# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ศักยภาพของฝรั่ง มะละกอ ส้มโอ และสัปปะรดในการยับยั้งการย่อยไขมัน

**Potential of guava, papaya, pomelo, and pineapple on lipid digestion**

โดย ผศ.ดร.นันทีทิพ ลิ้มเพียรชอบ และคณะ

สิงหาคม พ.ศ. 2555

สัญญาเลขที่ RDG5420070

# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ศักยภาพของฝรั่ง มะละกอ ส้มโอ และสัปปะรดในการยับยั้งการย่อยไขมัน

**Potential of guava, papaya, pomelo, and pineapple on lipid digestion**


**คณะผู้วิจัย**

1. ผศ.ดร.นันทีทิพ ลิ้มเพียรชอบ ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ
2. ผศ.ดร.อนันต์ อุ่นอรุณ ภาควิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท

**คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร**



**สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)**

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

**หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary)**
**ภายใต้โครงการ Thai Fruits-Functional Fruits**
**สำนักงานประสานงานวิจัยและพัฒนา "สมุนไพรเพื่อคุณภาพชีวิต"**

---

**1. ชื่อโครงการ** ศักยภาพของฝรั่ง มะละกอ ส้มโอ และสัปปะรด ในการยับยั้งการย่อยไขมัน
Potential of guava, papaya, pomelo, and pineapple on lipid digestion

**2. ชื่อหัวหน้าโครงการ ผู้ร่วมโครงการ หน่วยงานที่สังกัด ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ email**


ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางสาวนันทีทิพ ลิ้มเพียรชอบ
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Nanteetip Limpeanchob
คุณวุฒิ Ph.D. (Pharmacology and Toxicology)
ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
หน่วยงาน ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยนเรศวร อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000
โทรศัพท์/โทรสาร 055-961-822/ 055-963-731 Email: nanteetipl@nu.ac.th

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นายอนันต์ อุ่นอรุณ
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Anan Ounaroon
คุณวุฒิ Ph.D.
ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
หน่วยงาน ภาควิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยนเรศวร อ. เมือง จ. พิษณุโลก 65000
โทรศัพท์/โทรสาร 055-961-870/ 055-963-731 Email: ananounaroon@yahoo.com


**3. สาขาที่ทำการวิจัย** เภสัชวิทยา

**5. ระยะเวลาดำเนินการ** 1 ปี

**6. ได้เสนอโครงการนี้ หรือโครงการที่มีส่วนเหมือนกับเรื่องนี้บางส่วนเพื่อขอทุนต่อแหล่งอื่นที่ใดบ้าง**

☑ ไม่ได้เสนอต่อแหล่งทุนอื่น

**7. ปัญหาที่ทำการวิจัย และคามสำคัญของปัญหา**

ในปัจจุบัน ความเสี่ยงของการเกิดโรคหลายอย่างเป็นผลมาจากพฤติกรรมการรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสม อาทิ เช่น โรคอ้วนและภาวะไขมันในเลือดสูง ซึ่งการที่จะปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของมนุษย์นั้นเป็นไปได้ยาก จึงมีการศึกษาจำนวนมากที่พยายามค้นหาวิธีที่จะลดความเสี่ยงของการเกิดโรคดังกล่าวด้วยวิธีการที่สามารถทำได้สะดวก เช่น การรับประทานผลิตภัณฑ์อาหารเสริม อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมมักมีราคาสูง ประชาชนทั่วไปไม่สามารถเข้าถึงได้ ทางเลือกที่เป็นไปได้ คือ เลือกรับประทานอาหารประเภทที่ส่งเสริมสุขภาพและมีศักยภาพในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคดังกล่าว ในประเทศไทย มีพืชผักและผลไม้ที่หลากหลาย ซึ่งเป็นที่ทราบดีว่าการบริโภคอาหารกลุ่มนี้มีประโยชน์ในการให้พลังงานและสารอาหารต่อร่างกาย แต่ข้อมูลที่จะแสดงว่าพืชผักและผลไม้ชนิดใดมีประโยชน์ในด้านการป้องกันหรือลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคยังมีไม่มากนัก เพื่อเป็นการส่งเสริมให้มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่แสดงถึงศักยภาพดังกล่าวของผลไม้ไทย ผู้วิจัยนี้จึงสนใจที่จะทดสอบฤทธิ์ของผลไม้ไทยต่อการรบกวนการย่อยอาหารประเภทไขมัน โดยเลือกทดสอบผลไม้ที่นิยมและเหมาะสมในการบริโภคหลังอาหาร ซึ่งได้แก่ ฝรั่ง มะละกอ ส้มโอและสัปปะรด ผลการวิจัยนี้จะช่วยส่งเสริมให้ประชาชนมีความสนใจในการบริโภคผลไม้ร่วมกับมื้ออาหารมากขึ้น โดยเป็นการบริโภคเพื่อจุดประสงค์ที่นอกเหนือจากความต้องการสารอาหารที่จำเป็น แต่เพื่อลดโอกาสต่อการได้รับไขมันจากอาหารและในที่สุดเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอ้วนและภาวะไขมันในเลือดสูง

**8. วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดผลไม้ต่อการทำงานของ pancreatic lipase activity
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดผลไม้ต่อ micellar cholesterol solubility

**9. ระเบียบวิธีวิจัย**

**1. การคัดเลือกผลไม้** ผลไม้ที่เลือกใช้ในการงานวิจัยนี้ เป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมและมีความเหมาะสมในการรับประทานหลังอาหารทันที และสามารถหาได้ตลอดฤดูกาล ซึ่งมี 4 ชนิด ได้แก่ ฝรั่ง (แป้นสีทอง) สัปปะรด (ภูเก็ต) มะละกอ (ฮอลแลนด์) ส้มโอ (ขาวแตงกวา) ผลไม้แต่ละชนิด จะจัดซื้อมาจาก 3 แหล่งหรือในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

**2. การเตรียมน้ำผลไม้** นำเนื้อผลไม้มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และปั่นให้ละเอียด แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น วัดปริมาตรและชั่งน้ำหนักของสารสกัดน้ำที่ได้ แล้วแบ่งส่วนหนึ่งไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze-dryer สารสกัดน้ำผลไม้สดส่วนหนึ่ง จะนำไปทดสอบฤทธิ์ทันที ส่วนสารสกัดที่เตรียมเป็นผงแห้งแล้ว จะทำการชั่งน้ำหนักผงแห้งที่ได้ แล้วคำนวณค่า % yield ก่อนจะเก็บไว้ที่ -20 °C เพื่อนำไปทดสอบ

ฤทธิ์ต่อไป ดังนั้น 12 ตัวอย่างผลไม้ จะได้ 24 ตัวอย่างสารสกัด (12 ตัวอย่างน้ำผลไม้สดและ 12 ตัวอย่างผงแห้ง)

**3. การวิเคราะห์ด้วย HPLC** ทุกตัวอย่างจะนำไปจัดทำ HPLC finger print และวัดปริมาณ flavonoid เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพตัวอย่างและการสกัด โดยส่วนของน้ำผลไม้สดจะทำการจัดทำ HPLC finger print และวัดปริมาณ flavonoid ทันทีหลังเตรียมได้

**4. การทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase** เตรียมน้ำผลไม้ใน buffer (0.8 M Tris-HCl, 150 mM NaCl, และ 1.3 mM $CaCl_2$ pH 8.0) แล้วเติม 50 U/ml pancreatic lipase และ substrate (1,2 di-O-lauryl-rac-glycero-3 glutaric acid 6'-methylresorufin ester) ลง เป็นสารสุดท้าย จากนั้นนำไปบ่มไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 60 นาที แล้วจึงนำไปวัดการเรืองแสงที่ Ex 535 nm และ Em 595 nm ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้ สาร Orlistat เป็น positive control

**5. การทดสอบผลของสารสกัดผลไม้ต่อการละลายของคอเลสเตอรอล** คอเลสเตอรอลไมเซลล์ประกอบด้วย 2 mM cholesterol, 10 mM sodium taurocholate, 5mM oleic acid และ 0.6 mM phosphatidylcholine จากนั้นจะผสมกับน้ำผลไม้ แล้วบ่มไว้ที่ 37$^{\circ}$C นาน 4 ชั่วโมง คอเลสเตอรอลไมเซลล์ถูกกรองผ่าน 0.22 µm membrane เพื่อแยกคอเลสเตอรอลที่ไม่ละลายอยู่ใน lipid micelles ซึ่งจะเกาะติดรวมกัน (precipitated cholesterol) และไม่สามารถผ่าน membrane ได้ จึงสามารถแยกออกจาก intermicellar cholesterol หรือคอเลสเตอรอลที่ละลายอยู่ใน lipid micelles จากนั้นวัดความเข้มข้นของ intermicellar cholesterol ด้วย cholesterol assay kit

## สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองพบว่าน้ำผลไม้ทุกชนิดสามารถยับยั้ง pancreatic lipase ได้โดยฤทธิ์นี้นั้นขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผลไม้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ฝรั่งและมะละกอแสดงผลการยับยั้ง pancreatic lipase ได้ดีที่สุด ในทำนองเดียวกันน้ำผลไม้ทุกชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลใน micelles โดยขึ้นกับความเข้มข้น และน้ำฝรั่งแสดงฤทธิ์นี้ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบน้ำผลไม้คั้นสดกับสารสกัดผงแห้ง สารตัวอย่างทั้งสองแบบแสดงฤทธิ์ที่แตกต่างกันบ้าง โดยเฉพาะมะละกอ แต่ไม่สามารถสรุปเป็นรูปแบบของความแตกต่างที่ชัดเจนได้ นอกจากนี้ แหล่งของผลไม้ยังมีผลต่อการแสดงฤทธิ์ที่แตกต่างกันได้ ผลการทดลองทั้งหมดที่ได้จากการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่า น้ำผลไม้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase และการละลายของคอเลสเตอรอลใน micelles ซึ่งสื่อไปถึงความสามารถในการยับยั้งการย่อยอาหารไขมัน และอาจมีประโยชน์การการควบคุมน้ำหนักตัวได้ จึงควรส่งเสริมและสนับสนุนให้มีการรับประทานผลไม้หลังอาหารเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะฝรั่ง ซึ่งแสดงศักยภาพในการรบกวนการย่อยอาหารไขมันได้ดีที่สุด

