นาที จากนั้นนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร พร้อมบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ 30 นาที

การทำกราฟมาตรฐานของ DPPH ทำได้โดยการเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เวลา 0 นาทีและที่เวลา 30 นาที มาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ (%DPPH`$_{REM}$) จากปฏิกิริยาในแต่ละหลอดทดลอง (ของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น) จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH ข้างต้น สามารถคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ DPPH จากสมการต่อไปนี้

$$[\%DPPH`_{REM}] = ([DPPH`]_T / [DPPH`]_{T=0}) \times 100$$

โดย $[DPPH`]_T$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH` ที่เวลาใดๆ (30 นาที) และ $[DPPH`]_{T=0}$ หมายถึงความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เวลา 0 นาที จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ของสารสกัดแต่ละชนิดที่เวลา 30 นาที กับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดต่อความเข้มข้น DPPH (ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) และหาสมการเส้นตรงจากกราฟเพื่อคำนวณหา EC_{50} (Effective concentration) ของสารสกัดแต่ละชนิด และหาค่า AE (Antiradical efficiency) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$

3.2.2.2 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักและผลไม้ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Lado และคณะ (2004) มีวิธีการดังนี้ ปิเปตสารละลายอะซีเตตบัฟเฟอร์ (acetate buffer) พีเอช 3.6 ที่มีความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสาร 2,4,6 tripyridyl-s-triazine (TPTZ, 93285, Fluka, Switzerland) ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันจะได้เป็นสารละลายของ FRAP reagent จากนั้นปิเปตสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติมสารสกัดตัวอย่าง หรือชุดควบคุมเชิงบวก แอลฟา-โทโคฟีรอล (α-tocopherol, 95240, Fluka, Switzerland) (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia)

ส่วนแบลงค์ (blank) จะใช้สารละลาย FRAP เป็นแบลงค์ และใช้สารละลายมาตรฐาน Fe(II) ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานโดยทำการเจือจางเป็น 7 ระดับ คือ 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำมาทำการทดลองด้วยวิธีการเดียวกันกับสารละลายตัวอย่าง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล จะได้กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารตัวอย่างรายงานผลเป็นหน่วยมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด (mmol Fe(II) /g extract)

3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากผักและผลไม้

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Singleton และคณะ (1999) โดยทำการเตรียมสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแล้วปิเปตสารสกัดนี้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงไป แล้วเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent (UN3264, VWR chemical, European Commission) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

($NaCO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid, 48630, Fluka, Spain) ที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากผักและผลไม้ ส่วนแบลงค์ (blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากผักและผลไม้

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ตัวอย่าง ซึ่งทำโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทริกตามวิธีการของ Kathirvel และ Sujatha (2012) มีวิธีการดังนี้ ปิเปตสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ (เจือจางด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 250 ไมโครลิตรลง ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของคาเทชิน โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด (mg catechin equivalents (CE)/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชิน (Catechin hydrate, 22110, Aldrich, Germany) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีการเดียวกับข้างต้นแต่ใช้สารละลายคาเทชินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ส่วนแบลงค์ (Blank) ใช้เอทานอลร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารละลายคาเทชินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่

ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคาเทชินกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายคาเทชิน และหาสมการเส้นตรงจากกราฟ

3.2.5 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

3.2.5.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้จำนวน 34 ชนิด โดยทำตามวิธีการของ Wichienchot และคณะ (2011) ซึ่งทำได้โดยการปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) (Korakli และคณะ, 2002) ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 1.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 4 ชั่วโมงทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการปรับพีเอชของสารละลายผสมให้มีพีเอชเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5 นอร์มอล จากนั้นทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์โดยการเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase from porcine pancreas, Sigma, USA) ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตรในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (mM) ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 6 ชั่วโมงทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังการย่อยด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric method) ตามวิธีการในข้อ 3.2.6.2 โดยทำตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) โดยปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยนั้นจะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) โดยคำนวณจากสูตรนี้

ปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ – ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย
(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดชั่วโมงที่ 0 วิเคราะห์ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS method) ที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Miller (1959) ทำได้โดยปิเปตสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic acid, Sigma-Aldrich, India) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงทันที (แช่ในน้ำเย็น) เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g

extract) และวิเคราะห์หาปริมาณสาร ประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารมาตรฐานอินนูลิน (Inulin, from chicory, I2255, Sigma, USA) ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก

3.2.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (phenol-sulfuric method) ตามวิธีการทดลองของ Dubois และคณะ (1956) ปิเปตสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ที่ย่อยด้วยกรดและเอนไซม์แล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (PANREAC QUIMICA, EU) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรตามลงไปแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (QRëC, Newzealand) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นผสมสารละลายให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้อีก 20 นาทีในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Australia) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (D-Glucose anhydrous, 454336, Carlo erba reagent, France) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract)

3.2.5.3 การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อผลการเจริญของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกโดยการผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติก

ก) การเตรียมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก 3 ชนิดคือ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *Streptococcus thermophilus* BCC 5366 ทำได้โดยเขี่ยเชื้อจากหลอด Stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณ 1 ลูปเต็มลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลว MRS ดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เซลล์ตกตะกอนและเทส่วนใสทิ้งไปเหลือแต่เฉพาะตะกอนเซลล์ที่ก้นหลอด แล้วจึงล้างเซลล์โดยการเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตรเท่ากับอาหารเดิม (5 มิลลิลิตร) นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม นำไปปั่นเหวี่ยงอีกเป็นครั้งที่ 2 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง (เป็นการล้างเซลล์ครั้งที่ 1) จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีเดียวกันนี้อีก 1 ครั้ง นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาทำให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยเซลล์ โดยการเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับความขุ่นของสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียให้เท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน Mcfarland เบอร์ 5 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร)

ข) การผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสม

สำหรับการผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมซึ่งทำตามวิธีการของ Han และคณะ (2014) โดยเติมสารแขวนลอยของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *Streptococcus thermophilus* BCC 5366 ในอัตราส่วน 1:1:1 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร)แล้วทำการเติมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมลงในน้ำนมพร้อมมันเนยที่ผ่านการ

พาสเจอร์ไรส์ปริมาตรร้อยละ 2 (ปริมาตรต่อปริมาตร) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกผสมที่มีความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร

ค) ขั้นตอนการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ตโพรไบโอติก

ในการทดลองนี้ได้ทำการเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณสูง 5 อันดับแรก ซึ่งได้คัดเลือกจากผลการทดลองในข้อ 3.2.4.2 ที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในโยเกิร์ต โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Agil และคณะ (2013) ในการศึกษานี้ได้เปรียบเทียบผลการเติมสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ในโยเกิร์ตทั้งหมด 7 ชุด ได้แก่ โยเกิร์ตชุดที่ 1 เป็นชุดควบคุม ซึ่งทำมาจากนมอย่างเดียว โยเกิร์ตชุดที่ 2 ทำจากน้ำนมผสมอินนูลินปริมาตรร้อยละ 4 เป็นชุดควบคุมเชิงบวก และโยเกิร์ตชุดที่ 3-7 ทำจากน้ำนมผสมกับสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ปริมาณสูง 5 อันดับแรกได้แก่ เม็ดบัว ข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรด ตามลำดับ ปริมาตรร้อยละ 4 ในการผลิตโยเกิร์ตขั้นแรกได้นำน้ำนมพร้อมมันเนยตราเมจิที่มีปริมาณไขมันร้อยละ 3.56 และปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 12.32 นำไปทำการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดในนมด้วยหางนมผงปริมาตรร้อยละ 5 เพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 18 จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเพื่อผสมหางนมผงกับนมให้เข้ากัน แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นผสมส่วนผสมชนิดอื่นๆทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสม แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมกล้าเชื้อโยเกิร์ตที่เตรียมไว้ลงไปร้อยละ 2 คนให้เข้ากัน นำไปบรรจุในภาชนะปิดฝา แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แล้วสุ่มตัวอย่างโยเกิร์ตที่เวลา 0, 12 และ 24 ชั่วโมงของการหมักเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าพีเอช วัดปริมาณกรดทั้งหมดโดยคำนวณในรูปของกรดแลคติกตามวิธีของ AOAC (2005) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ วิเคราะห์ค่าพีเอชในชุดโยเกิร์ตโดยใช้ส่วนของ Glass electrode ของเครื่องวัดกรด-ด่างแบบตั้งโต๊ะ (Benchtop pH meter, Starter 3000, Ohaus, USA) จุ่มลงในเนื้อของโยเกิร์ต แล้วอ่านค่าของ pH ที่ได้ วัดปริมาณกรดทั้งหมดในชุดโยเกิร์ตโดยชั่งโยเกิร์ต 4 กรัม จากนั้นเติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเจือจางปริมาตร 8 มิลลิลิตร จากนั้นหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนความเข้มข้นร้อยละ1 ปริมาตร 3 หยด และไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนกระทั่งถึงจุดยุติเปลี่ยนเป็นสีชมพู จดปริมาณของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณกรดแลคติก

สูตรคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\% คำนวณในรูปของกรดแลคติก)} = \frac{0.009 \times Mx \times Vx}{0.1 \times w} \times 100$$

กำหนดให้ Mx คือ ความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์

Vx คือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท

W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง

หมายเหตุ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 0.0090 กรัมของกรดแลคติก

และวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีชีวิตด้วยเครื่องจ่ายตัวอย่างลงเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอัตโนมัติ (Spiral plate, Autoplate 4000, Spiral Biotech, USA) บนอาหารแข็ง MRS และนำข้อมูลของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ได้จากการทดลองในแต่ละซ้ำ (3 ซ้ำ) มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ง) การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ ของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 22.0 (IBM, USA)

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

4.1.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

4.1.1.1 ความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักและผลไม้ทั้ง 34 ชนิด ด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ DPPH โดยสารละลาย DPPH เป็นสารละลายสีม่วงที่มีอนุมูลและมีความเสถียรในสารละลายเมทานอล เมื่อทำปฏิกิริยากับสารสกัดจากผักและผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทำให้ความเข้มของสารละลาย DPPH จะลดลงและเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล (α-tocopherol) ซึ่งจะแสดงค่าในรูปของค่า effective concentration (EC_{50}) ซึ่งเป็นค่าของความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่สามารถลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระของสารละลาย DPPH โดยเริ่มต้นที่ร้อยละ 50 นั่นหมายถึงถ้าค่า EC_{50} ยิ่งต่ำแสดงว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดนั้นยิ่งสูง จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้สูงที่สุดคือ เปลือกมังคุด ซึ่งมีค่าของ EC_{50} เท่ากับ 440.73 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (ตารางที่ 4.1) หรือมีค่า antiradical efficiency (AE) เท่ากับ 2.27×10^{-3} ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ซึ่งสามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้สูงกว่าสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี (505.35) ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างสูงได้แก่ มะขามป้อม เม็ดบัว และมะแขว่น ซึ่งมีค่า EC_{50} 453.73, 1,340.86 และ 1,511.89 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ปานกลาง ได้แก่ ผักแปม มะม่วงหาวมะนาวโห่ แอปเปิ้ลพื้นเมือง น้อยหน่า ข้าวดำ ใบบัวบก ใบแปะก๊วย ใบย่านาง กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ เห็ดหลินจือ หม่อน ผักเชียงดา และเสาวรส ซึ่งมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 1,982.00 ถึง 8,644.88 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างต่ำ ได้แก่ จีกุก ฮ้วนหมูยอ ว่านหางจระเข้ แอปเปิ้ลแดง มะหลอด มันต่อเผือก สละ หอมแดง กล้วยเล็บมือนาง สับปะรด กระเทียมไทย และฟักข้าว ซึ่งมีค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 11,579.44 ถึง 76,993.93 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ต่ำมาก ได้แก่ มันเทศแก่นตะวัน และข้าวโพดหวาน ซึ่งมีค่า EC_{50} 103,368.80, 112,047.80 และ 144,948.80 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH ตามลำดับ