## บทคัดย่อ

โรคอ้วนเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆมากขึ้น เช่น ความดันโลหิตสูง เบาหวาน ไขมันในเลือดสูง และนำไปสู่การเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยการบริโภคอาหารไขมันสูงเป็นตัวเหนี่ยวนำที่สำคัญตัวหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคอ้วนในปัจจุบัน ในการดูดซึมไขมันจากทางลำไส้เล็กนั้น จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์ pancreatic lipase ในการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ให้อยู่ในรูป fatty acids และ ß-monoglycerides จากนั้นจะรวมตัวกับน้ำดีกลายเป็นไมเซลล์ เรียกกระบวนการนี้ว่า micellization และถูกดูดซึมผ่านผนังลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือดต่อไป สำหรับผู้ที่ไม่จำเป็นต้องได้รับการรักษาด้วยยา การปรับพฤติกรรมการรับประทานอาหารเป็นทางเลือกแรกที่แนะนำ แต่ทั้งนี้การปรับพฤติกรรมในเรื่องของการรับประทานอาหารนั้นทำได้ยากสำหรับคนทั่วไป ดังนั้น การค้นหาวิธีการที่มีผลต่อการดูดซึมอาหารจึงได้รับความสนใจเป็นพิเศษ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาศักยภาพของน้ำผลไม้ในการลดการย่อยอาหารไขมัน โดยทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase และการละลายของคอเลสเตอรอลใน micelles โดยเลือกทดสอบผลไม้ 4 ชนิด ได้แก่ ฝรั่ง (แป้นสีทอง) สัปปะรด (ภูเก็ต) ส้มโอ (ขาวแตงกวา) และมะละกอ (ฮอลแลนด์) ซึ่งเป็นผลไม้ที่นิยมรับประทานหลังมื้อ โดยจะเปรียบเทียบระหว่างน้ำผลไม้คั้นสดกับสารสกัดผงแห้ง และศึกษาผลไม้ที่มาจาก 3 แหล่ง ผลการทดลองพบว่าน้ำผลไม้ทุกชนิดสามารถยับยั้ง pancreatic lipase ได้โดยฤทธิ์นี้นั้นขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผลไม้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ฝรั่งและมะละกอแสดงผลการยับยั้ง pancreatic lipase ได้ดีที่สุด ในทำนองเดียวกันน้ำผลไม้ทุกชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลใน micelles โดยขึ้นกับความเข้มข้น และน้ำฝรั่งแสดงฤทธิ์นี้ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบน้ำผลไม้คั้นสดกับสารสกัดผงแห้ง สารตัวอย่างทั้งสองแบบแสดงฤทธิ์ที่แตกต่างกันบ้างโดยเฉพาะมะละกอ นอกจากนี้ แหล่งของผลไม้ยังมีผลต่อการแสดงฤทธิ์ที่แตกต่างกันได้ ผลการทดลองทั้งหมดที่ได้จากการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่า น้ำผลไม้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase และการละลายของคอเลสเตอรอลใน micelles ซึ่งสื่อไปถึงความสามารถในการยับยั้งการย่อยอาหารไขมัน และอาจมีประโยชน์การการควบคุมน้ำหนักตัวได้

## Abstract

Obesity causes several abnormal metabolic syndromes such as hypertension, diabetes, hyperlipidemia which develop to be cardiovascular disease. High fat consumption has been identified as one of the critical factors leading to obesity. Lipid digestion and absorption processes through small intestine depend on pancreatic lipase hydrolysing triacylglycerols to $\beta$-monoacylglyceride and fatty acids which then are combined with biles to form lipid micelles before getting absorbed. For people who drug therapy is not yet necessary, lipid levels could be controlled by consuming low fat diet. However, restriction of diet is difficult for most people. Therefore, an alternative dietary intervention is received special attention. This study aimed to investigate the potential of fruit juices to reduce lipid digestion through testing their inhibitory activities against pancreatic lipase and micellar cholesterol solubility. Four types of fruits; guava (Pan-see-thong), pineapple (Phuket), pomelo (Khao-tang-kwa) and papaya (Holland), widely consumed after meal in Thailand was selected for the study. Both effects were determined with freshly prepared juices in comparison with frozen juices. In addition, three different sources of each fruit were studied. The result showed that all four types of fruit juices dose-dependently inhibited pancreatic lipase activity. Guava and papaya showed the highest inhibitory activity among all tested fruits. All four fruit juices also reduced the solubility of cholesterol in lipid micelles in a dose-dependent pattern. Guava juice again most effectively reduced micellar cholesterol solubility. Freshly prepared and frozen juices showed some differences by these two measurements. In addition, sources of fruit show differences in these activities. The results from this study suggest that fruit juices can inhibit pancreatic lipase activity and micellar cholesterol solubility, implying that ingesting of these fruits may potentially inhibit intestinal lipid digestion and consequently being helpful for weight control.

# สารบัญ

| | หน้า |
|---|---|
| หน้าสรุปโครงการ (Executive Summary) | i |
| บทคัดย่อ | 1 |
| Abstract | 2 |
| สารบัญ | 3 |
| สารบัญรูปภาพ | 4 |
| สารบัญตาราง | 7 |
| บทนำ (Introduction) | 8 |
| วัตถุประสงค์ (Objectives) | 10 |
| วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods) | |
| สารเคมีและวัสดุครุภัณฑ์ที่ใช้ในการวิจัย | 11 |
| วิธีดำเนินการวิจัย | 13 |
| ผลการวิจัย (Results) | 17 |
| วิจารณ์ผลการทดลอง (Discussions) | 45 |
| สรุปผลการทดลอง (Conclusions) | 47 |
| เอกสารอ้างอิง (References) | 48 |
| การนำเสนอผลงานวิจัย | 50 |
| ภาคผนวก (Index) | 52 |

## สารบัญรูปภาพ


| | | หน้า |
|---|---|---|
| **รูปที่ 1** | แผนผังการออกแบบการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้ | 13 |
| **รูปที่ 2** | ลักษณะภายนอกของผลไม้ 4 ชนิด | 17 |
| **รูปที่ 3** | ลักษณะของผลไม้ 4 ชนิด ก่อนนำไปคั้นแยกน้ำ | 18 |
| **รูปที่ 4** | ตัวอย่างสารสกัด (A) ฝรั่ง, (B) มะละกอ, (C) สับปะรด และ (D) ส้มโอ | 19 |
| **รูปที่ 5** | HPLC Chromatogram ของสารสกัดผลฝรั่งสด ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร (A) และ 446 นาโนเมตร (B) | 20 |
| **รูปที่ 6** | HPLC Chromatogram ของสารสกัดผลมะละกอ ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร (A) และ 446 นาโนเมตร (B) | 21 |
| **รูปที่ 7** | HPLC Chromatogram ของสารสกัดผลสับปะรด ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร (A) และ 446 นาโนเมตร (B) | 22 |
| **รูปที่ 8** | HPLC Chromatogram ของสารสกัดผลส้มโอ ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร (A) และ 446 นาโนเมตร (B) | 23 |
| **รูปที่ 9** | HPLC chromatogram ของสารมาตรฐาน kaempferol (A), quercetin (B) และ lutein (C) แสดงค่า retention time ที่ 9.085, 5.461 และ 21.447 นาที ตามลำดับ | 24 |
| **รูปที่ 10** | Standard curve ของ kaempferol (A), quercetin (B) และ lutein (C) | 25 |
| **รูปที่ 11** | Standard curve ของ quercetin ในการวัดปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ (total flavonoid content) ด้วยวิธี aluminum chloride colorimetric | 27 |
| **รูปที่ 12** | Standard curve ของ gallic acid ในการวัดปริมาณสารฟีนอลิก (total phenolic content) | 28 |
| **รูปที่ 13** | ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของ orlistat | 30 |
| **รูปที่ 14** | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 6) และทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 32 |

## สารบัญรูปภาพ (ต่อ)


| | | หน้า |
|---|---|---|
| **รูปที่ 15** | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้คั้นสดจาก 3 แหล่ง (แหล่งที่ 4, 5 และ 6) ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่มีความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate | 33 |
| **รูปที่ 16** | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 3 แหล่ง ซึ่งแต่ละแหล่งทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) โดย น้ำผลไม้คั้นสดมาจากแหล่งที่ 4, 5 และ 6 (A) และผงแห้งของน้ำผลไม้คั้นสดมาจากแหล่งที่ 1, 2 และ 4 (B) | 34 |
| **รูปที่ 17** | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้ผงแห้ง เติมน้ำในน้ำผลไม้ผงแห้งให้เท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำผลไม้คั้นสด จากนั้นทดสอบที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 4) และทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 35 |
| **รูปที่ 18** | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้ผงแห้งจาก 3 แหล่ง (แหล่งที่ 1, 2 และ 4) เติมน้ำในน้ำผลไม้ผงแห้งให้เท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำผลไม้คั้นสด จากนั้นทดสอบที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 36 |
| **รูปที่ 19** | เปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำผลไม้ในรูปคั้นสดและผงแห้งในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 4) และทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 37 |
| **รูปที่ 20** | การยับยั้งการละลายของโคเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้คั้นสด ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 2) ซึ่งทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 39 |
| **รูปที่ 21** | การยับยั้งการละลายของโคเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้คั้นสดจาก 3 แหล่ง (แหล่งที่ 1, 2 และ 4) ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 40 |
| **รูปที่ 22** | การยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสด (A) และผงแห้งของน้ำผลไม้คั้นสด (B) ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 3 แหล่ง (แหล่งที่ 1, 2 และ 3) ซึ่งแต่ละแหล่งทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 41 |

## สารบัญรูปภาพ (ต่อ)


| | | หน้า |
|---|---|---|
| **รูปที่ 23** | การยับยั้งการละลายของโคเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้ผงแห้ง เติมน้ำในน้ำผลไม้ผงแห้งให้เท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำผลไม้คั้นสด จากนั้นทดสอบที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 3) ซึ่งทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 42 |
| **รูปที่ 24** | การยับยั้งการละลายของโคเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้ผงแห้งจาก 3 แหล่ง (แหล่งที่ 1, 2 และ 3) เติมน้ำในน้ำผลไม้ผงแห้งให้เท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำผลไม้คั้นสด จากนั้นทดสอบที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 43 |
| **รูปที่ 25** | เปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำผลไม้ในรูปคั้นสดและผงแห้งในการยับยั้งการละลายของโคเลสเตอรอลในไมเซลล์ ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% ของผลไม้ที่มาจากแหล่งเดียวกัน (แหล่งที่ 3) โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) | 44 |