4.1.1.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด ด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยจะรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ) ซึ่งจะมีสีน้ำเงิน โดยสีน้ำเงินนั้นเกิดจากอะตอมของเหล็กในสารเฟอริก จะถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็นสารเฟอรัส ถ้าสีน้ำเงินที่เกิดขึ้นยิ่งมีสีเข้มขึ้นหมายถึงมีความสามารถในการรีดิวซ์สูง นั่นแสดงว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของ

สารสกัดก็จะยิ่งมากขึ้นเช่นกัน จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงที่สุดคือสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม (3.51 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างสูงได้แก่สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด และมะแขว่น ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ 2.99 และ 1.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) ส่วนสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ปานกลางได้แก่สารสกัดหยาบจากผักแปม และเม็ดบัว ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.93 และ 0.80 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดทีมีที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างน้อยได้แก่สารสกัดหยาบจากข้าวดำ แอปเปิ้ลพื้นเมือง มะม่วงหาวมะนาวโห่ ใบบัวบก กล้วยไข่ ใบแปะก๊วย น้อยหน่า ใบย่านาง ผักเชียงดา และหม่อน ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ในช่วง 0.44 ถึง 0.21 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดทีมีที่มีความสามารถในการรีดิวซ์น้อยมากได้แก่สารสกัดหยาบจากกล้วยน้ำว้า เห็ดหลินจือ เสาวรส ฮ้วนหมู มันต่อเผือก จีกุก ว่านหางจระเข้ มะหลอด ยอ แอปเปิ้ลแดง หอมแดง มันเทศ ฟักข้าว สับปะรดศรีราชา แก่นตะวัน กล้วยเล็บมือนาง สละ ข้าวโพดหวาน และเทียมไทย ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ในช่วง 0.19 ถึง 0.003 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล (α-tocopherol) มีกิจกรรมการรีดิวซ์เท่ากับ 0.59 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด แต่พบว่าสารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอรอลมีความสามารถในการรีดิวซ์เป็นรองสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม เปลือกมังคุด และมะแขว่น

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านสารอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP method มีความสอดคล้องใกล้เคียงกับกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH method โดยสารสกัดที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีความสอดคล้องกัน ได้แก่ เปลือกมังคุด มะขามป้อม และมะแขว่น ซึ่งมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงเหมือนกันของทั้งสองวิธี

4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

จากการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิดนั้น พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ได้แก่ มะขามป้อม (416.07 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจาก เปลือกมังคุด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 397.36 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดหยาบที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างมากรองลงมา ได้แก่ มะแขว่น ผักแปม ใบแปะก๊วย เม็ดบัว ข้าวดำ ผักเชียงดา และใบย่านางโดยมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 190.52, 149.86, 123.60, 122.75 113.12 105.16 และ 101.25 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) ส่วนสารสกัดผักและผลไม้ชนิดอื่นพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดรองลงมาซึ่งมีปริมาณค่อนข้างน้อย ได้แก่ น้อยหน่า มะม่วงหาวมะนาวโห่ กล้วยไข่ แอปเปิ้ลพื้นเมือง เห็ดหลินจือ หม่อน ฮ้วนหมู เสาวรส จีกุก ใบบัวบก กล้วยน้ำว้า ว่านหางจระเข้ ยอ มะหลอด มันต่อเผือก หอมแดงไทย ฟักข้าว แอปเปิ้ลแดง มันเทศ สับปะรดศรีราชา ข้าวโพดหวาน สละ แก่นตะวัน กระเทียมไทย และกล้วยเล็บมือนาง (98.74 ถึง 61.16 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)

4.1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

จากการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดคือสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (351.60 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ค่อนข้างสูงรองลงมาคือมะแขว่น ผักแปม และเม็ดบัว ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 135.36, 113.25 และ 89.37 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ปานกลางได้แก่ มะขามป้อม มะม่วงหาวมะนาวโห่ และข้าวดำ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 48.88, 43.75 และ 38.34 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ค่อนข้างน้อยได้แก่ กล้วยไข่ น้อยหน่า ใบแปะก๊วย ผักเชียงดา และใบย่านาง ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 33.23, 30.58, 24.57, 23.98 และ 22.63 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่น้อยมากได้แก่ เห็ดหลินจือ ใบบัวบก เสาวรส หม่อน ฮ้วนหมู แอปเปิ้ลพื้นเมือง กล้วยน้ำว้า มันต่อเผือก ยอ มันเทศ แอปเปิ้ลแดง ว่านหางจระเข้ จีกุก แก่นตะวัน ฟักข้าว มะหลอด สละ สับปะรดศรีราชา หอมแดงไทย กระเทียมไทย กล้วยเล็บมือนาง และข้าวโพดหวาน ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 19.38 ถึง 1.17 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด

เมื่อพิจารณากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งวิธี DPPH method และวิธี FRAP method และพบว่าเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH method สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงสุด แต่ถ้าทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP method พบว่าสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาลำดับที่ 3-5 ได้แก่สารสกัดหยาบจากเม็ดบัว เมล็ดมะแขว่น และต้นแปม ซึ่งมีลำดับของค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระผันแปรต่างกันระหว่าง 2 วิธีวิเคราะห์ อย่างไรก็ตามมีสารสกัดจากพืชบางชนิดที่ให้ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกันบ้างคือค่าที่วิเคราะห์ได้โดยวิธี DPPH และวิธี FRAP อยู่ที่ลำดับความมากน้อยลำดับเดียวกัน (ลำดับที่ 1 มากที่สุดและลำดับที่ 34 น้อยที่สุด) ดังนี้ ผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง (ลำดับที่ 6) ใบแปะก๊วย (ลำดับที่ 11) เนื้อและเมล็ดเสาวรส (ลำดับที่ 18) วุ้นในใบว่านหางจระเข้ (ลำดับที่ 22) และผลสับปะรดศรีราชา (ลำดับที่ 29)

เมื่อพิจารณาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์จะเห็นได้ว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP และมีค่าสูงสุด 4 อันดับแรกคือ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม เปลือกมังคุด เมล็ดมะแขว่นและต้นแปม มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคือสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด ตามด้วยเปลือกมังคุด เมล็ดมะแขว่นและต้นแปม ส่วนสารสกัดชนิดอื่นพบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกคือ สารสกัดหยาบจากผลสับปะรดศรีราชา (ลำดับที่ 29) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH method ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่มีค่าสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารสกัดตัวอื่นที่สัมพันธ์กับสารประกอบฟลาโวนอยด์

รองลงมาได้แก่ มะม่วงหาวมะนาวโห่ (ลำดับที่ 6) ใบย่านาง (ลำดับที่ 12) ลูกหม่อน (ลำดับที่ 16) เนื้อและเปลือกแอปเปิ้ลแดง (ลำดับที่ 23) และเมล็ดข้าวโพดหวาน (ลำดับที่ 34)

สารสกัดจากมะขามป้อมที่สกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ร้อยละ 73.3 (Mathew และ Subramanian, 2014) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ดีทั้งวิธี DPPH method และ FRAP method และยังพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูง ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Maisuthisakul และคณะ (2008) ที่พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 69.1 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 44.3 มิลลิกรัมรูทินต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และจากรายงานของ Kubola และคณะ (2011) พบว่ามีสมบัติในการต้านอนุมูล DPPH เท่ากับร้อยละ 98.10 และมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 50.38 มิลลิโมลเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด จากการที่สารสกัดมะขามป้อมมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงอาจมีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิด Luo และคณะ (2011) ได้ทำการแยกสารประกอบฟีนอลิกจากผลมะขามป้อมพบว่าประกอบไปด้วยสาร galic acid, ellagic acid, mucic acid 1,4-lactone 3-*O*-gallate, isocorilagin, chebulanin, chebulagic acid และ mallotusinin ที่แยกได้จากการทำให้บริสุทธิ์จากมะขามป้อม

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากทั้งวิธี DPPH method และ FRAP method นอกจากนี้ยังพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณสูง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pothitirat และคณะ (2009) ได้ทำการสกัดเปลือกผลมังคุดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ยังไม่แก่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดคือ 42.57 กรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัด และสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่แก่แล้วมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 4.08 กรัมควอซิทินต่อ 100 กรัมของสารสกัด และมีสารต้านอนุมูล DPPH ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 10.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การที่สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูง มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ดีมากอาจเนื่องมาจากในเปลือกผลของมังคุดอาจจะประกอบด้วยสารสำคัญ Zadernowski และคณะ (2009) ได้ทำการแยกหาสารประกอบฟีนอลิกในเนื้อและเปลือกผลของมังคุดด้วยวิธี Gas chromatography-mass spectro metry (GC-MS) พบว่าสาร protocatechuic acid เป็นสารประกอบหลักของกรดฟีนอลิกในเนื้อและเปลือก ยังพบว่ามีสาร *p*-hydroxybenzoic acid ในยวง พบสาร m-hydroxybenzoic acid เฉพาะในส่วนเนื้อ และพบสาร 3,4-dihydroxy mandelic เฉพาะในเปลือกผลมังคุด

Zheng และคณะ (2012) ได้ศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดเม็ดบัวจากประเทศจีนที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 50 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 30 (น้ำหนักโดยปริมาตร) พบว่าสายพันธุ์ Jianjibaihualian มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดคือ 477.61 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 509.34 มิลลิกรัมรูทินต่อกรัมของสารสกัด และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 11.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น Kredy และคณะ (2010) ได้ศึกษาหาสารปริมาณประกอบฟลาโวนอยด์จากเปลือกของเม็ดบัวสด (fresh seed epicarp) ด้วยวิธี HPLC-ESI-MS พบว่ามีสาร glycosylate flavonols 6 ชนิด และมีสาร aglycone flavonols เพียงชนิดเดียว และได้วิเคราะห์หาปริมาณสาร

ในกลุ่ม flavonol aglycones ได้แก่สาร ไมริซิทิน (myricetin) ควอซิทิน (quercetin) kaempferol และ isorhamnetin โดยใช้วิธี HPLC ผลปรากฏว่าพบสารควอซิทิน (10.2 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดแห้ง) ซึ่งสูงกว่าสาร aglycones ชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ Yen และคณะ (2005) ได้รายงานว่า scanvenging effect จากเม็ดบัวที่สกัดด้วยน้ำเดือดสูงกว่าสารสกัดเม็ดบัวที่สกัดด้วย n-hexane หรือ ethyl acetate และได้จำแนกชนิดของสาระสำคัญที่เป็นสารประกอบในเม็ดบัวที่ทำการสกัดด้วยวิธี HPLC พบว่าเป็นกรดฟีนอลิก (phenolic acid) กรดแกลลิก (gallic acid) กรดคาเฟอิค (caffeic acid) กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) *p*-hydroxybenzoic acid และสารประกอบฟีนอลิกปริมาณมากซึ่งคาดว่าอาจเกี่ยวข้องกับการมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของเม็ดบัว

สารสกัดจากเมล็ดข้าวดำพันธุ์หอมนิลมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sadabpod และคณะ (2010) ซึ่งทำการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระโดยทำการสกัดข้าวดำพันธุ์หอมนิลด้วยเมทานอลร้อยละ 80 ซึ่งพบว่าข้าวดำพันธุ์หอมนิลเมล็ดดิบมีกิจกรรมการยับยั้งอนุมูล DPPH เท่ากับร้อยละ 95.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด และมีความสามารถในการรีดิวซ์ 5214.44 มิลลิกรัมเฟอรัสซัลเฟตต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัด นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 272.07 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด ซึ่งการที่ข้าวดำมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูง ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าในเมล็ดข้าวดำพันธุ์หอมนิลมีสารประกอบหลายชนิด ซึ่ง Bordiga และคณะ (2014) ทำการวิเคราะห์แยกสารประกอบที่พบในข้าวดำด้วยวิธี HPLC-DAD-ESI-MS/MS ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ (anthocyanins, flavonols และ flavan-3-ols) และสารที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ (hydroxycinnamic acid) และสารประกอบฟีนอลิก ข้าวดำมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูง ซึ่งสาร cyanidin-3-glucoside เป็นสารแอนโทไซยานินชนิดหลักที่พบในข้าวดำตามด้วยสาร peonidin-3-glucoside และ cyanidin-3-rutinoside นอกจากนี้ Shao และคณะ (2014) ยังพบว่าเมล็ดข้าวดำเมื่อแก่เต็มที่แล้วจะมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging activity) เท่ากับ 207.31 ไมโครโมลโทรล็อกซ์ (trolox) ต่อ 100 กรัมของเมล็ดข้าว และยังพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 56.48 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของเมล็ดข้าว และเมื่อทำการแยกสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดข้าวดำที่แก่เต็มที่ด้วยวิธี HPLC-MS/MS พบสาร protocatechuic acid, vanillic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid และ isoferulic acid ซึ่งมีปริมาณสารเท่ากับ 4.48, 5.38, 0.63, 2.00, 17.92 และ 1.33 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเมล็ดข้าว ตามลำดับ

สารสกัดจากเมล็ดมะแขว่นมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง ซึ่งได้เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้แล้วว่าสารสกัดจากลำต้นมะแขว่นที่สกัดด้วยเมาทานอลมีสมบัติต้านอนุมูล DPPH (IC_{50} 54.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีสมบัติต้านอนุมูล DPPH (IC_{50} 117.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งสูงกว่าน้ำมันที่กลั่นจากผลแห้งมะแขว่น (IC_{50} 5764.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Tangjitjaroenkun และคณะ, 2012b) Tangjitjaroenkun และคณะ (2012a) ได้ทำการแยกสารประกอบจากส่วนลำต้นของมะแขว่นโดยวิธี spectroscopic และ MS analyses พบว่าเป็นสาร quinolone alkaloid ชนิดใหม่คือ 4-methoxy-3-(3-methyl-2-oxobut-3-enyl)quinolin-2(1H)-one รวมทั้ง limonellone และสารประกอบอีก 5 ชนิดที่เคยแยกได้แล้วก่อนหน้านี้จากลำต้น

ของมะแขว่นคือ ubiquitous lupeol, alkaloid rutaecarpine และ coumarins (xanthoxyletin, osthol และ scopoletin) (Somanabandhu และคณะ, 1992) นอกจากนี้พืชสกุล *Zanthoxylum* ได้ชี้ให้เห็นว่ามีการสร้างสารทุติยภูมิที่หลากหลาย เช่น สาร alkaloids, aromatic และ aliphatic amides, sterols และ phenylpropanoid-ligans และ coumarins (Mester 1983; Simanek 1985) ซึ่ง *Zanthoxylum limonella* Alston. มีชื่อท้องถิ่นเรียกว่า มะแขว่น ลักษณะเป็นพุ่มไม้สีเขียวกระจายอยู่ตามภาคเหนือของประเทศไทย โดยในส่วนของราก เปลือกของลำต้น ลำต้นและผล ใช้สำหรับรักษาอาการปวดท้องและอาการปวดฟันได้ ผลและเมล็ดของมะแขว่นจะใช้เป็นเครื่องเทศ และน้ำมันหอมระเหยจากผลมะแขว่นมีผลต่อการกระตุ้นกล้ามเนื้อโดยจะมีกลไกที่ไม่เฉพาะเจาะจง รวมทั้งมีผลต่อระบบทางเดินอาหาร (Ittipanichpong และคณะ, 2002) ดังนั้นการที่สารสกัดจากผลมะแขว่นอาจมีสารประกอบเหล่านี้จึงทำให้มีสารต้านอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างสูง

ในการทดลองสารสกัดจากต้นแปมมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างมากโดยทั้งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผักแปมมีปริมาณจัดอยู่ในลำดับที่ 4 รองจากผลมะขามป้อม เปลือกมังคุด และเมล็ดมะแขว่น โดยสมบัติทางพฤกษเคมีของพืชชนิดนี้ได้มีผู้รายงานไว้ดังการรายงานของ Sithisarn และ Jarikasem (2009) พบว่าในใบของผักแปมที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 12.86 กรัมกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) ในสารสกัด 100 กรัม (หรือเท่ากับ 2,808.82 มิลลิกรัมกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) ต่อ 100 กรัมของพืชแห้ง) ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 9.61 กรัมของรูทิน (rutin) ในสารสกัด 100 กรัม (หรือเท่ากับ 2,098.74 มิลลิกรัมรูทิน ต่อ 100 กรัมของพืชแห้ง) และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 100.81 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Phuong และคณะ (2006) ได้ทำการแยกสารที่เป็นสารประกอบไดเทอร์พีนอยด์ (diterpenoids) โดยวิธี capillary electrophoresis ซึ่งประสบความสำเร็จในการแยกสารประกอบได้ทั้งหมด 3 กลุ่มจากการสกัดสารจากส่วนของใบ ลำต้น และรากจากพืชสกุล *Acanthopanax* พบว่ามีปริมาณของกรด acanthoic กรด contientalic และกรด kaurenoic โดยพบในปริมาณมากในพืชสกุลนี้ 2 ชนิด คือ *Acanthopanax koreanum* และ *Acanthopanax trifoliatus* (ผักแปม) นอกจากนี้ Kiem และคณะ (2003) ยังได้ทำการแยกสาร 24-nor-lupaneglyc side ชนิดใหม่ได้จากใบของผักแปมจาก spectroscopic data ซึ่งสารนี้มีโครงสร้างทางเคมี ดังนี้ 24-nor-11α-hydroxy-3-oxo-lup-20(29)-en-28-oic acid 28-o-α-L-rhamnopyranosyl-(1$\rightarrow$ 4)-β-D-glucopyranosyl-(1$\rightarrow$ 6)-β-D-glucopyranosyl ester และพบว่ารายงานของ Sithisarn และ Jarikasem (2009) ได้ทำการจำแนกชนิดของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากใบผักแปมโดยวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC DAD และวิธี HPLC-MS และได้ทำการแยกพีค 6 พีค (peak) หลักๆที่พบด้วยเทคนิค column choromatography แล้วจำแนกด้วย mass spectra และ UV absorption spectra พบว่าเป็นสาร chlorogenic acid, 3,5-di-o-caffeolyquinic acid, rutin, isoquercetin, 4,5-di-o-caffeolyquinic acid และ quercitrin

สารสกัดจากผลหม่อนสีแดงมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลาง และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตาม Lin และ Lay (2013) ได้รายงานว่าสารสกัดจากผลหม่อนทั้ง 3 สีคือ ผลสีเขียว ผลสีแดง และผลสีดำที่สกัดด้วยเมทานอล พบว่าผลหม่อนสีแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 133.8 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ

1469.2 ไมโครกรัม ควอซิทินต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้ยังได้ทำการแยกสารประกอบที่มีอยู่ในผลของหม่อนโดยวิธี HPLC chromatograms พบว่าผลหม่อนสีเขียวมีสารรูทิน (rutin) (2,230.2 ไมโครกรัมต่อกรัม) และมีสารควอซิทิน (quercetin) (12.3 ไมโครกรัมต่อกรัม) ส่วนผลหม่อนสีแดงพบว่ามีสารสโคโปเลติน (scopoletin) (220.5 ไมโครกรัมต่อกรัม) สารรูทิน (2,411.0 ไมโครกรัมต่อกรัม) และสารควอซิทิน (22.5 ไมโครกรัมต่อกรัม) และผลหม่อนสีดำมีสารสโคโปเลติน (53.1 ไมโครกรัมต่อกรัม) สารรูทิน (3183.6 ไมโครกรัมต่อกรัม) และสารควอซิทิน (101.9 ไมโครกรัมต่อกรัม) นอกจากนี้ Asano และคณะ (2001) ได้ทำการแยกสารประกอบจากผลหม่อนด้วยวิธี column chromatography โดยการแลกเปลี่ยนไอออน ซึ่งพบสารชนิดใหม่คือ 4-O-α-D-galactopyranosyl-calystegine B2 และ 3β,6β-dihydro xynortropane

สารสกัดจากผลแอปเปิ้ลพื้นเมืองมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลาง และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณค่อนข้างน้อย ซึ่งได้เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้แล้วว่าสารสกัดจากผลสุกของแอปเปิ้ลพื้นเมือง (*Chrysophyllum cainito*) ที่สกัดด้วยเมทานอลร้อยละ 80 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยมีกิจกรรมการยับยั้งอนุมูล DPPH (ร้อยละ 95.32) และมีความสามารถในการรีดิวซ์ (44.92 มิลลิโมลเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด) นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (28.54 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (12.92 มิลลิกรัมรูทินต่อกรัมของสารสกัด) ซึ่งในการทดลองนี้ยังทำการแยกหาสารประกอบด้วยวิธี HPLC-DAD system พบว่าผลสุกของแอปเปิ้ลพื้นเมืองประกอบด้วยกรดฟีนอลิกได้แก่ กรดไฮโดรเบนโซอิก (hydrobenzoic acid) กรดแกลลิก (gallic acid) และ protocatechuic acid เท่ากับ 2.35 และ 5.68 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และกรดไฮโดรซินนามิก (hydrocinamic acid) เช่น chorogenic acid และ ferulic acid เท่ากับ 40.68 และ 14.58 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้แก่สาร rutin, myricetin, luteotin, quercetin, apigenin และ kaempferol ซึ่งมีปริมาณสารเท่ากับ 50.36, 68.41, 11.37, 20.07, 0.91 และ 0.83 มิลลิกรัมต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (Kubola และคณะ, 2011) ซึ่ง *Chrysophyllum cainito* หรือที่รู้จักกันทั่วไปคือ สตาร์แอปเปิ้ล (star apple) เป็นต้นไม้พื้นเมืองของอเมริกากลางและพบได้ทางภาคเหนือของไทย สูงประมาณ 8-30 เมตร ผลของแอปเปิ้ลพื้นเมืองมีลักษณะเหมือนลูกแพรมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-10 เซนติมตร เนื้อจะมีสีแดงออกม่วงและสีเขียวซีด เนื้อละเอียดมีรสหวานและมีกลิ่นหอม Morton และคณะ (1987) กล่าวว่าผลของแอปเปิ้ลพื้นเมืองให้พลังงาน 67.2 แคลอรี่ซึ่งมาจากโปรตีนปริมาณ 0.72-2.33 กรัม คาร์โบไฮเดรตปริมาณ 14.7 กรัม และใยอาหารปริมาณ 0.55-3.33 กรัม นอกจากนี้ยังประกอบด้วยวิตามิน รวมถึงแคโรทีน (carotene) ปริมาณ 0.004-0.039 มิลลิกรัม ไทอามีน (thiamine) ปริมาณ 0.018-0.08 มิลลิกรัม ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ปริมาณ 0.013-0.04 มิลลิกรัม ไนอะซิน (niacin) ปริมาณ 0.935-1.340 มิลลิกรัม และวิตามินซี (ascorbic acid) ปริมาณ 3.0-15.2 มิลลิกรัม ดังนั้นการที่แอปเปิ้ลพื้นเมืองมีสารต้านอนุมูลอิสระปานกลาง และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด อาจเนื่องมาจากสารต่างๆเหล่านี้ที่มีอยู่ในผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง

สารสกัดจากต้นเชียงดามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลาง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย ซึ่งได้มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ว่าสารสกัดจากใบของผักเชียงดา (*Gymnema inodorum*) ที่สกัดด้วยเอทานอลมีกิจกรรมการ

ต้านอนุมูล DPPH ร้อยละ 53.3 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 0.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 159.00 ไมโครกรัมควอซิทินต่อกรัมสารสกัด (Kaewnarin และคณะ, 2014) ซึ่งผักเชียงดานั้นอยู่ในวงศ์ของ Asclepiadacecae พบว่ามีประสิทธิภาพในการรักษาโรคบางอย่างทั้งโรคเบาหวาน (diabetes mellitus) โรคไขข้อ (rheumatic arthritis) และโรคเกาต์ (gout) Shimizu และคณะ (2001) ได้พบว่า crude saponin mixture ที่สกัดจากใบเชียงดาสามารถยับยั้งการดูดซึมกลูโคสในทางเดินอาหารในเลือดของหนูและยังได้รักษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทางเคมีกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากสารประกอบ 4 ชนิดที่มีอยู่ในสารสกัดจากใบของผักเชียงดา (GiA-1, GiA-2, GiA-5 และ GiA-7) โดยวิธี HPLC ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นอนุพันธ์ของกรดมีโครงสร้าง (3β,4α,16β)-16,23,28-trihydroxyolean-12-en-3-yl-β-D-glucopyranosiduroic acid เป็นที่ทราบกันว่ากรดจิมนีมิก (gymnemic acid) จากสารสกัดผักเชียงดาช่วยลดการดูดซึมกลูโคสจากทางเดินอาหาร และภายหลังยังช่วยลดการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือด

สารสกัดจากหน่อจีกุกมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย ซึ่งยังไม่พบรายงานการวิจัยในส่วนของหน่อจีกุก แต่พบว่ามีรายงานการวิจัยในส่วนของรากจีกุก ซึ่งจีกุก (*Zingiber zerumbet* Linn.) อยู่ในวงศ์ของ Zingiberaceae มีลักษณะคล้ายต้นข่า สูงประมาณ 1 ถึง 2 เมตร แตกแขนงเป็นกอ ดอกตูมสามารถนำมาลวกจิ้มน้ำพริก แกงผักรวม มีสรรพคุณขับลมในกระเพาะ ซึ่งสามารถพบได้ตามภาคเหนือของประเทศไทยและตามสภาพแวดล้อมที่เย็นชื้น (เพ็ญนภา, 2547) Jang และคณะ (2004) ได้รายงานว่าการแยกสารประกอบฟลาโวนอยด์และสารประกอบอะโรมาติกจากสารสกัดของรากจีกุกจากในส่วน $CHCl_3$-soluble fraction โดยการใช้ column chromatodraphy พบสารประกอบอะโรมาติก 2 ชนิดได้แก่สาร *p*-hydroxybenzaldehyde และ vanillin และอนุพันธ์ของ kaempferol ได้อีก 8 ชนิดคือ kaempferol-3,4',7-*O*-trimethylether, kaempferol-3-*O*-methylether, kaempferol-3,4'-*O*-dimethylether, 4"-*O*-acetylafzelin, kaempferol-3-*O*-(4-*O*-acetyl-α-L-rhamnopyranoside)], 2",4"-*O*-diacetylafzelin, kaempferol-3-*O*-(2,4-*O*-diacetyl-α-L-rhamnopyranoside)], และ 3",4"-*O*-diacetylafzelin, kaempferol-3-*O*-(3,4-*O*-diacetyl-α-L-rhamnopyranoside)] โดยโครงสร้างต่างๆเหล่านี้วิเคราะห์จาก spectroscopic data นอกจากนี้ Bhuiyan และคณะ (2009) ได้วิเคราะห์ชนิดของสาระสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในน้ำมันจากรากและใบของจีกุกโดยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบว่าในน้ำมันรากและใบของจีกุกมีสารประกอบทั้งหมด 29 ชนิดโดยสารประกอบหลักที่พบในปริมาณมากได้แก่สาร zerumbone (ร้อยละ 36.98) α-caryophyllene (ร้อยละ 16.35) และ camphene (ร้อยละ 9.24) ส่วนน้ำมันจากรากจีกุกประกอบด้วยสารสำคัญทั้งหมด 30 ชนิดซึ่งมีสารประกอบหลักๆที่พบคือสาร zerumbone (ร้อยละ 46.83) α-caryophyllene (ร้อยละ 19.00) และ 1,5,5,8-tetramethyl-12-oxabicyclo [9.1.0]dodeca-3,7-diene (ร้อยละ 4.28)

สารสกัดจากผลมะหลอดมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Seal (2011) ที่พบว่าสารสกัดจากผลมะหลอด (*Elaeagnus latifolia*) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดคือ เมทานอลร้อยละ 20 (ปริมาตรโดยปริมาตร) และอะซิโตน พบว่าผลมะหลอดที่สกัดด้วยอะซิโตนมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (10.86 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของผลแห้ง) ปริมาณ

สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (9.67 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของผลแห้ง) และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH (IC_{50} 0.25 มิลลิกรัมของผลแห้ง) ส่วนผลมะหลอดที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (7.13 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของผลแห้ง) ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (1.76 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของผลแห้ง) และมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH (IC_{50} 0.58 มิลลิกรัมของผลแห้ง) ซึ่งมะหลอดเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Elaeagnaceae ในไทยพบมากทางภาคเหนือเป็นไม้เถาเนื้อแข็งเมื่อสุกจะมีสีแดงหรือส้มแดงมีสองชนิดคือ ชนิดเปรี้ยวจะมีผลใหญ่เมื่อสุกจะเป็นสีเหลืองส้มมีรสเปรี้ยว และชนิดหวานจะมีผลเล็กกว่ามีสีอ่อนกว่ารสหวานอมฝาด เมล็ดสีน้ำตาลเป็นพู มีสรรพคุณเป็นยาฝาดสมาน ยาระบาย แก้ท้องผูก เถาใช้แก้ไข้พิษ เปลือกต้นช่วยขับเสมหะ ดอกใช้แก้ริดสีดวงจมูก แก้ปวดศีรษะ และใช้ร่วมกับสมุนไพรอื่นใช้ทำยาแก้ปวด แก้นิ่วได้ (นิดา และทวีทอง, 2550 และ เศรษฐมันต์, 2555) อย่างไรก็ตามได้มีรายงานการศึกษาสารอาหารที่เป็นองค์ประกอบในผลมะหลอดพบว่ามีปริมาณเถ้า (ash) 86.16 กรัมต่อกิโลกรัม ไขมัน (crude fat) 15.10 กรัมต่อกิโลกรัม โปรตีน (protein) 148.20 กรัมต่อกิโลกรัม คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) 743.40 กรัมต่อกิโลกรัม และใยอาหาร (crude fiber) 7.00 และ nutritive value 3702.73 กิโลแคลอรี่ต่อกิโลกรัม (Seal, 2012)

สารสกัดจากดอกฮ้วนหมูมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อยมาก ซึ่งยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระในดอกของฮ้วนหมู อย่างไรก็ตาม Sahu และคณะ (2002) ได้ศึกษาสารประกอบในสารสกัดจากดอกฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) ที่สกัดด้วยเมทานอลและสกัดต่อด้วย water-saturated n-BuOH ซึ่งแยกสาร polyoxypregnane glycosides ชนิดใหม่ได้ 3 ชนิด คือ volubilosid A, B และ C ซึ่งมีโครงสร้างดังนี้ D-3-*O*-beta-D-glucopyranosyl (1→4)-6-deoxy-3-*O*-methyl-beta-D-allopyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranoside, drevogenin D-3-*O*-beta-D-glucopyranosyl (1→4)-6-deoxy-3-*O*-methyl-beta-D-allopyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranosyl (1→4)-beta-D-digitoxopyranoside และ drevogenin P-3-*O*-beta-D-glucopyranosyl (1→4)-6-deoxy-3-*O*-methyl-beta-D-allopyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranosyl (1→4)-beta-D-cymaropyranoside ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบสารหลายชนิดในสารสกัดของผลฮ้วนหมูที่สกัดด้วยน้ำเช่น สารอัลคาลอยด์ (alkaloids) เทอร์พีนอย (terpenoids) สเตอรอยด์ (steroids) คูมาริน (cumarin) แทนนิน (tannin) ฟลาโวนอยด์ (เช่น rutin, quercetin, luteolin, apigenin orientin และ vitexin) โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไกลโคไซด์ (glycosides) ไฟโตสเตอรอล (phytosterol) แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) (เช่น delphinidin และ peonidin) กรดอะมิโนและสารประกอบฟีนอลิก (เช่น caffeic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid และ vanillic acid) ไขมันและสารชนิดอื่นๆ ฮ้วนหมูยังเป็นพืชที่ใช้เป็นยารักษาโรคและใช้เป็นองค์ประกอบทางชีวเคมีของยาที่มีศักยภาพ (Bharathamma และ Sudarsanam, 2015) ฮ้วนหมูอยู่ในวงศ์ของ Asclepiadaceae จัดเป็นไม้เถาเลื้อยชนิดหนึ่งที่ขึ้นพันไม้อื่นเป็นพันธุ์ไม้ป่าแต่นำมาปลูกกันแพร่หลายในบางท้องที่เช่น ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือใบอ่อนและยอดสดๆใช้เป็นผักเครื่องเคียงจิ้มกับน้ำพริก ส้มตำมะม่วงหรือแกงกับผักชนิดอื่นๆ เถามีรสเผื่อนจึงมีสรรพคุณใช้แก้พิษไข้ ส่วนรากมีสรรพคุณกระทุ้งพิษ ขับพิษร้อน พิษไข้ พิษฝี พิษไข้หัว พิษไข้กาฬ ระงับความร้อน ขับปัสสาวะ (เพ็ญนภา, 2547)