## สารบัญตาราง


| | | หน้า |
|---|---|---|
| **ตารางที่ 1** | ปริมาตรของน้ำผลไม้สดและน้ำหนักผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด | 18 |
| **ตารางที่ 2** | % yield ของสารสกัดผลไม้ที่ได้จากการสกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate | 19 |
| **ตารางที่ 3** | ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดผลไม้ ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate | 26 |
| **ตารางที่ 4** | ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (total flavonoid content) ในน้ำผลไม้สดและผงแห้งของน้ำผลไม้ | 28 |
| **ตารางที่ 5** | ปริมาณสารฟีนอลิก (total phenolic content) ในน้ำผลไม้สดเปรียบเทียบกับผงแห้งของน้ำผลไม้ | 29 |
| **ตารางที่ 6** | ปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic content) ของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด จาก 3 แหล่ง | 29 |

## บทนำ (Introduction)

เป็นที่ทราบกันดีว่าพฤติกรรมการรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสม ทำให้เกิดโรคได้หลายชนิด โดยเฉพาะโรคอ้วน และไขมันในเลือดสูงที่อาจส่งผลให้เกิดโรคทางหลอดเลือดและหัวใจ (cardiovascular diseases) ได้ในที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของมนุษย์ โดยเฉพาะพฤติกรรมการรับประทานอาหาร ทำได้ยาก และมักทำได้เพียงช่วงระยะเวลาสั้นๆ ในปัจจุบัน จึงมีการศึกษาวิจัยเพิ่มมากขึ้น เพื่อค้นหาวิธีการที่จะสามารถลดความเสี่ยงของการเกิดโรคที่มาจากการรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสม โดยไม่ต้องปรับเปลี่ยนพฤติกรรมหรือลักษณะของอาหารที่ชอบ เช่น การรับประทานอาหารเสริม (dietary supplement) มีอาหารเสริมหลายชนิดที่มีรายงานว่ามีผลควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ เช่น เส้นใย (fiber), สารกลุ่ม sterol และ stanol จากพืช รวมทั้งโปรตีนจากถั่วเหลือง (Nijjar et al., 2010) แม้จะเป็นที่ทราบกันดีว่า การรับประทานผลไม้มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยให้พลังงานและสารอาหารที่จำเป็น โดยเฉพาะวิตามินและสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หลายหลายชนิด แต่การศึกษาวิจัยถึงฤทธิ์หรือศักยภาพของผลไม้ในการส่งเสริมสุขภาพอื่นๆ โดยเฉพาะฤทธิ์ในการควบคุมระดับของไขมันยังมีไม่มากนัก มีการศึกษาพบว่า การรับประทานแอปเปิ้ล แพร์ และส้ม จะช่วยลดระดับของคอเลสเตอรอลในเลือดของผู้ที่สูบบุหรี่ได้ แต่ผลนี้ไม่พบในผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่ (Alvarez-Parrilla et al., 2010) น้ำจากผลของพืชตระกูลส้ม *Citrus bergamia* Risso พบว่าสามารถลดระดับของคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอร์ไรด์ได้ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง (Miceli et al., 2007) มีการทดสอบในหนูทดลองที่มีระดับไขมันปกติ พบว่าการให้หนูกินน้ำสัปปะรด และ grapefruit มีผลลดระดับไตรกลีเซอร์ไรด์และ chylomicron ได้ (Daher et al., 2005) เนื่องจากประเทศไทยมีผลไม้หลากหลายชนิด และเชื่อว่าผลไม้เหล่านี้มีประโยชน์มากกว่าการบริโภคเพื่อคุณค่าทางอาหารเท่านั้น โดยน่าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆที่ส่งเสริมต่อสุขภาพ และเนื่องจากคนไทยนิยมบริโภคผลไม้หลังมื้ออาหาร ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาว่าผลไม้ชนิดใดที่จะมีผลรบกวนการย่อยและดูดซึมของไขมันจากอาหารได้ ซึ่งจะเป็นการกระตุ้นให้ผู้ที่พฤติกรรมชอบรับประทานอาหารไขมันสูงหรืออาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง ได้หันมารับประทานผลไม้ร่วมด้วย

ในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยเลือกที่จะศึกษาฤทธิ์ของผลไม้ที่สามารถหาซื้อได้ตลอดปี และเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมและเหมาะสมกับการรับประทานหลังอาหาร ซึ่งได้แก่ ฝรั่ง มะละกอ ส้มโอ และสัปปะรด โดยโครงการวิจัยนี้จะทดสอบฤทธิ์ผลไม้ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ย่อยไขมันในทางเดินอาหาร ซึ่งได้แก่ pancreatic lipase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทมากที่สุด (50-70%) ในกระบวนการย่อยไขมันไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ให้อยู่ในรูป fatty acid และ monoglycerides ก่อนจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด รองลงมาคือ gastric lipase (10-30%) (Birari *et al.*, 2007) แม้ว่า pancreatic lipase มีบทบาทต่อการย่อยไตรกลีเซอไรด์ แต่ก็มีรายงานพบว่าเอนไซม์นี้มีผลต่อการดูดซึมคอเลสเตอรอลเช่นกัน และโดยมีผลต่อการขนส่งคอเลสเตอรอลจาก lipid emulsion เข้าสู่เซลล์ลำไส้เล็ก (Young *et al.*, 1999) ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase จะส่งผลลดการดูดซึมไขมันทั้งไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลเข้าสู่กระแสเลือดที่เป็นต้นเหตุหนึ่งของภาวะไขมันในเลือดสูงได้ มีการศึกษาสารสกัดจากพืชและผลไม้ต่างประเทศหลายชนิดพบว่า สารสกัดจากผลไม้บางชนิด เช่น bearberry (*Arctostaphylos*

*uva-ursi*), Norway pruce (*Picea abies*) และ large-leaved lime (*Tilia platyphyllos*) มีฤทธิ์ยับยั้ง pancreatic lipase ได้ดี (Slanc et al., 2009) มีสารหลายกลุ่มที่พบในพืชและคาดว่ามีบทบาทในการยับยั้ง pancreatic lipase เช่น saponins, polyphenols และ terpenes (Birari *et al.*, 2007) ในปัจจุบัน ยังไม่มีรายงานการศึกษาผลไม้ไทยทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวในการยับยั้ง pancreatic lipase

นอกเหนือจากการฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของ pancreatic lipase ซึ่งอาจส่งผลลดการดูดซึมไขมันจากอาหาร การรบกวนการละลายของคอเลสเตอรอลใน lipid micelles ก็ส่งผลลดการดูดซึมไขมันจากอาหารได้เช่นกัน มีการศึกษาพบว่าโปรตีนจากพืชบางชนิด เช่น ถั่วเหลือง เมล็ดดอกทานตะวัน และ buckwheat มีผลลด micellar cholesterol solubility และทำให้การดูดซึมคอเลสเตอรอลในเซลล์เพาะเลี้ยงและระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของสัตว์ทดลองลดลง (Megías *et al.*, 2009; Metzger *et al.*, 2007; Nagaoka *et al.*, 1999) ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการศึกษาฤทธิ์ของผลไม้ไทยทั้ง 4 ชนิดนี้ ต่อการเปลี่ยนแปลงของ micellar cholesterol solubility ดังนั้น ในการทดลองนี้จะทำการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้ต่อ micellar cholesterol solubility

จากที่กล่าวข้างต้น โครงการวิจัยนี้จะทำการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้ 4 ชนิด ได้แก่ ฝรั่ง มะละกอ ส้มโอ และสัปปะรด โดยจะทำการศึกษาผลของผลไม้ดังกล่าวที่อาจมีผลรบกวนกระบวนการย่อยและดูดซึมไขมันจากทางเดินอาหาร โดยในที่นี้จะใช้เนื้อผลไม้ในรูปที่ปั่นละเอียด โดยจะแยกกากที่หยาบมากออกเท่านั้น เพื่อเป็นการเลียนแบบการรับประทานผลไม้จริง เนื่องจากการศึกษาวิจัยส่วนใหญ่ จะเตรียมสารสกัดพืชหรือผลไม้ ในรูปผงแห้ง (lyophylized powder) หรือแช่แข็ง ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ต่างๆ ซึ่งฤทธิ์ที่ได้อาจต่างจากสารสกัดที่เตรียมเสร็จใหม่ๆ (freshly prepared) เพื่อการแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ของผลไม้สด โดยเลียนแบบการรับประทานผลไม้จริง ผู้วิจัยจะทำการทดสอบฤทธิ์หลังจากการปั่นละเอียดผลไม้ทันที (fresh fruit juice) และจะทำการเปรียบเทียบกับฤทธิ์ของสารสกัดในรูปผงแห้งด้วย

ผลการวิจัยนี้ เป็นการศึกษาเพื่อค้นหาหลักฐานในการสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ด้านศักยภาพเพื่อสร้างความแตกต่างและจุดเด่นให้กับผลไม้ไทย โดยมุ่งเน้นที่การมีศักยภาพที่มากกว่าการให้สารอาหารและพลังงาน แต่ช่วยส่งเสริมสุขภาพในเชิงของการป้องกันโรคต่างๆ โดยในที่นี้ ฤทธิ์รบกวนการย่อยไขมันจะมีผลลดการดูดซึมไขมันจากทางดินอาหารได้ โดยเป็นการลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูงหรือโรคอ้วนได้ ผลการทดลองจึงเป็นการส่งเสริมให้มีการบริโภคผลไม้ก่อนหรือหลังอาหารเป็นประจำ เพื่อให้ประชาชนมีสุขภาพที่ดีขึ้น จึงเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพของประชาชนได้ในอนาคต

## วัตถุประสงค์ (Objectives)

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดผลไม้ต่อการทำงานของ pancreatic lipase activity
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดผลไม้ต่อ micellar cholesterol solubility

## วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods)

### 1. สารเคมีและวัสดุครุภัณฑ์ที่ใช้ในการวิจัย

#### 1.1 สารเคมี

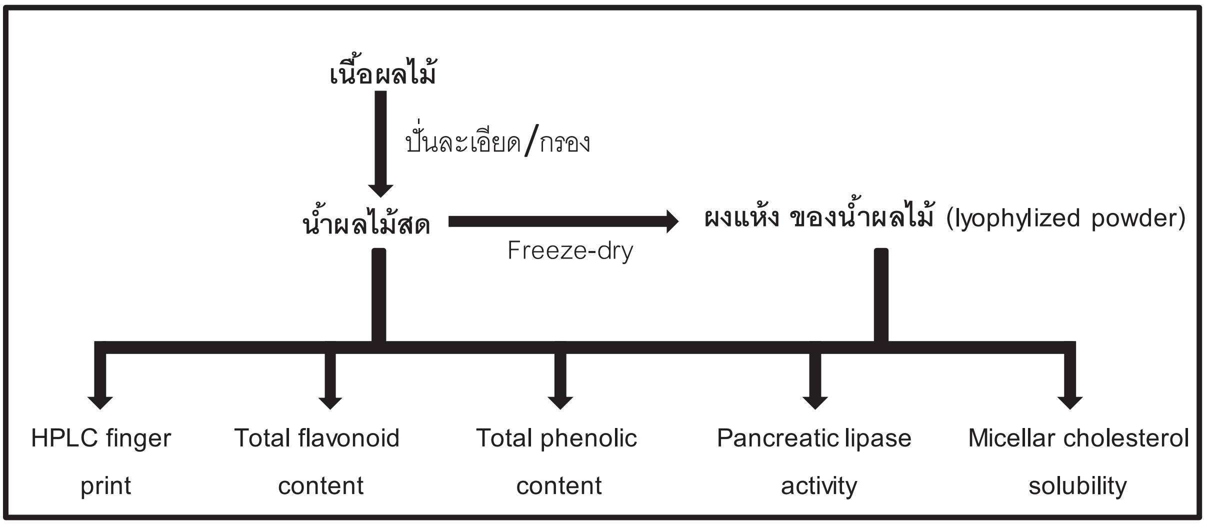
- Acetonitrile (HPLC grade, Batch No.12 02 0020 Labscan Asia Co.,Ltd, Bangkok, Thailand)
- Ethanol 95% (AR grade, Batch No.54006, Excise Departmeent,, Chachoengsao, Thailand)
- Ethyl acetatate (AR grade, Batch No.11 09 0076 Labscan Asia Co.,Ltd, Bangkok, Thailand)
- Formic acid 98-100% (Batch No.1.00264.1000 Merck KGaA Darmstadt, Grmany)
- Methanol (HPLC grade Batch No.10 03 0311 Labscan Asia Co.,Ltd, Bangkok , Thailand)
- Standard Kaempferol (Batch No.K0133 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- Standard Lutein (K E B Biotechnology, Beijing, China)
- Standard Qurcetin (BatchNo. 90K1746 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- Folin-cicalteu’s phenol regent (Batch No.1.09001.0500 Merck KGaA Darmstadt, Grmany)
- Sodium carbonate (Batch No.1.06392.1000 Merck KGaA Darmstadt, Grmany)
- Gallic acid (Batch No.G7384 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- Aluminum chloride hexahydrate (Batch No.0903422 Alax finechem Pty Ltd., NSW, Australia)
- Potassium acetate (Batch No.1006563 Alax finechem Pty Ltd., NSW, Australia)
- Tris-HCL (Molecular biology grade, Batch No.280401 Research organics, Ohio, USA)
- Sodium chloride (Batch No.1.06404.1000 Merck KGaA Darmstadt, Grmany)
- Calcium chloride (Batch No.AF407272 Alax finechem Pty Ltd., NSW, Australia)

- Lipase from porcine pancreas (Batch No.L3126 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- 1,2 di-O-lauryl-rac-glycero-3 glutaric acid 6'-methylresorufin ester (Batch No.30058 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- Orlistat (Batch No.04139 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- Cholesterol (Batch No.C3292 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- L-$\alpha$-Phosphatidylcholine (Batch No.P5394 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- Taurocholic acid sodium salt hydrate (Batch No.T4009 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)
- Enzymatic colorimetric test for cholesterol with lipid clearing factor (Batch No.10017 Human GmbH, Wieabaden, Germany)

**1.2 วัสดุครุภัณฑ์**

- High pressure liquid chromatography (LD 10 A, Shimazu, Japan)
- Hot air oven (600, Memmert, Germany)
- Rotary evaporator (Buchi Rotavapor® R-ll Anniversary, Buchi, Thailand)
- Ultra centrifuge (Mikro 120, Hettich, Germany)
- Water bath (WNE22, Memmert, Germany)
- Microplate spectrophotometer (Multimode detector DTX 880,Becman coulter Inc., USA)
- pH meter (Mettler Toledo Model S20-K, GmbH Schwerzenbach, Switzerland)
- Micro refrigerated centrifuge (Kubota 3740, Japan)

## 2. วิธีดำเนินการวิจัย




**รูปที่ 1** แผนผังการออกแบบการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้

### 2.1 การคัดเลือกผลไม้

ผลไม้ที่เลือกใช้ในการงานวิจัยนี้ เป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมและมีความเหมาะสมในการรับประทานหลังอาหารทันที หรือรับประทานก่อนอาหารได้โดยไม่ทำให้อิ่มเกินไป และสามารถหาได้ตลอดฤดูกาล ซึ่งมี 4 ชนิด ได้แก่

ฝรั่ง (แป้นสีทอง)

สัปปะรด (ภูเก็ต)

มะละกอ (ฮอลแลนด์)

ส้มโอ (ขาวแตงกวา)

เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง ผลไม้แต่ละชนิด จะจัดซื้อมาจาก 3 แหล่งหรือในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ดังนั้น ตัวอย่างผลไม้ที่จะทำการสกัดและทดสอบฤทธิ์ทั้งหมดจะมีทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ก่อนทำการสกัดจะทำการบันทึกรูปภาพของลักษณะภายนอกและภายในผลไม้ รวมทั้งชั่งน้ำหนัก และวัดขนาด

### 2.2 การเตรียมน้ำผลไม้

นำเนื้อผลไม้มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ 100 กรัม และทำการปั่นให้ละเอียด แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น วัดปริมาตรและชั่งน้ำหนักของสารสกัดน้ำที่ได้ แล้วแบ่งส่วนหนึ่งไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze-dryer สารสกัดน้ำผลไม้สดส่วนหนึ่ง จะนำไปทดสอบฤทธิ์ทันที ส่วนสารสกัดที่เตรียมเป็นผงแห้งแล้ว จะทำการชั่งน้ำหนักผงแห้งที่ได้ แล้วคำนวนค่า % yield ก่อนจะเก็บไว้ที่ -20 $^{\circ}$C เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต่อไป ดังนั้น 12 ตัวอย่างผลไม้ จะได้ 24 ตัวอย่างสารสกัด (12 ตัวอย่างน้ำผลไม้สดและ 12 ตัวอย่างผงแห้ง)

**2.3 การสกัดตัวอย่างผลไม้ด้วย 70% Ethanol เพื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC**

หั่นตัวอย่างผลไม้สดเป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งให้ได้น้ำหนักประมาณ 50 กรัม ใส่ตัวอย่างลงใน erlenmeyer flask ขนาด 500 ml เติม 70 % Ethanol ปริมาตร 250 มิลลิลิตร คนตัวอย่างด้วยความเร็ว 1000 rpm นาน 12 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 นำกากที่เหลือไปสกัดซ้ำอีกครั้ง รวมตัวอย่าง supernatant ที่ได้ นำไปลดปริมาตรให้เหลือประมาณ 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการ partition กับ ethyl acetate 100 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำตัวอย่างที่ได้ไประเหยแห้งบน evaporating dish ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้ คำนวณ % yield นำตัวอย่างสารสกัดไปวิเคราะห์หาปริมาณ kaempferol, quercetin และ lutein ด้วย HPLC เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

**2.4 การจัดทำ HPLC fingerprint ของสารสกัดจากผลไม้**

จัดทำ HPLC fingerprint โดยนำตัวอย่างสารสกัดผลไม้ 4 ชนิด ได้แก่ ฝรั่ง, สัปปะรด, ส้มโอ และ มะละกอ (ตามข้อ 3) มาวิเคราะห์ด้วย HPLC (ตามข้อ 2.6) เพื่อดูลักษณะเฉพาะของ chromatogram ของสารสกัดจากผลไม้แต่ละชนิด

**2.5 การจัดทำ calibration curve ของสารมาตรฐาน**

เตรียมสารละลายมาตรฐาน (kaempferol, quercetin, lutein) ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml โดยใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่อยู่ในช่วง 0.1-25 μg/ml กรองสารละลายผ่าน nylon membrane filters ขนาด 0.45 μm ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC (ตามข้อ 2.6) ทำการวิเคราะห์สามซ้ำ นำข้อมูลที่ได้ไปจัดทำ calibration curve ของสารมาตรฐานแต่ละตัว

การตรวจวัดปริมาณสาร kaempferol และ quercetin ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม flavonoids ใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร ส่วนการตรวจวัดปริมาณสาร lutein ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม carotenoids ใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 446 นาโนเมตร

**2.6 การวิเคราะห์ด้วย HPLC**

โดยใช้เครื่อง HPLC (LD 10 A, Shimazu, Japan) ประกอบด้วย Rheodye injector ที่มี loop ขนาด 20 μl, SCL -10A pump และ SPD -10M10AVP diode array detector สภาวะที่ใช้คือ

Colume: VertiSep™ USP C 18 HPLC

Mobile phase: 0.2% Formic acid in water (A), Acetronitrile (B) and Methanol (C)

Flow rate: 1 ml/min

OD detection: 370 nm for quercetin and kaempferol, 446 nm for lutein

Gradient condition:

| Time (minute) | % (V/V) | | |
|---|---|---|---|
| | A | B | C |
| 0 | 62 | 38 | 0 |
| 8.0 | 62 | 38 | 0 |
| 21.5 | 1 | 58 | 41 |
| 27.5 | 62 | 38 | 0 |

**2.7 การวิเคราะห์หาสาร kaempferol, quercetin และ lutein ในสารสกัดจากผลไม้**

นำตัวอย่างสารสกัดผลไม้ (ตามข้อ 3) มาวิเคราะห์หาปริมาณ kaempferol, quercetin และ lutein ด้วยเทคนิค HPLC โดยเปรียบเทียบกับ calibration curve ของสารมาตรฐาน ทำการวิเคราะห์สามซ้ำ