ตารางที่ 4.1 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากผักและผลไม้

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Anti-oxidant activity [a]		
		DPPH assay		FRAP assay (mmol Fe (II) / g extract)± SD
		EC_{50} (µg extı mg DPPH) :	AE (10^{-3})± SD	
Acanthopanax trifoliatum Merr.	ผักแปม	1,982 ± 3.31	0.50 ± 0.01	0.93 ± 0.03
Alium sativum Linn.	กระเทียมไทย	74,386.33 ± 3.48	0.01 ± 0.00	0.003 ± 0.00
Allium oschaninii	หอมแดงไทย	55,355.19 ± 0.85	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
Aloe vera	ว่านหางจระเข้	23,733.02 ± 3.85	0.04 ± 0.00	0.07 ± 0.00
Ananas comosus L. Merr.	สับปะรดศรีราชา	62,907.35 ± 1.86	0.02 ± 0.00	0.01± 0.01
Annona squamosa Linn.	น้อยหน่า	3,385.10 ± 2.72	0.29 ± 0.01	0.28 ± 0.01
Carissa carandas Linn.	มะม่วงหาวมะนาวโห่	3,075.84 ± 1.54	0.33 ± 0.01	0.38 ± 0.00
Centella asiatica (Linn.) Urban	ใบบัวบก	4,393.94 ± 2.43	0.23 ± 0.00	0.38 ± 0.02
Chrysophyllum cainito Linn.	แอปเปิ้ลพื้นเมือง	3,258.62 ± 5.44	0.31 ± 0.00	0.40 ± 0.00
Dregea volubillis Stapf.	ฮ้วนหมู	11,604.20 ± 0.91	0.09 ± 0.00	0.14 ± 0.02
Elaeagnus latifolia Linn.	มะหลอด	27,465.56 ± 1.11	0.04 ± 0.00	0.07 ± 0.01
Ganoderma lucidum (Curtis) P. Kars	เห็ดหลินจือ	7,863.65 ± 2.86	0.13 ± 0.00	0.17 ± 0.00
Garcinia mangostana Linn.	มังคุด	440.73 ± 1.31	2.27 ± 0.01	2.99 ± 0.08
Ginkgo biloba	แปะก๊วย	6,229.66 ± 1.35	0.16 ± 0.00	0.37 ± 0.02
Gumnema inodorum (Lour.) Decne	ผักเชียงดา	8,366.34 ± 4.55	0.12 ± 0.00	0.23 ± 0.01
Helianthus tuberosus Linn.	แก่นตะวัน	112,047.80 ± 4.55	0.04 ± 0.05	0.01 ±0.01
Ipomoea batatas	มันต่อเผือก	34,250.15 ± 2.90	0.03 ± 0.00	0.10 ± 0.01
Ipomoea batatas (Linn.) Lamk.	มันเทศ	103,368.80 ± 3.31	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.01
Malus domestica Borkh.	แอปเปิ้ลแดง	26,825.12 ± 1.68	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.01
Morinda citrifolia Linn.	ยอ	23,035.48 ± 4.87	0.04 ± 0.00	0.06 ± 0.01
Morus alba Linn.	หม่อน	8,020.26 ± 5.65	0.12 ± 0.01	0.21 ± 0.02
Momordica cochinchinensis (Lour.) spreng	ฟักข้าว	76,993.93 ±1.95	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00
Musa acuminate	กล้วยเล็บมือนาง	58,732.48 ± 5.18	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00
Musa acuminata Colla.	กล้วยไข่	7,690.25 ± 2.59	0.13 ± 0.00	0.38 ± 0.01
Musa sapientum Linn.	กล้วยน้ำว้า	6,978.51 ± 4.34	0.14 ± 0.00	0.19 ± 0.02
Nelumbo nucifera Gaertn.	เม็ดบัว	1,340.86 ± 4.56	0.74 ± 0.00	0.80 ± 0.23
Oryza sativa	ข้าวดำ	4,294.95 ± 4.38	0.23 ± 0.00	0.44 ± 0.02
Passiflora laurifolia Linn.	เสาวรส	8,644.88 ± 5.81	0.12 ± 0.00	0.15 ± 0.01
Phyllanthus emblica Linn.	มะขามป้อม	453.50 ± 2.15	2.20 ± 0.01	3.51 ± 0.03
Salacca zalacca	สละ	53,427.08 ± 4.27	0.02 ± 0.00	0.01 ±0.01
Tiliacora triandra (Colebr.) Diel	ใบย่านาง	6,346.05 ± 1.17	0.16 ± 0.00	0.27 ± 0.02
Zanthoxylum limonella Linn.	มะแขว่น	1,511.89 ± 2.31	0.66 ± 0.00	1.19 ± 0.02
Zea mays Linn. var. saccharata	ข้าวโพดหวาน	144,948.80 ± 6.31	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.01
Zingiber zerumbet (Linn) Smith.	จีกุก	11,579.44 ± 5.41	0.09 ± 0.00	0.07 ± 0.02
α-Tocopherol	วิตามินอี	505.35 ± 4.25	1.98 ± 0.02	0.59 ± 0.04

[a] คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้

4.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์เป็นการหาปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่ไม่ถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ดังนั้นถ้าหลังจากการย่อยแล้วยังคงมีสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่เหลืออยู่ในปริมาณสูง แสดงว่าสารสกัดหยาบจากชนิดนั้นมีความสามารถในการทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูง และมีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกที่ดี จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในปริมาณสูง 5 อันดับแรก ได้แก่ เปลือกมังคุด หอมแดงไทย มะหลอด สับปะรดศรีราชา และเม็ดบัว ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 188.62, 168.69, 155.51, 155.23 และ 147.49 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในปริมาณค่อนข้างสูงรองลงมา ได้แก่ มันต่อเผือก ข้าวดำ แก่นตะวัน กล้วยไข่ สละ มันเทศ กล้วยน้ำว้า กล้วยเล็บมือนาง แอปเปิ้ลแดง และมะหลอด โดยมีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 137.13, 136.91, 130.13, 129.22, 127.76, 125.91, 124.85, 120.34, 109.04 และ 100.09 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ในการทดลองนี้คือสารอินนูลินที่ได้จากชิโครีมีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์เท่ากับ 396.57 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.2) ดังนั้นจึงได้คัดเลือกสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ และยังมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง 5 ชนิด ได้แก่ เม็ดบัว ข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรดมาใช้ในการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ตในขั้นต่อไป

4.2.2 ผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ต

จากผลการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ เม็ดบัว ข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรดต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในระหว่างการหมักโยเกิร์ต ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.3) พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการหมักมีจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตโพรไบโอติกทุกชุดมีจำนวนใกล้เคียงกัน (6.46 ถึง 6.54 log CFU ต่อกรัม) และหลังจากบ่มถึง 12 ชั่วโมงพบว่าจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตทุกชุดมีจำนวนเพิ่มขึ้นโดยเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.29 ถึง 1.77 log CFU ต่อกรัม โดยจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบจากสับปะรดเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ เพิ่มขึ้นถึง 1.77 log CFU ต่อกรัมจากจำนวนเริ่มต้นซึ่งเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบจากกล้วยไข่และกล้วยน้ำว้าเพิ่มขึ้น (1.76 และ 1.71 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ) แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากเม็ดบัว กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรดมีจำนวนมากกว่าจำนวนเซลล์

ในโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อบ่มจนครบ 24 ชั่วโมงผลปรากฏว่าจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากเม็ดบัวมีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตชุดอื่นคือเพิ่มขึ้น 2.24 log CFU ต่อกรัม จากจำนวนเริ่มต้นคือมีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต $6.0x10^8$ CFU ต่อกรัม รองลงมาคือชุดโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจาก ข้าวดำ กล้วยไข่ และสับปะรดมีจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียแลคติดทั้งหมดเพิ่มขึ้น 2.19, 2.14 และ 2.12 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ จากจำนวนเริ่มต้นซึ่งมีจำนวนมากกว่าจำนวนเซลล์ในโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนโยเกิร์ตชุดที่เติมสารสกัดหยาบจากกล้วยน้ำว้า และสารมาตรฐานอินนูลินก็มีจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันคือ 2.02 และ 1.99 log CFU ต่อกรัม จากจำนวนเริ่มต้น ส่วนโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดใดๆมีจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดเพิ่มขึ้นน้อยที่สุดคือ 1.89 log CFU ต่อกรัม หรือมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น $2.6x10^8$ CFU ต่อกรัม จากจำนวนเริ่มต้น $3.3x10^6$ CFU ต่อกรัม

โยเกิร์ตโพรไบโอติกที่เติมสารสกัดหยาบจากเม็ดบัวมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในระหว่างการหมักโยเกิร์ตอาจมีความสัมพันธ์กับสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ที่พบในปริมาณสูงโดยอาจเป็นสารพรีไบโอติก (prebiotic) ซึ่งสารพรีไบโอติกเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ย่อยอาหารในร่างกายมนุษย์ซึ่งเรียกได้ว่าเป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆที่ต้านการย่อย (resistance short-chain carbohydrate) หรือบางครั้งเรียกว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย (non-digestible oligosaccharide) ซึ่งในปัจจุบันมีเพียงโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย เช่น ไดแซคคาไรด์ (disaccharide) โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) พอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) รีซิสแตนท์สตาร์ช (resistance starch) และน้ำตาลโพลิออล (sugar polyols) ที่ได้รับอ้างว่ามีคุณสมบัติของการเป็นพรีไบโอติก (Al-Sheraji และคณะ, 2013) ในเม็ดบัวมีรีซิสแตนท์สตาร์ชเป็นส่วนประกอบซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ารีซิสแตนท์สตาร์ชชนิดที่ 3 (Resistance starch type 3 : RS3) (Zhang และคณะ, 2014b) รีซิสแตนท์สตาร์ชเป็นส่วนของสตาร์ชซึ่งทนต่อการย่อยโดยจะไม่ถูกไฮโดรไลส์กลายเป็นน้ำตาลดี-กลูโคสในลำไส้เล็กภายในเวลา 120 นาทีหลังจากรับประทานเข้าไปแต่จะถูกหมักในลำไส้ใหญ่ (Fuentes-Zaragoza และคณะ, 2010) Zhang และคณะ (2014b) ได้รายงานว่ารีซิสแตนท์สตาร์ชชนิดที่ 3 จากเม็ดบัวมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโพรไบโอติกจำพวก bifidobacteria ได้ดีกว่ากลูโคส และ high amylose maize starch

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ตโพรไบโอติกระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด (log CFU ต่อกรัม) ± SD		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
เม็ดบัว	6.54±0.02^{a}	8.00±0.01^{b}	8.78±0.03^{a}
ข้าวดำ	6.51±0.08^{a}	7.92±0.05^{bc}	8.70±0.07^{ab}
กล้วยไข่	6.52±0.04^{a}	8.28±0.12^{a}	8.66±0.10^{ab}
กล้วยน้ำว้า	6.49±0.02^{a}	8.20±0.11^{a}	8.51±0.02^{cd}
สับปะรด	6.46±0.02^{a}	8.23±0.09^{a}	8.58±0.03^{bc}
อินนูลิน	6.53±0.03^{a}	7.82±0.02^{c}	8.52±0.15^{cd}
ชุดควบคุม	6.52±0.06^{a}	7.82±0.04^{c}	8.41±0.03^{d}

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ในการทดลองนี้สารสกัดหยาบที่มีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกได้ดีรองจากสารสกัดจากเม็ดบัวลงมาคือ สารสกัดจากข้าวดำ กล้วยไข่ สับปะรด และกล้วยน้ำว้า ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ที่พบในปริมาณสูงรองลงมา Sumczynski และคณะ (2015) ได้วิเคราะห์หาปริมาณเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble dietary fiber : IDF) กับเส้นใยที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ตามธรรมชาติ (Neutral-detergent fiber) ในข้าวดำ พบว่ามีปริมาณค่อนข้างสูง (ร้อยละ 2.97 และ 7.15 ตามลำดับ) ส่วนในกล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้านั้นก็ประกอบด้วยสตาร์ชจำพวกรีซิสแตนท์สตาร์ชในปริมาณสูงเช่นกัน (ร้อยละ 70.5 และ 75.6 ตามลำดับ) (Vatanasuchart และคณะ, 2012) นอกจากนี้การที่สารสกัดจากกล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ช่วยส่งการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต คาดว่าอาจเป็นเพราะในกล้วยทั้ง 2 สายพันธุ์ มีสารพรีไบโอติกเป็นส่วนประกอบ van Loo และคณะ (1995) ได้รายงานว่ากล้วยมีสารอินนูลิน (inulin) และโอลิโกฟรุคโตส (oligofructose) เป็นส่วนประกอบในปริมาณ 0.3 ถึง 0.7 และ 0.3 ถึง 0.7 กรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสเป็นสายพอลิเมอร์สายตรงที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ของฟรุคโตสที่เชื่อมแต่ละหน่วยด้วยพันธะเบต้า (2→1) ซึ่งพันธะนี้มีความสามารถในการทนต่อเอนไซม์ในระบบย่อยอาหารในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และทนต่อค่าพีเอชที่สูงหรือต่ำมากที่พบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ดังนั้นสารอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสจึงสามารถหลบหลีกการถูกไฮโดรไลซ์ในส่วนบนของลำไส้และผ่านไปยังส่วนลำไส้ใหญ่ โดยสารนี้จะไปเป็นซับสเตรทให้กับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (bifidobacteria และ lactobacilli) ซึ่งจะคัดเลือกสารเหล่านี้ไปใช้ในการเจริญและการหมัก เป็นผลให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของคนและสัตว์ ซึ่งประโยชน์หลายประการของอินนูลินและโอลิโกแซคคาไรด์ก็คือ 1)การต่อต้านการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร 2)ช่วยปรับปรุงการเคลื่อนที่ของอาหารในลำไส้ 3)มีการผลิตกรดไขมันสายสั้นซึ่งช่วยป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ 4)ช่วยควบคุมความอยากอาหารโดยการหลั่งสารเปปไทด์ในทางเดินอาหาร 5)ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุอย่างเช่น แคลเซียม เหล็ก และแมกนีเซียม 6)ช่วยลดการสร้างไขมันและคลอเลสเทอรอลในบางครั้ง และ7)ช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ประโยชน์อีกประการหนึ่งซึ่งมีการใช้สารอินนูลินกันอย่างมากเมื่อเร็วๆนี้ก็คือใช้ในรูปของผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า ซินไบโอติก (synbiotic) ซึ่งจะ