**2.8 การวัดปริมาณของสารฟีนอลิก (Total phenolic content)**

วัดปริมาณของสารฟีนอลิกในน้ำผลไม้โดยใช้วิธี Folin–Ciocalteu ดังนี้ นำน้ำผลไม้สดไปปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 10,000 rpm นาน 1 นาที แล้วนำเฉพาะส่วนใสมาวัดปริมาณของสารฟีนอลิก ส่วนผงแห้งของน้ำผลไม้นำไปละลายด้วยน้ำในปริมาตรเดิมก่อนนำไปทำเป็นผงแห้ง แล้วนำไปปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 10,000 rpm นาน 1 นาที แล้วนำเฉพาะส่วนใสมาวัดปริมาณของสารฟีนอลิก โดยเติมน้ำผลไม้หรือสารละลายผงแห้งของน้ำผลไม้ 20 µl, folin-cicalteu’s phenol reagent (folin-cicalteu’s phenol reagent: water=1:10) 100 µl, และ 15 g/L sodium carbonate ($Na_2CO_3$) 80 µl ใน 96-well plate บ่มในมืดไว้ที่ 50°C นาน 5 นาที และที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที วัดปริมาณของสารฟีนอลิกด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 nm โดยใช้น้ำเป็น blank และ gallic acid (GA) เป็น Standard phenolic compound ซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำมาคำนวณเปรียบเทียบกับ gallic acid โดยคำนวณเป็น gallic acid equivalent (GAE) หน่วยที่ได้จะแสดงเป็น mg/L GAE

**2.9 การวัดปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ (Total flavonoid content)**

วัดปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ในน้ำผลไม้โดยใช้วิธี aluminum chloride colorimetric ดังนี้ นำผงแห้งของน้ำผลไม้นำไปสกัดด้วย 100% methanol (ผงแห้ง 0.2 g/ml ของ methanol) นาน 6 วัน แล้วนำไปปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 10,000 rpm นาน 1 นาที แล้วนำเฉพาะส่วนใสมาวัดปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ โดยเติมสารละลายผงแห้งของน้ำผลไม้ดังกล่าว 20 µl, 95% ethanol 60 µl, 4% aluminum chloride hexahydrate ($AlCl_3$) 10 µl, 0.4M potassium acetate ($CH_3COOK$) 10 µl ใน 96-well plate บ่มไว้ที่ อุณหภูมิห้อง นาน 40 นาที วัดปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 415 nm โดยใช้น้ำเป็น blank และ quercetin เป็น standard ซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำมาคำนวณเปรียบเทียบกับ quercetin โดยคำนวณเป็น quercetin equivalent (QE) หน่วยที่ได้จะแสดงเป็น mg/L QE

**2.10 การทดสอบผลของน้ำผลไม้ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase**

เตรียมน้ำผลไม้หรือผงแห้งของน้ำผลไม้ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ reaction buffer (pH 8.0) ที่ประกอบด้วย 0.8 M Tris-HCl, 150 mM NaCl, และ 1.3 mM $CaCl_2$ เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำไปปั่นตกตะกอนด้วยความเร็ว 10,000 rpm นาน 1 นาที แล้วนำเฉพาะส่วนใสมาวัดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase โดย pipette สารตัวอย่างดังกล่าวมา 25 µl แล้วเติม reaction buffer 40 µl, 50 U/ml pancreatic lipase 25 µl และเติม 400 µM substrate (1,2 di-O-lauryl-rac-glycero-3 glutaric acid 6'-methylresorufin ester) ลงไป 10 µl เป็นสารสุดท้าย จากนั้นนำไปบ่มไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 60 นาที แล้วจึงนำไปวัดการเรืองแสงที่ Ex 535 nm และ Em 595 nm ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้สาร Orlistat เป็น positive control

**2.11 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์**

เตรียม stock solution ของ 20 mM cholesterol และ 5 mM phosphatidylcholine ใน chloroform และ 20 mM sodium taurocholate ใน methanol จากนั้น pipette สารละลายดังกล่าวรวมกันแล้วนำไประเหยแห้ง (evaporate) ด้วยก๊าซไนโตรเจนจนได้เป็นแผ่นฟิล์มแห้งของไขมัน เก็บแผ่นฟิล์มแห้งของไขมันไว้ที่ -20°C จนกว่าจะนำมาทดสอบ การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งในการทดลอง โดยละลายแผ่นฟิล์มแห้งของไขมันด้วย 0.1 M PBS (pH 7.4) แล้วนำไป sonicate ด้วยเครื่อง sonicated probe ที่ 20 amp นาน 1 นาที และคนต่ออีก 10 นาที เพื่อทำให้ไขมันแตกตัวและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งจะได้สารละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ที่ประกอบด้วย 1 mM cholesterol, 1 mM sodium taurocholate และ 0.6 mM phosphatidylcholine สำหรับการทดสอบผลของน้ำผลไม้ต่อการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์

**2.12 การทดสอบผลการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์**

นำสารละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ (ตามข้อ 2.11) ผสมกับน้ำผลไม้หรือผงแห้งของน้ำผลไม้โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ ในอัตราส่วน 1:9 (น้ำผลไม้:สารละลายโคเลสเตอรอลไมเซลล์) แล้วบ่มไว้ที่ 37°C นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ผ่าน 0.22 µm membrane filter เพื่อแยกคอเลสเตอรอลที่ไม่ละลายอยู่ใน lipid micelles ซึ่งจะเกาะติดรวมกัน (precipitated cholesterol) และไม่สามารถผ่าน membrane ได้ จึงสามารถแยกออกจาก intermicellar cholesterol หรือคอเลสเตอรอลที่ละลายอยู่ใน lipid micelles จากนั้นวัดความเข้มข้นของ intermicellar cholesterol ด้วย cholesterol assay kit

**2.13 วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผล**

การทดลองทั้งหมดจะทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplication) และวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ด้วย one-way ANOVA ตามด้วย post hoc multiple comparison โดยใช้ LSD test ด้วยโปรแกรม SPSS for windows (version 14.0: SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ซึ่ง $p \leq 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

## ผลการทดลอง (Results)

### 1. การเตรียมน้ำผลไม้สดและในรูปผงแห้ง

ผลไม้ทั้งหมดได้จัดซื้อมาจากตลาดในจังหวัดพิษณุโลก โดยได้มาจากอย่างน้อย 3 แหล่งที่แตกต่างกัน ตัวอย่างรูปผลไม้ดังแสดงในรูปที่ 1 (ผลไม้ทั้งผล) และรูปที่ 2 (ผลไม้ก่อนนำไปคั้นแยกน้ำ)

หลังจากการเตรียมเป็นน้ำผลไม้สด ได้ทำการบันทึกค่าปริมาตรดังแสดงในตารางที่ 1 น้ำผลไม้บางส่วนได้นำไปเตรียมเป็นผงแห้งด้วยการ freeze-dry น้ำหนักผงแห้งได้ทำการบันทึกไว้ในตารางที่ 1

**ก. ฝรั่ง** **ข. มะละกอ**

**ค. สัมโอ** **ง. สัปปะรด**

**รูปที่ 2** ลักษณะภายนอกของผลไม้ 4 ชนิด

ก. ฝรั่ง ข.มะละกอ

ค. สัมโอ ง. สัปปะรด

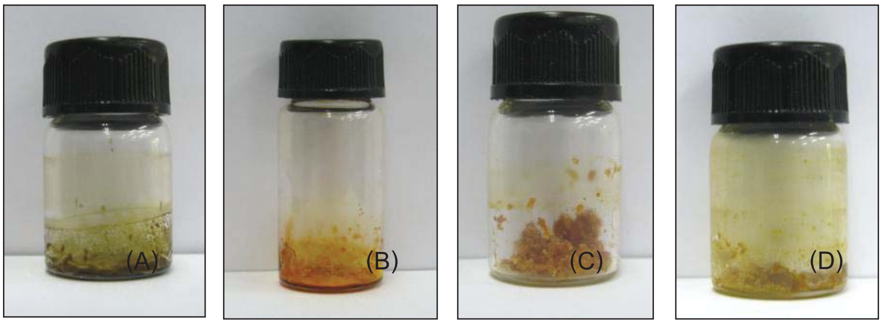
**รูปที่ 3** ลักษณะของผลไม้ 4 ชนิด ก่อนนำไปคั้นแยกน้ำ

**ตารางที่ 1** ปริมาตรของน้ำผลไม้สดและน้ำหนักผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด

| ชนิดของผลไม้ | ปริมาตรน้ำผลไม้สด ml/100g ของเนื้อผลไม้สด | | | น้ำหนักผงแห้งของน้ำผลไม้ g/100g ของเนื้อผลไม้สด | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | แหล่งที่ 1 | แหล่งที่ 2 | แหล่งที่ 3 | แหล่งที่ 1 | แหล่งที่ 2 | แหล่งที่ 3 |
| มะละกอ | 20.00 | 30.00 | 17.71 | 2.84 | 4.80 | 2.34 |
| ฝรั่ง | 41.67 | 50.00 | 44.29 | 4.46 | 5.35 | 5.03 |
| สัปปะรด | 46.67 | 57.50 | 41.43 | 7.19 | 7.07 | 6.34 |
| ส้มโอ | 36.67 | 50.00 | 43.43 | 7.22 | 9.55 | 8.03 |

**2. การสกัดตัวอย่างผลไม้ด้วย 70% Ethanol สำหรับวิเคราะห์ด้วย HPLC**

รูปที่ 4 แสดงลักษณะสารสกัดผลไม้ที่หมักกับ 70% ethanol 12 ชั่วโมง แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ส่วนในตารางที่ 2 แสดง % yield ของสารสกัดผลไม้ชนิดต่างๆ จะเห็นว่าสัปปะรดให้ % yield สูงสุด ในขณะที่ฝรั่ง ให้ % yield ต่ำสุด




**รูปที่ 4** ตัวอย่างสารสกัด (A) ฝรั่ง, (B) มะละกอ, (C) สับปะรด และ (D) ส้มโอ

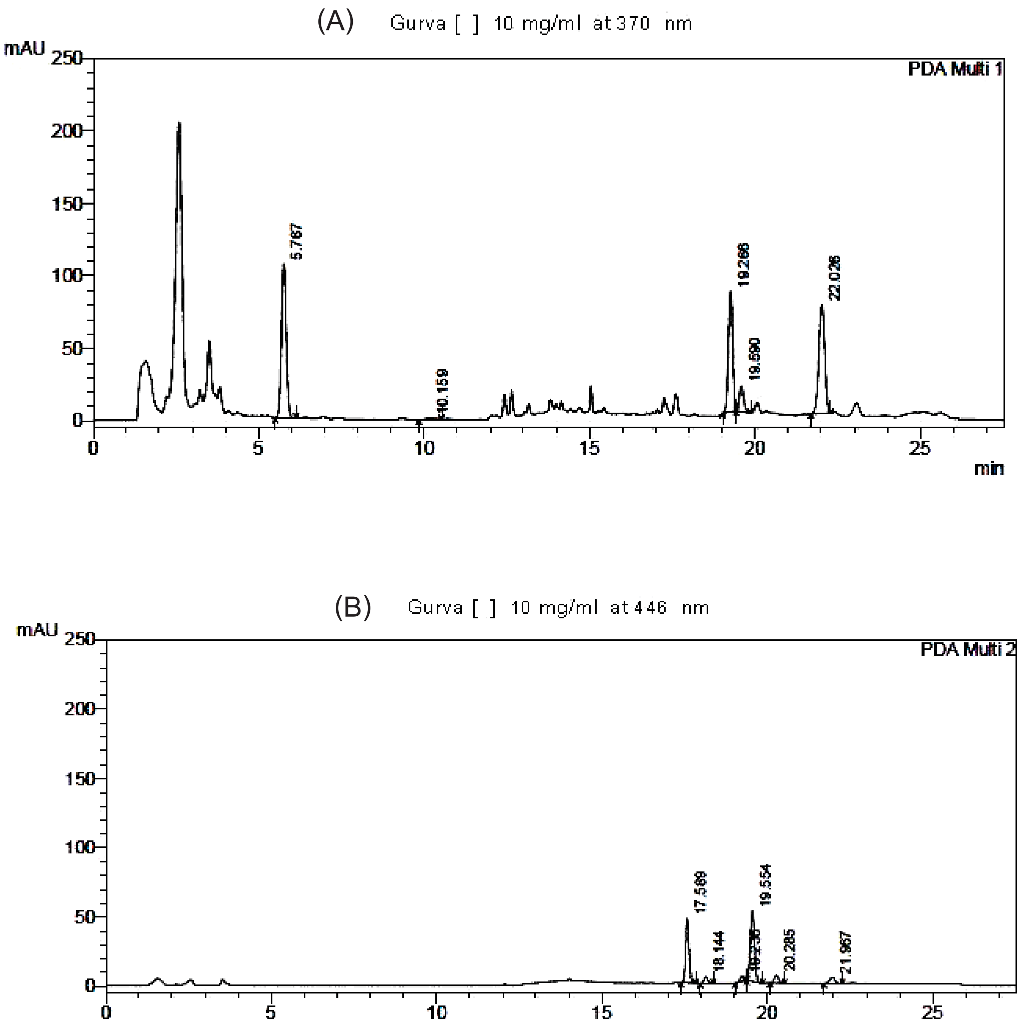
**ตารางที่ 2** % yield ของสารสกัดผลไม้ที่ได้จากการสกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate

| ตัวอย่างผลไม้ | % yield |
|---|---|
| ฝรั่ง | 0.093 |
| มะละกอ | 0.193 |
| สับปะรด | 0.586 |
| ส้มโอ | 0.309 |

**3. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญด้วย HPLC**

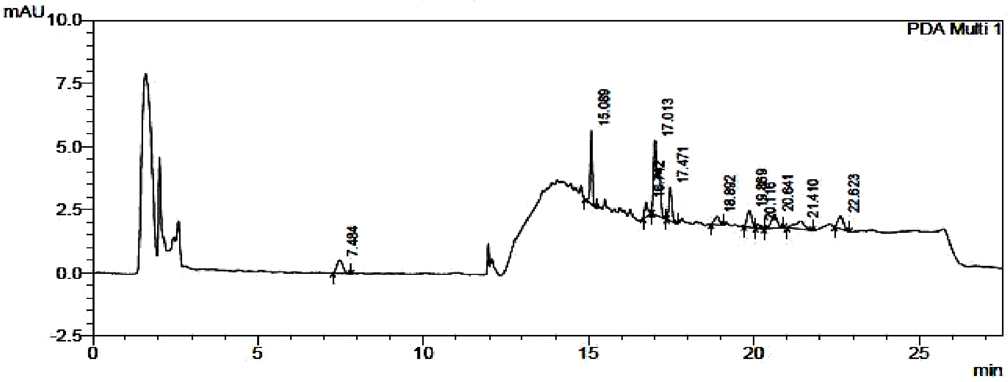
**3.1 HPLC fingerprint ของสารสกัดผลไม้**

รูปที่ 5-8 แสดงลักษณะ HPLC chromatogram ของสารสกัดผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ฝรั่ง มะละกอ สัปปะรด และส้มโอ ตามลำดับ

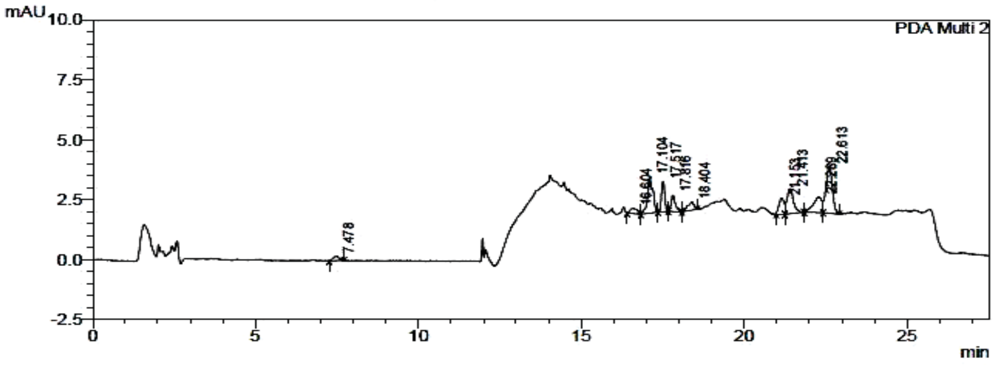



**รูปที่ 5** HPLC Chromatogram ของสารสกัดผลฝรั่งสด ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร (A) และ 446 นาโนเมตร (B)

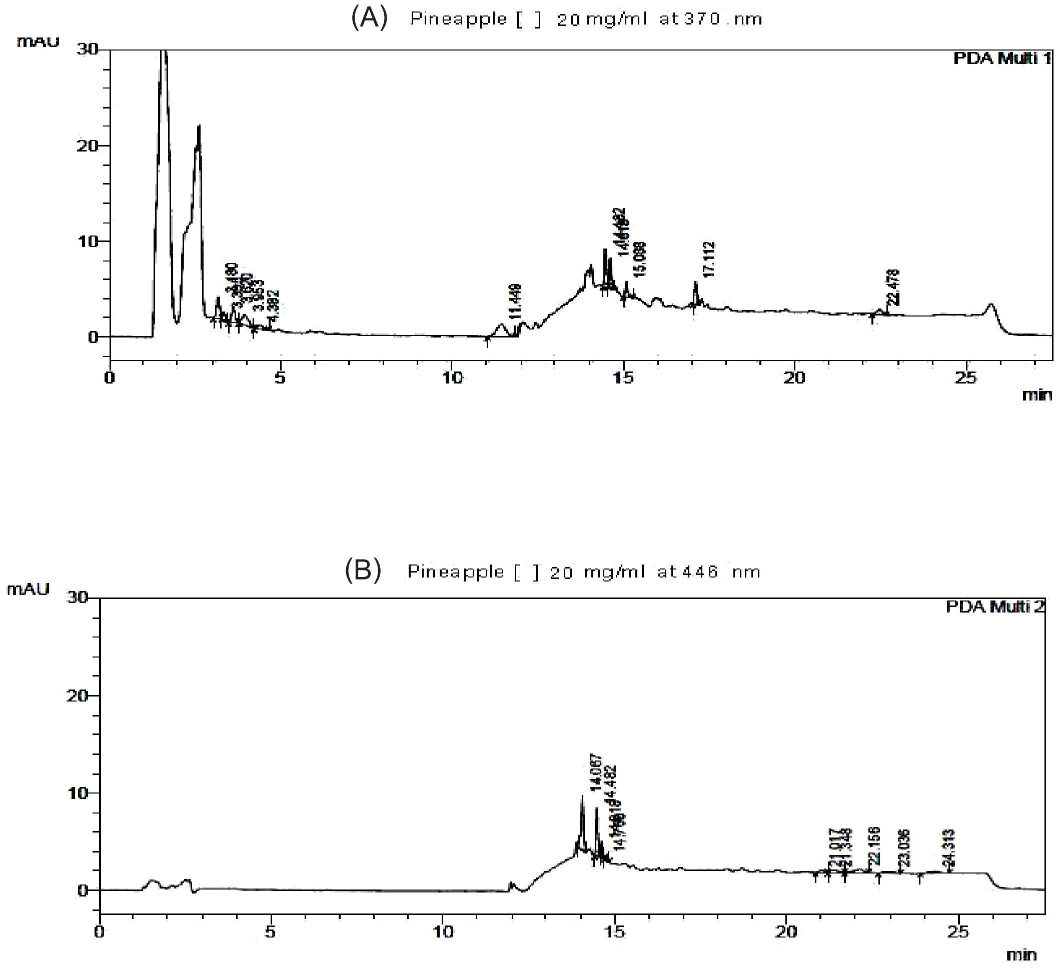
(A) Papaya [ ] 10 mg/ml at 370 nm




(B) Papaya [ ] 10 mg/ml at 446 nm

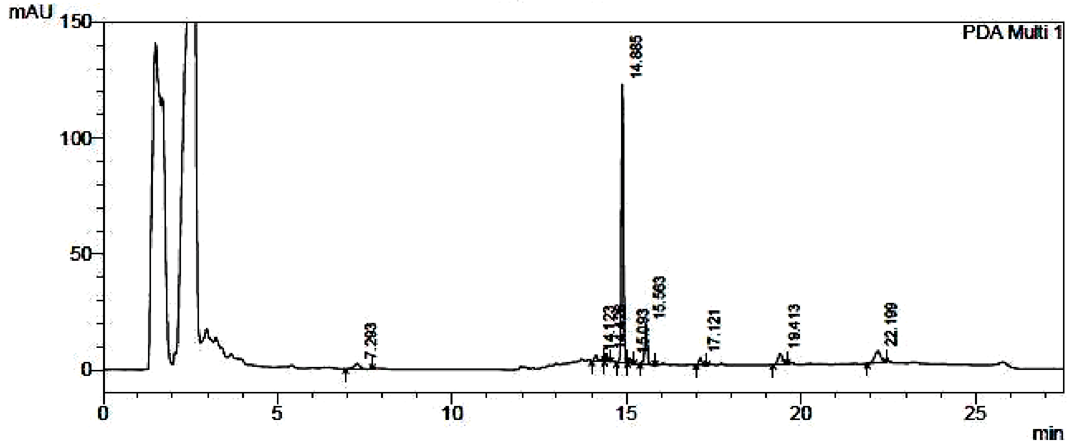



**รูปที่ 6** HPLC Chromatogram ของสารสกัดผลมะละกอ ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร (A) และ 446 นาโนเมตร (B)