ประกอบด้วยทั้งแบคทีเรียโพรไบโอติกและสารพรีไบโอติกซึ่งจะให้ประโยชน์ร่วมกัน ซินไบโอติกพบได้ในอาหารหลายชนิดอย่างเช่น โยเกิร์ต นม ครีม เนยแข็ง และอาหารเสริม ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะใช้สารสกัดจากกล้วยซึ่งมีสารอินนูลินเป็นองค์ประกอบเติมลงในโยเกิร์ต (Holownia และคณะ, 2010) และในสับปะรดพบว่ามีส่วนประกอบของเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำในปริมาณสูง (75.2 กรัมต่อ 100 กรัมวัตถุแห้ง) (Martínez และคณะ, 2012) ซึ่งสารจำพวกเส้นใยอาหารนี้จะมีลักษณะทางกายภาพที่สำคัญคือมีความสามารถในการไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก (Mudgil และ Barak, 2013) นอกจากนี้ Costa และคณะ (2013) ยังได้รายงานว่าน้ำสับปะรดที่ผ่านการ sonication นั้นเหมาะสมที่จะเป็นซับสเตรทต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* เนื่องจากทำให้เชื้อแบคทีเรียมีการเจริญเพิ่มขึ้นได้ดีในเวลาสั้น (12 ชั่วโมง) และยังสามารถคงเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้เป็นเวลาอย่างน้อย 21 วันในการเก็บรักษาด้วยความเย็น ดังนั้นอาจเป็นไปได้ที่ส่วนประกอบดังกล่าวที่มีในสารสกัดจากข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรดมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต

4.2.3 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดหยาบที่คัดเลือกระหว่างการหมัก

จากการทดลองผลิตโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากผักและผลไม้ทั้ง 5 ชนิด คือ เม็ดบัว ข้าวดำ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และสับปะรด โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงบวกคือ โยเกิร์ตที่เติมอินนูลิน และชุดควบคุมเชิงลบที่ไม่เติมสารสกัดใดๆ พบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการหมักโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าพีเอชที่ใกล้เคียงกันคืออยู่ระหว่าง 6.19 ถึง 5.86 หลังจากการหมักพบว่าค่าพีเอชของโยเกิร์ตทุกชุดลดลงอย่างรวดเร็วตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกล้วยไข่มีค่าพีเอชลดต่ำลงมากที่สุดทั้งในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.79 และ 3.84 ตามลำดับ รองลงมาคือโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจาก สับปะรด กล้วยน้ำว้า เม็ดบัว และข้าวดำ ซึ่งมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.98, 5.02, 5.24, และ 5.27 ตามลำดับที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก โดยโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดทุกชนิดมีค่าพีเอชต่ำกว่าค่าพีเอชของโยเกิร์ตที่เติมอินนูลินและโยเกิร์ตชุดควบคุมที่ไม่เติมสารใดๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก และเมื่อหมักถึงชั่วโมงที่ 24 พบว่าโยเกิร์ตทุกชุดมีค่าพีเอชที่ลดต่ำลงอีก โดยโยเกิร์ตที่มีค่าพีเอชลดต่ำมากที่สุดคือโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจาก กล้วยไข่ รองลงมาเป็นสับปะรด กล้วยน้ำว้า เม็ดบัว และข้าวดำ มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.91, 4.04, 4.42, และ 4.54 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าพีเอชต่ำกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สำหรับปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ต พบว่าที่เวลาเริ่มต้นของการหมักกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรดมีปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 0.31 ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดมากกว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดอื่นๆ และโยเกิร์ตที่เติมอินนูลินกับโยเกิร์ตที่ไม่เติมสารใดๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดรองลงมา ได้แก่ ข้าวดำ กล้วยไข่ เม็ดบัว และกล้วยน้ำว้า ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดใกล้เคียงกันอยู่ระหว่างร้อยละ 0.17 ถึง 0.20 เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตทุกชุดเพิ่มขึ้น โดยโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรดมีปริมาณกรดทั้งหมดมากที่สุดทั้งในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก มีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.70 และ 1.29 ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการลดลงของค่าพีเอช และโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงรองลงมาที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ได้แก่

โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า เม็ดบัว และข้าวดำ มีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.47, 0.39, 0.34 และ 0.31 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากเวลาเริ่มต้นอยู่ระหว่างร้อยละ 0.11 ถึง 0.39 โดยโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรด กล้วยไข่และกล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตที่เติมอินนูลินและโยเกิร์ตชุดควบคุมซึ่งไม่เติมสารใดๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่ชั่วโมง 12 ของการหมัก และเมื่อหมักจนถึงชั่วโมงที่ 24 พบว่าโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดที่สูงรองลงมาจากโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรด ได้แก่ โยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกล้วยน้ำว้า เม็ดบัว ข้าวดำ และกล้วยไข่ มีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 0.57, 0.55, 0.51 และ 0.49 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าโยเกิร์ตชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณกรดทั้งหมดในโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากผักและผลไม้ พบว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรดมีค่าพีเอชค่อนข้างต่ำสุดซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่มีค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตชุดอื่นโดยเฉพาะในชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก แต่พบว่าชุดโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากกล้วยไข่มีค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมดไม่สอดคล้องกันเพราะเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นปริมาณกรดทั้งหมดลดลง โดยโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากเม็ดบัวมีการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแลคติกสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 แต่พบว่าโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากสับปะรดที่มีค่าพีเอชต่ำและปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่แสดงว่ามีการหมักที่ดีไม่สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในชั่วโมงที่ 24

ตารางที่ 4.4 ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากพืชชนิดต่างๆต่อค่าความเป็นกรดด่างของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	**ปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ± SD**		
	ชั่วโมงที่ 0	**ชั่วโมงที่ 12**	**ชั่วโมงที่ 24**
เม็ดบัว	6.26 ± 0.02^{b}	5.24 ± 0.04^{b}	4.42 ± 0.01^{c}
ข้าวดำ	6.28 ± 0.01^{b}	5.27 ± 0.03^{b}	4.54 ± 0.02^{b}
กล้วยไข่	6.19 ± 0.02^{c}	4.79 ± 0.06^{d}	3.84 ± 0.03^{f}
กล้วยน้ำว้า	6.25 ± 0.03^{b}	5.02 ± 0.02^{c}	4.04 ± 0.04^{d}
สับปะรด	5.86 ± 0.03^{d}	4.98 ± 0.01^{c}	3.91 ± 0.04^{e}
อินนูลิน	6.45 ± 0.02^{a}	5.64 ± 0.01^{a}	4.51 ± 0.02^{b}
ตัวควบคุม	6.44 ± 0.03^{a}	5.67 ± 0.03^{a}	4.84 ± 0.01^{a}

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.5 ผลของการเติมสารสกัดหยาบจากชนิดต่างๆต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

ชุดของโยเกิร์ต	**ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ, คำนวณในรูปของกรดแลคติก) ± SD**		
	ชั่วโมงที่ 0	**ชั่วโมงที่ 12**	**ชั่วโมงที่ 24**
เม็ดบัว	0.18 ± 0.02^{b}	0.34 ± 0.05^{d}	0.55 ± 0.01^{c}
ข้าวดำ	0.20 ± 0.01^{b}	0.31 ± 0.02^{d}	0.51 ± 0.00^{d}
กล้วยไข่	0.20 ± 0.01^{b}	0.47 ± 0.01^{b}	0.49 ± 0.01^{e}
กล้วยน้ำว้า	0.18 ± 0.00^{b}	0.39 ± 0.01^{c}	0.57 ± 0.01^{b}
สับปะรด	0.31 ± 0.03^{a}	0.70 ± 0.02^{a}	1.29 ± 0.01^{a}
อินนูลิน	0.17 ± 0.01^{b}	0.29 ± 0.04^{d}	0.55 ± 0.00^{c}
ตัวควบคุม	0.17 ± 0.02^{b}	0.33 ± 0.00^{d}	0.41 ± 0.00^{f}

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของผักและผลไม้ทั้งหมด 34 ชนิด ผลปรากฏว่าสารสกัดหยาบที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระโดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ได้ดี ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด ผลมะขามป้อม เม็ดบัว เมล็ดมะแขว่น และต้นแปม ซึ่งที่ค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 440.73 ถึง 1,982.00 ไมโครกรัมของสารสกัด ต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่เป็นสารรีดิวซ์ที่ดีในการทดลองด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม เปลือกผลมังคุด เมล็ดมะแขว่น ต้นแปม เม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ ผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ต้นบัวบก ผลกล้วยไข่และใบแปะก๊วย ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 3.51 ถึง 0.37 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณสูง ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม เปลือกผลมังคุด เมล็ดมะแขว่น ต้นแปม ใบแปะก๊วย และเม็ดบัว โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 416.04, 397.36, 190.52, 149.86, 123.60 และ 122.75 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ สารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณสูง ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด เมล็ดมะแขว่น และต้นแปม โดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 351.60, 135.36 และ 113.25 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบพอลิแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูงสุดคือ สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด (188.62 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากหัวหอมแดงไทย ผลมะหลอด ผลสับปะรด เม็ดบัว หัวมันต่อเผือก เมล็ดข้าวดำ หัวแก่นตะวัน ผลกล้วยไข่ ผลสละ หัวมันเทศ ผลกล้วยน้ำว้า ผลกล้วยเล็บมือนาง ผลหม่อนและผลแอปเปิ้ลแดง (อยู่ในช่วง 168.69 ถึง 109.04 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

สำหรับการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดในระหว่างการหมักโยเกิร์ตโพรไบโอติก พบว่าสารสกัดหยาบจากเม็ดบัวมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวดำ ผลกล้วยไข่ ผลสับปะรดและผลกล้วยน้ำว้า ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมเชิงบวก (อินนูลิน) มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดน้อยที่สุด

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ผลมะขามป้อม เปลือกผลมังคุด ต้นแปม เมล็ดมะแขว่น ใบแปะก๊วย เม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ ผลแอปเปิ้ลพื้นเมือง ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ต้นบัวบก ผลกล้วยไข่ วุ้นในใบว่านหางจระเข้ หัวกระเทียมไทย ใบย่านางและผลหม่อนไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่มน้ำผักและผลไม้เพื่อสุขภาพ เช่น น้ำผสมสารสกัดจากผักและผลไม้เพื่อสุขภาพ เพื่อป้องกันการเกิดโรคที่เกิดจากภาวะปฏิกิริยาออกซิเดชันมากเกิน (oxidative strees) เช่น โรคสมองเสื่อมโดยเฉพาะโรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวาน และโรคร้ายแรงอื่นๆ ส่วนสารสกัดหยาบจากผักและผลไม้ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดได้แก่

สารสกัดหยาบจากเม็ดบัว เมล็ดข้าวดำ ผลกล้วยไข่ ผลสับปะรด และผลกล้วยน้ำว้านั้นมาประยุกต์ใช้โดยเติมลงในโยเกิร์ตที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นกล้าเชื้อเพื่อกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตโพรไบโอติกที่ผลิตขึ้นด้วยเมื่อผสมด้วยสารอาหารที่เหมาะสม แล้วอาจทำการปรุงแต่งสี กลิ่นและรสของโยเกิร์ต หรืออาจดัดแปลงผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในรูปแบบต่างๆ เช่น โยเกิร์ตพร้อมดื่ม (drinking yogurt) โยเกิร์ตแช่แข็ง (frozen yogurt) กรีกโยเกิร์ต (greek yogurt) คีเฟอร์ (kefir) หรือโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง (soy milk yogurt) สำหรับผู้ที่แพ้แลคโตสในนม

เอกสารอ้างอิง

โกสินทร์ วิระษร, กุลธิดา กล้ารอด, ประณิธิ หงส์ประภาส, และพัชรี บุญศิริ. (2557). ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุลและสารต้านออกซิเดชันกับโรคมะเร็ง. ศรีนครินทร์เวชสาร, 29(2), 207-209.