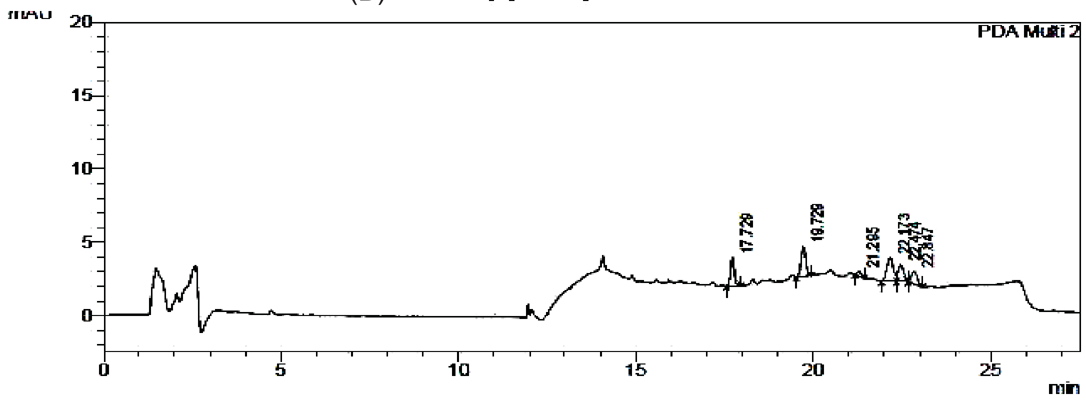



**รูปที่ 7** HPLC Chromatogram ของสารสกัดผลสับปะรด ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร (A) และ 446 นาโนเมตร (B)

(A) Somao [ ] 20 mg/ml at 370 nm



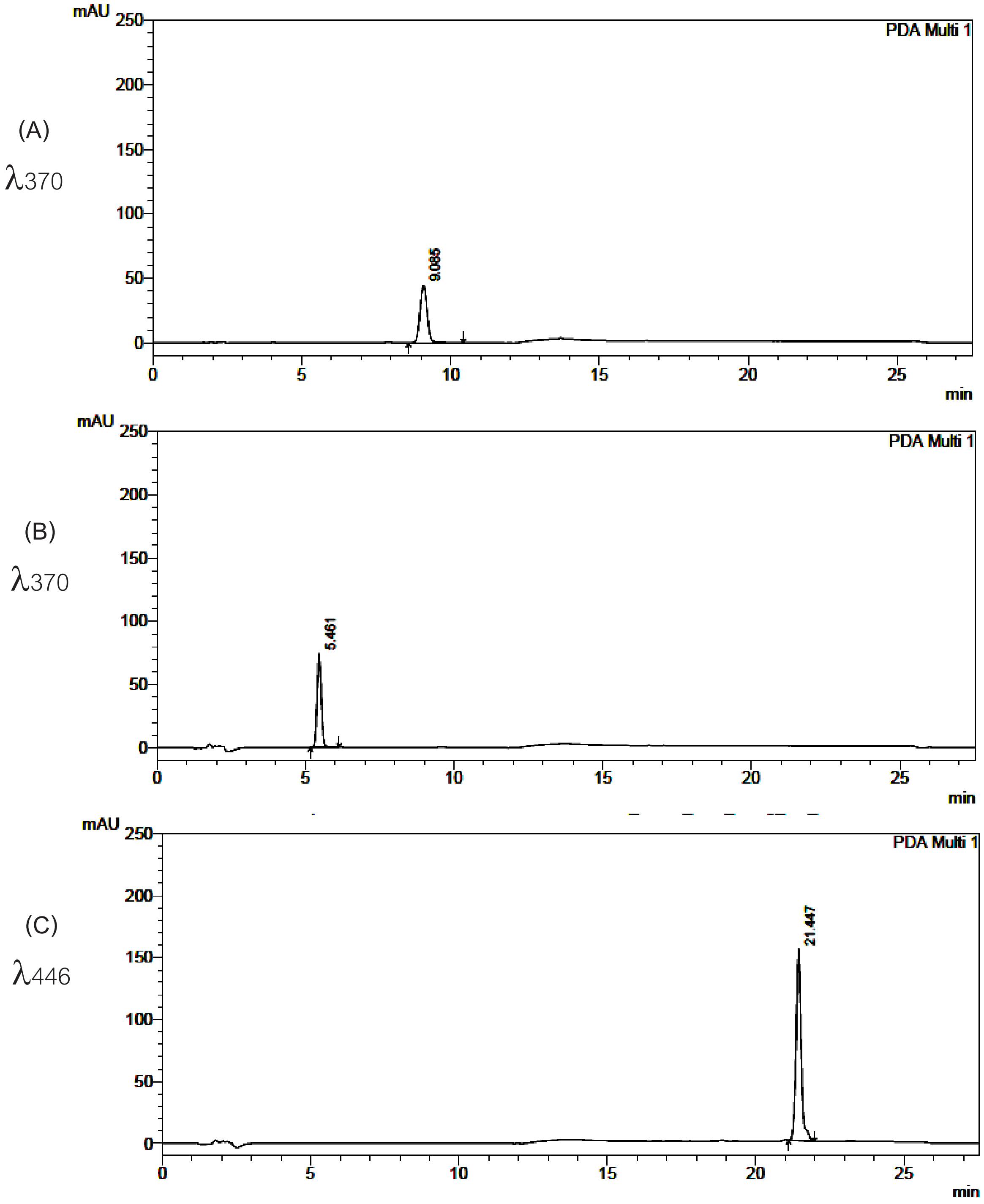

(B) Somao [ ] 20 mg/ml at 446 nm



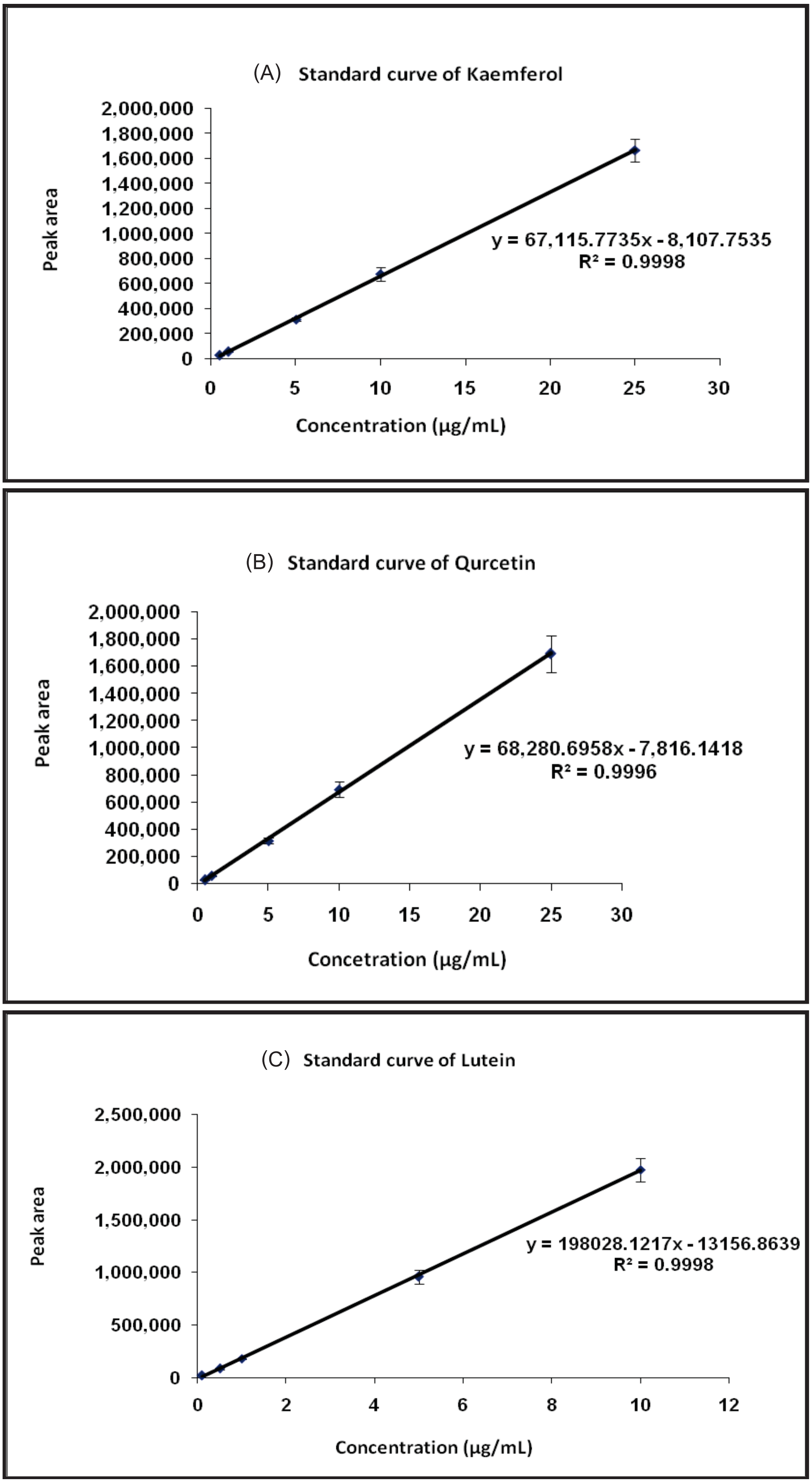

**รูปที่ 8** HPLC Chromatogram ของสารสกัดผลส้มโอ ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 370 นาโนเมตร (A) และ 446 นาโนเมตร (B)