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา Oxidants and antioxidants: Sources and mechanism. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, 1(1), 59-70.

นิดดา หงส์วิวัฒน์ และทวีทอง หงส์วิวัฒน์. (2550). มะหลอดในผลไม้ 111 ชนิด: คุณค่าอาหารและการกิน. กรุงเทพมหานคร. แสงแดด, หน้า 184

แพทย์หญิงเพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, (ผู้รวบรวม). (2547). ผักพื้นบ้านภาคเหนือ. ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : บริษัทสามเจริญพาณิชย์ จำกัด

รัชฎาพร อุ่นศิริไลย์, จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี และจิตรา สิงห์ทอง. (2554). ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านาง เครือหมาน้อย และรางจืด. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 2554.

วีณา จิรัจฉริยากูล. (2556). สารฟลาโวนอยด์และสมุนไพร (Flavonoids and Mecinal Plants). ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, หน้า 1-90.

เศรษฐมันต์ กาญจนกุล. (2555). มะหลอดในผลไม้ในเมืองไทย. กรุงเทพมหานคร. เศรษฐศิลป์, หน้า 57

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2550). สารต้านอนุมูลอิสระ *Radical Scavenging Agent.* กรุงเทพมหานคร: นิวไทยมิตรการพิมพ์, หน้า 1-183.

Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2014). In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 3, 16-25.

Agil, R., Gaget, A., Gliwa, J., Avis, T. J., Willmore, W. G., & Hosseinian, F. (2013). Lentils

Enhance probiotic growth in yogurt and provide added benefit of antioxidant protection. *LWT – Food Science and Technology*, 50, 45-49.

Al-Sheraji, S., Ismail, A., Manap, M., Mustafa, S., Yusof, R., & Hassan, F. (2013). Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Food, 5,* 1542-1553.

Al-Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., & Hassan, F. A. (2012). Fermentation and non-digestibility of *Mangifera pajang* fibrous pulp and its polysaccharides. *Journal of Functional Foods*, 4, 933-940.

AOAC, (2005). Official Methods of Analysis.: AOAC official Method. Association of Official Chemists, Washington, DC, USA.

Asano, N., Yamashita, T., Yasuda, K., Ikeda, K., Kizu, H., & Kameda, Y. (2001). Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4208-4213.

Bharathamma, G., & Sudarsanam, G. (2015). Phytochemical investigation of aqueous fruit extracts of *Dregea volubilis* (Linn.) Benth. *Indian Journal of Plant Sciences*, 4(1), 11-15.

Bhuiyan, Md. N. I., Chowdhury, J. U., & Begum, J. (2009). Chemical investigation of the leaf and rhizome essential oils of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. from Bangladesh. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4, 9-12.

Blasa, M., Gennari, L., Angelino, D., & Ninfali, P. (2010). Fruit and vegetable antioxidants in health. In R. R. Watson, & V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive Food in Promoting Health: Fruits and vegetables* (pp. 37-58). New York, USA: Elsevier Inc.

Bordiga, M., Gomez-Alonso, S., Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J. D., Hermosin-Gutierrez, I., & Arlorio, M. (2014). Phenolics characterization and antioxidant activity of six different pigmented *Oryza sativa* L. cultivars grown in Piedmont (Italy). *Food Research International*, 65, 282-290.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Bersert, E. C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittle Wissenschaft and Technologie*, 28(1), 25-30.

Costa, M. G. M., Fonteles, T. V., Tibério de Jesus, A. L., & Rodrigues, S. (2013). Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability. *Food Chemistry*, 139, 261-266.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.

Fang, Y. Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18, 873-879.

Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E. & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43, 931-942.

Han, X., Zhang, L., Yu, P., Yi, H., & Zhang, Y. (2014). Potential of LAB starter culture isolated from Chinese traditional fermented foods for yoghurt production. *International Dairy Journal*, 34, 247-251.

Holownia, P., Jaworska-Łuczak, B., Wisniewska, I., Bilinski, P., & Wojtyła A. (2010). The benefits & potential health hazards posed by the prebiotic inulin-A review. *Polish Journal of Food and Nutrition sciences*, 60, 201-211

Ittipanichpong, C., Ruangrungsi, N., & Pattanaautsahakit, C. (2002). Chemical compositions and pharmacological effect of essential oil from the fruit of *Zanthoxylum limonella*. *Journal of The Medical Association of Thailand*, 85, 344–353.

Jang, D. S., Han, A. R., Park, G., Jhon, G. J., & Seo, E. K. (2004). Flavonoids and aromatic compounds from the rhizomes of *Zingiber zerumbet*. *Archives of Pharmacal Research*, 27(4), 386-389.

Kaewnarin, K., Niamsup, H., Shank, L., & Rakariyatham, N. (2014). Antioxidant and antiglycation activities of some edible and medicinal plants. *Chiang Mai Journal of Science*, 41(1), 105-116.

Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2012). In vitro assessment of antioxidant and antibacterial properties of *Terminalia chebula* Retz. leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2, 788-795.

Kiem, P. V., Minh, C. V., Cal, X. F., Lee, J. J., & Kim, Y. H. (2003). A new 24-nor-lupane-glycoside of *Acanthopanax trifoliatus*. *Archives of Pharmacal Research*, 26(9), 706-708.

Korakli, M., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2002). Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 958-965.

Kredy, H. M., Huang, D., Xie, B., He, H., Yang, E., Tian, B., & Xiao, D. (2010). Flavonols of lotus (*Nelumbo nucifera,* Gaertn.) seed epicarp and their antioxidant potential. *European Food Research and Technology*, 231, 387-394.

Kubola, J., Siriamornpun, S., & Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*, 126, 972-981.

Laddha, G. P., Bavaskar, S. R., Vikram, M., & Baile, S. B. (2012). Anti-diabetic effect of *Morus alba* on rabbit as animal model. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(4), 334-336.

Lado, C., Then, M., Varga, I., Szoke, E., & Szentmihalyi, K. (2004). Antioxidant property of volatile oils determined by the ferric reducing ability. *Zeitschrift für Naturforschung*, 59c, 354-358.

Lin, C. Y., & Lay, H. L. (2013). Characteristics of fruit growth, component analysis and antioxidant activity of mulberry (*Morus* spp.). *Scientia Horticulturae*, 162, 285-292.

Lintas C. (1992). Nutritional aspects of fruit and vegetable consumption. In F. Lauret (Ed.)**,** *Options Mediterraneennes* (pp. 79-87)*.* Montpellier, France: CIHEAM.

Liu, R.H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 134, 3479-3485.

Capsicum annum L. cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 392-401.

Luo, W., Zhao, M., Yang, B., Ren, J., Shen, G., & Rao, G. (2011). Antioxidant and antiproliferative capacities of phenolics purified from *Phyllanthus emblica* L. fruit. *Food Chemistry*, 126, 277-282.

Maisuthisakul, P., Pasuk, S., & Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 229-240.

Mathew, M., & Subramanian, S. (2014). In vitro screening for anti-cholinesterase and antioxidant activity of methanolic extracts of ayurvedic medicinal plants used for cognitive disorders. *The Public Library of Science*, 9(1), 1-7.

MartÍnez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135, 1520-1526.

Mester, I. (1983). Chemistry and chemical Taxonomy of the Rutales. In P. G. Waterman, & M. F. Grundon (Eds.), *Annual Preceedings of the Phytochemical Society of Europe* (pp.31-96). London: Academic Press Inc.

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.

Morton, J. F. (1987). *Chrysophyllum cainito* L. Sapotaceae. In J. F. Morton (Ed.), *Fruit of Warm Climates* (pp. 408-410). Miami, USA: Creative Resource Systems Inc.

Mudgil, D., & Barak, S. (2013). Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61, 1-6.

Muir, J. G., Shephero, S. J., Rosella, O., Rose, R., Barrett, J. S., & Gibson, P. R. (2007). Fructan and free fructose content of common Australian vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6619-6627.

Mussatto, S. I., & Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 68, 587-597.

Phuong, N. T., Lee, K. A., Jeong, S. J., Fu, C. X., Choi, J. K., Kim, Y. H., & Kang, J. S. (2006). Capillary electrophoretic method for the determination of diterpenoid isomers in *Acanthopanax* species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40, 56-61.

Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.

Pothitirat, W., Chomnawang, M. T., Supabphol, R., & Gritsanapan, W. (2009). Comparision of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. *Fitoterapia*, 80, 442-447.

Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasaiah, U., Gopas, J., & Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*, 436, 332-347.

Sadabpod, K., Kangsadalampai, K., & Tongyonk, L. (2010). Antioxidant activity and antimutagenicity of Hom Nil rice and black glutinous rice. *The Journal of Health Research*, 24(2), 49-54.

Saeidnia, S., & Abdollahi, M. (2013). Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and releated diseases. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 273, 442-455.

Sahu, N. P., Panda, N., Mandal, N. B., Banerjee, S., Koike, K., & Nikaido, T. (2002). Polyoxypregnane glycosides from the flowers of *Dregea volubilis*. *Phytochemistry*, 61, 383-388.

Seal, T. (2012). Evaluation of nutritional potential of wild edible plants, traditionally used by the tribal people of Meghalaya State in India. *American Journal of Plants Nutrition and Fertilization Technology*, 2(1), 19-26.

Seal, T. (2011). Antioxidant activity of Some wild edible fruits of Meghalaya State in India. *Advances in Biological Research*, 5(3), 155-160.

Shao, Y., Xu, F., Sun, X., Bao, J., & Beta, T. (2014). Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. *Food Chemistry*, 143, 90-96.

Shimizu, K., Ozeki, M., Iino, A., Nakajyo, S., Urakawa, N., & Atsuchi, M. (2001). Structure-Activity relationships of triterpenoid derivatives extracted from *Gymnema inodorum* leaves on glucose absorption. *Japanese Journal of Pharmacology*, 86, 223-229.

Simanek, V. (1985). The Alkaloids, Chemistry and Pharmacology. In A. Brossi (Ed.), *The Alkaloids: Chemistry and Biology* (pp.186-240). London: Academic Press Inc.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventor, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocateu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.

Sithisarn, P., & Jarikasem, S. (2009). Antioxidant activity of *Acanthopanax trifoliatus*. *Medical Principles and Practice*, 18, 393-398.

Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5, 1417-1435.

Slavin, J. L., & Lloyd, B. (2012). Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Advances in Nutition,* 3, 506-516.

Somanabandhu, A.O., Ruangrungsi, N., Lange, G.L., & Organ, M.G. (1992). Constituents of the stem bark of *Zanthoxylum limonella*. *Journal of The Science Society of Thailand*, 18, 181–185.

Sugimoto, H. (2008). The new approach in development of anti-Alzheimer's disease drugs via the cholinergic hypothesis. *Chemico-Biological Interactions*, 175, 204-208.

Sumczynski, D., Bubelová, Z., & Fišera, M. (2015). Determination of chemical, insoluble dietary fibre, neutral-detergent fibre and in vitro digestibility in rice types commercialized in Czech markets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 8-13.

Tangjitjaroenkun, J., Chantarasriwong, O., & Chavasiri, W. (2012a). Chemical constituents of the stems of *Zanthoxylum limonella* Alston. *Phytochemistry Letters*, 5, 443-445.

Tangjitjaroenkun, J., Supabphol, R., & Chavasiri, W. (2012b). Antioxidant effect of *Zanthoxylum limonella* Alston. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(8), 1407-1414.

van Loo, J., Coussement, P., de Leenheer, L., Hoebregs, H., & Smits, G. (1995). On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 525-552.

Vatanasuchart, N., Niyomwit, B., & Wongkrajang, K. (2012). Resistant starch content, in vitro starch digestibility and physico-chemical properties of flour and starch from Thai bananas. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 6(02), 259-271.

Wichienchot, S., Thammarutwasik, P., Jongjareonrak, A., Chansuwan, W., Hmadhlu, P., Hongpattarakere, T., Itharat, A., & Ooraikul, B. (2011). Extraction and analysis of prebiotics from selected plants from southern Thailang. *Songklanakarin Journal Science Technology*, 33(5), 517-523.

Wootton-Beard, P., & Ryan, L. (2011). Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research International*, 44, 3135-3148.

Yen, G. C., Duh, P.-D., & Su, H. J. (2005). Antioxidant properties of lotus seed and its effect on DNA damage in human lymphocytes. *Food Chemistry*, 89, 379-385.

Zadernowski, R., Czaplicki, S., & Naczk, M. (2009). Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chemistry*, 112(3), 685-689.

Zhang, Y., Zeng, H., Wang, Y., Zeng, S., & Zeng, B. (2014b). Structural characteristics and crystalline properties of lotus seed resistant starch and its prebiotic effects. *Food Chemistry*, 155, 311-318.

Zheng, L. J., Wu, Y. B., Wu, J. G., Tan, C. J., Yi, J., Chen, T. Q., & Wu, J. Z. (2012). Antioxidant activity of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) receptacles of eleven cultivars grown in China. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(10), 1902-1911.

ประวัตินักวิจัย

1. รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

2. หน่วยงานที่สังกัดและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถ. ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

โทรศัพท์: (02) 3298000 ต่อ 6264, 6225, 6226 โทรสาร: (02) 3298427

E-mail: knsuree@kmitl.ac.th

3. ประวัติการศึกษา

- สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วุฒิ วท.บ.(วิทยาศาสตร์การอาหาร)

- สำเร็จการศึกษาปริญญาโท จากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วุฒิ วท.ม.(วิทยาศาสตร์การอาหาร)

- สำเร็จการศึกษาปริญญาเอก จาก University of Georgia ประเทศสหรัฐอเมริกา

วุฒิ Ph.D. (Food Science)

4. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
จุลชีววิทยาทางอาหาร

ผลงานวิจัยตีพิมพ์

Nanasombat, S., Thonglong, J. and Jitlakha, J. 2015. Formulation and characterization of novel functional beverages with antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities. Functional Foods in Health and disease. 5 (1): 1-16.

Nanasombat, S., Bubpasawa, T., Tamaput, N. and Srimakhan, Y. 2014. Antimicrobial activity of Thai medicinal plants against beverage spoilage microorganisms and their potential in retarding Alzheimer's disease progression. Pharmacognosy Communications. 4 (3): 77-87.

Nanasombat, S., Tussanasirikul**,** J., Khiawdang**,** T. and Payuyong, T. 2013. Antioxidant Activity of Thai medicinal plant essential oils and their application in repeated frying palm oil In: the Proceeding of the 1st National Conference and the 5th RMUTI Surin Seminar "Research, Development, Technology and Organic Agriculture forward to ASEAN" (pp. 459-470), March 21-22, 2013, Ajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Surin, Thailand.

Nanasombat, S. , Potiraj, N., Sanma, P., Watthanon Hapermpool, W. and Sirisornchai, S. 2013. Detection of the contamination of *Vibrio parahaemolyticus* from raw seafood sold in some Bangkok freshfood market and thermal inactivation study. In: the Proceeding of the National Conference of Taksin University: Green Society: Food and Energy Security" (pp. 910-917), May 22-25, 2013, the 60th Anniversary of his Majesty the King's Accession to the Throne International Convention Center, Songklanakarin University, Hat Yai, Thailand.

Nanasombat, S., Armeen, W. and Arkom, O. 2013. Use of Thai local vegetable extracts as natural preservatives in dried sausage system. Pharmacognosy Communications. 3 (1): 37-45.

Nanasombat, S. and Charoenrak, N. 2012. Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from meat products and their applications as biopreservative. In: the Proceeding of the 38th congress on Science and Technology of Thailand (pp. 1-6), October 17-19, 2012, Empress Convention Centre, Chiang Mai, Thailand.

Nanasombat, S., Adisornkasem, N., Thammajit, P. and Cheangkrajang, S. 2012. Decreasing of postharvest fungal rotting in chilli by organic acid salts. Nakorn Phanom University Journal. Special issue: 272-279.

Nanasombat, S. and Wimuttikosol, P. 2012. Control of *Salmonella* Rissen and *Staphylococcus aureus* in fermented beef sausage by a combination of cinnamon and mace oils. Kasetsart Journal (Natural Science) 46: 620-628.

Nanasombat, S., Phunpruch , S. and Jaichalad, T. 2012. Screening and identification of lactic acid bacteria from raw seafoods and Thai fermented seafood products for their potential use as starter cultures. Songklanarin Journal of Science and Technology. 34(3): 255-262.

Nanasombat, S., Khanha, K., Phan-im, J., Jitaied, J., Wannasomboon, S., Patradisakorn, S. and Wongsil, A. 2012. Antimicrobial and antioxidant activities of Thai local fruit extracts: application of a selected fruit extract, *Phyllanthus emblica* Linn. as a natural preservative in raw ground pork during refrigerated storage. The Online Journal of Science and Technology. 2(1): 1-7.

Nanasombat, S and Charoenrak, N. 2012. Characterization of lactic acid bacteria and coagulase negative staphylococci isolated from raw meat and cured meat products. Asean Journal of Food and Agro-industry. 5(6): 531-539.

Nanasombat, S., Rattanawaraha, J., Vichakij, N., Wuttuna-ieppun, W. 2011. Microbiological quality of Thai chilli paste products and control of *Staphylococcus* by cinnamon oil in combination with potassium sorbate. In: The proceeding of The 2nd International Food Safety and Zoonoses Symposium for Asia Pacific. July 21-22, 2011, Holiday Inn Chiang Mai Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Nanasombat, S. and Wimuttikosol, P. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of spice essential oils. Food Science and Biotechnology. 20(1): 45-53.

Nanasombat, S., Pannakan, K., Wanwong, N. and Nuntarat Mankong, N. 2010. Screening and identification of lactic acid bacteria isolated from freshwater fish. In: Proceeding of the International Conference on Biotechnology for Healthy Living, October 20-22, 2010. Songklanakarin University, Trang Campus, Thailand.

Nanasombat, S., Piumnoppakun, N., Atikanbodee, D. and Rattanasuwan, M. 2010. Combined effect of cinnamon essential oil and water activity on growth inhibition of *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus flavus* and possible application on extending shelf-life of bread. In: Proceeding of the Tenth International Symposium on the Properties of Water (ISOPOW10). Septemper 2-7, 2007. Wiley-Blackwell Publishing.

Nanasombat, S. and Teckchuen, N. 2009. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of Thai local vegetables. Journal of Medicinal Plants Research. 3(5): 443-449.

Nanasombat, S. and Chooprang, K. 2009. Control of pathogenic bacteria in raw pork using organic acid salts in combination with freezing and thawing. Kasetsart Journal Natural Science 43 (3): 576-583.

Nanasombat, S., Phunpruch, S., Sriwong, N., Jaichalad, T., Onnom, W. and Odthon, S. 2008. Characterization of the antibacterial activity and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from raw fish and Nham-Plaa. Kasetsart Journal Natural Science 42(4): 747-757.

Nanasombat, S. and Sriwong, N. 2007. Improving viability of freeze-dried lactic acid bacteria using lyoprotectants in combination with osmotic and cold adaptation. KMITL Science and Technology Journal 7(S1): 61-69.

Nanasombat, S., Kaewkan, K., Chanapart, P. and Ketchan, S. 2006. Antimicrobial and antioxidant properties of Thai herbal tea extracts. KMITL Science Journal 6 (2b): 642-651.

Nanasombat, S., Yeesibsan, J. and Chouykert, C. 2006. Effect of spice essential oils in combination with sodium lactate and freezing on growth inhibition of *Salmonella* Rissen during fermentation of nham, a Thai fermented pork. GPO Journal 32(2): 4-15.

Nanasombat, S., Pornchaloempong, P., Yangjaroenyuenyong, P., Sribunsong, S. and Sae-ngow, S. 2006. Survival of acid-adapted and microencapsulated probiotic bacteria in salad dressing during refrigerated storage. In: Proceedings of the fourty-fourth Conference of Kasetsart University, pp. 332-339. January 31

2006- February 3, 2006.

Nanasombat, S., and Lohasupthawee, P. 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against salmonellae and other enterobacteria. KMITL Science Journal 5(3): 527-538.

Nanasombat, S. and Chooprang, K. 2004. Effect of acid adaptation on survival of *Salmonella* spp. during nham fermentation. Journal of Science Ladkrabang. 13(2): 65-77.

Nanasombat, S. and Frank, J. F. 2004. Survival of *Salmonella* Typhimurium DT104 in dried foods. In: Proceedings of the Tenth International Congress on Culture Collection, Tsukuba, Japan, October 10-15, 2004.

Nanasombat, S. and Frank, J. F. 2003. Heat and osmotic adaptation induced cross-protection of *Salmonella* Typhimurium DT104 against osmotic challenge in dried milk, pp. 86-97. In: Y. Oian (ed.), Biological Control and Bio-technology, Heilongjiang Science and Technology Press, Harbin, China.

Nanasombat, S. 2003. Effect of spices on controlling *Salmonella* in the presence of starter culture during meat fermentation. Research Report. Department of Applied Biology, Faculty of Science, KMITL, Bangkok, Thailand.

Nanasombat, S., Chodchoey, K. and Kunnajuk, C. 2003. Effect of nutrient supplementation on viability of probiotic bacteria in yogurt during refrigerated storage. Journal of Science Ladkrabang. 12(2): 46-54.

Nanasombat, S., Siripanpanich, S. and Intrasena, O. 2003. Effect of holy basil extract on growth of lactic acid bacteria in liquid medium and controlling of *Salmonella* Agona during nham fermentation. Journal of Science Ladkrabang. 12(2): 55-66.

Nanasombat, S., Prasertsin, V., Graisin, K., Hla Shain and Thanaboripat, D. 2002. Efficacy of new enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of *Salmonella* in foods. Government Pharmaceutical Organization Report, Bangkok, Thailand.

Nanasombat, S. 1996. Comparison of Rambach agar, MSRV medium and other differential media for detection of *Salmonella* in high a_w foods and low a_w foods. Research Report. Department of Applied Biology, Faculty of Science, KMITL, Bangkok, Thailand.

Nanasombat, S. 1995. Effect of nisin on inhibition of *Salmonella* Enteritidis in egg powders. Srinakharinwirot University Science Journal 11(2): 11-19.