### 3.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญด้วย HPLC

ในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์หาสาร 3 ชนิด ซึ่งได้แก่ kaempferol, quercetin และ lutein จากสารสกัดผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ด้วย HPLC โดย HPLC chromatogram ของสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 9 ส่วนรูปที่ 10 แสดง calibration curve ของสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว




**รูปที่ 9** HPLC chromatogram ของสารมาตรฐาน kaempferol (A), quercetin (B) และ lutein (C) แสดงค่า retention time ที่ 9.085, 5.461 และ 21.447 นาที ตามลำดับ




**รูปที่ 10** Standard curve ของ kaempferol (A), quercetin (B) และ lutein (C)

จากการวิเคราะห์หาปริมาณ kaempferol, quercetin และ lutein ในสารสกัดผลไม้แต่ละชนิดที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate สามารถคำนวณหาปริมาณสารสำคัญได้เมื่อเทียบกับ calibration curve ดังแสดงในตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดผลไม้ ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate

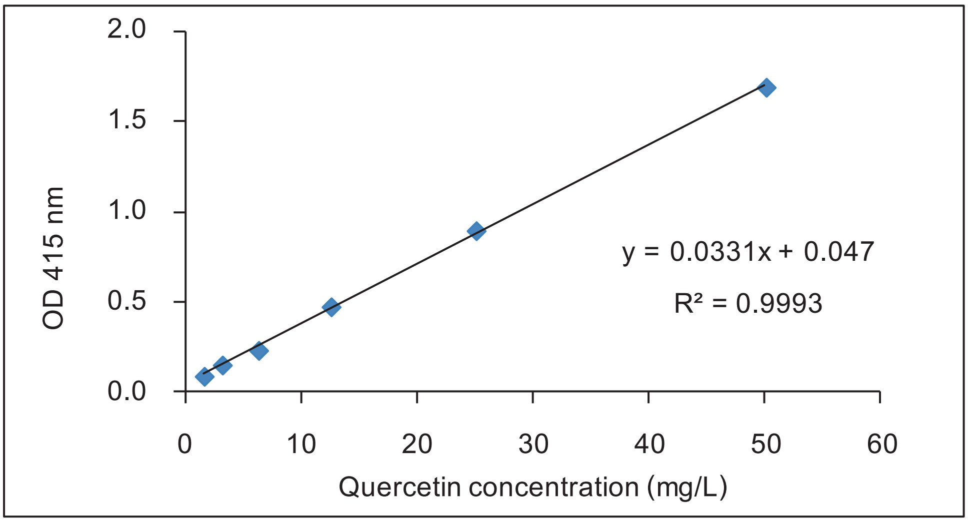
| **ผลไม้** | **ปริมาณสารสำคัญในผลไม้ (ng/g น้ำหนักสดของผลไม้)** | | |
|---|---|---|---|
| | **Kaempferol** | **Quercetin** | **Lutein** |
| ผลฝรั่ง | < 0.5 | 139.55±3.32 | 2.98±0.12 |
| สับปะรด | ND | ND | < 0.1 |
| ส้มโอ | ND | ND | 2.91±0.28 |
| มะละกอ | ND | ND | < 0.1 |

จากการวิเคราะห์หาปริมาณ kaempferol, quercetin และ lutein ในสารสกัดน้ำคั้นผลไม้สด และน้ำผลไม้ที่เตรียมเป็นผงแห้ง ตรวจพบ lutein เฉพาะในตัวอย่างสารสกัดน้ำผลไม้สดสัปปะรด ส้มโอ และมะละกอ เท่านั้น โดยพบในปริมาณที่น้อยกว่า 0.1 μg/ml ดังแสดงในภาคผนวกตารางที่ 1 และ 2 แม้ว่าจะมีรายงานการศึกษาว่ามีการตรวจพบสาร kaempferol, quercetin และ lutein ในผลไม้ชนิดดังกล่าวนี้ก็ตาม แต่สารตัวอย่างที่ใช้ในโครงการวิจัยนี้เป็นสารตัวอย่างที่เตรียมจากผลไม้สด ทั้งน้ำคั้นสดและในรูปผงแห้งก็มาจากน้ำคั้นสดนี้เช่นกัน ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านขั้นตอนการสกัดด้วย organic solvent หรือการทำให้เข้มข้นขึ้นแต่อย่างใด จึงเป็นไปได้ที่ปริมาณของ flavonoids ที่มีอยู่ในสารตัวอย่างจะมีค่าต่ำมากจนไม่สามารถวิเคราะห์ได้ คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมโดยพัฒนาวิธีการสกัดให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นมากขึ้น โดยนำผลไม้ไปสกัดด้วย 70% ethanol 12 ชั่วโมงแล้ว partition ด้วย ethyl acetate และนำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC อีกครั้ง ผลที่ได้ คือ ตรวจพบ lutein ในตัวอย่างสารสกัดผลไม้ทั้ง 4 ชนิด โดยพบมากในสารสกัดฝรั่งและส้มโอ แต่ตรวจพบ kaempferol และ quercetin เฉพาะในตัวอย่างสารสกัดฝรั่ง

**4. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญด้วยปฏิกิริยาทางเคมี**

**4.1 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (Total flavonoid content) ในน้ำผลไม้**

ในการวิเคราะห์หาปริมาณ total flavonoids ในน้ำคั้นผลไม้และน้ำผลไม้ในรูปผงแห้ง ผู้วิจัยได้ทดสอบด้วยวิธี aluminum chloride colorimetric โดยใช้ quercetin เป็นสารมาตรฐาน ดัง standard curve ในรูปที่ 11 ซึ่งได้กราฟเป็นเส้นตรงตามความเข้มข้นของ quercetin




**รูปที่ 11** Standard curve ของ quercetin ในการวัดปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ (total flavonoid content) ด้วยวิธี aluminum chloride colorimetric

สำหรับผลการวิเคราะห์หาปริมาณ flavonoids ในน้ำคั้นผลไม้สด พบว่าไม่พบระดับของ flavonoids ในน้ำผลไม้คั้นสดทุกชนิด สำหรับน้ำผลไม้ผงแห้ง ซึ่งได้เตรียมกลับเป็นน้ำผลไม้ในปริมาตรเท่าเดิมก่อนการนำไปทำเป็นผงแห้ง ซึ่งก็พบว่าไม่พบ flavonoids ในส่วนนี้เช่นกัน ผลการทดลองดังกล่าว อาจเนื่องมาจาก สารตัวอย่างนี้เป็นน้ำผลไม้สด ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำปริมาณสูง ความเข้มข้นของ flavonoids ในน้ำคั้นสดนี้คาดว่าจะมีค่าต่ำมาก จนไม่สามารถทดสอบได้ ดังนั้นผู้วิจัยได้ปรับวิธีการโดยทำการสกัด flavonoids จากน้ำผลไม้ด้วย ethanol และ methanol ซึ่งสารสกัดจากน้ำคั้นผลไม้สด ก็ยังไม่พบ flavonoids อาจเนื่องมาจากความเจือจางของ flavanoids ในน้ำคั้นสด ดังนั้น การสกัดผลไม้ผงแห้ง จึงได้เตรียมให้มีความเข้มข้นมากขึ้น และใช้เวลาในการสกัดนานขึ้น ผลการทดลองพบว่าสารสกัด methanol ของมะละกอในรูปผงแห้งเท่านั้นที่สามารถวัดปริมาณ flavonoids ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4

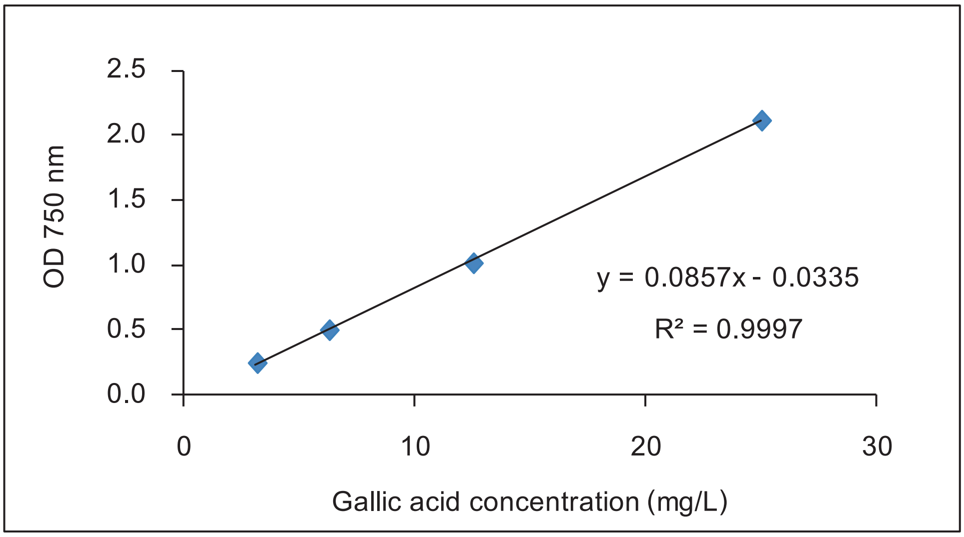
**ตารางที่ 4** ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (total flavonoid content) ในน้ำผลไม้สดและผงแห้งของน้ำผลไม้

| ชนิดของผลไม้ | ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (mg QE/L น้ำผลไม้) | |
|---|---|---|
| | **น้ำผลไม้สด** | **ผงแห้งของน้ำผลไม้** |
| ฝรั่ง | ND | ND |
| สัปปะรด | ND | ND |
| มะละกอ | ND | 0.03* |
| ส้มโอ | ND | ND |

*หมายเหตุ* ND : non-detectable level
QE : quercetin equivalent
* สกัดด้วย methanol เป็นเวลา 6 วัน คำนวณเป็นปริมาณ flavonoids ในน้ำผลไม้คั้น 100%
ผลจากการทดสอบของผลไม้ 1 แหล่ง

### 4.2 ปริมาณของสารฟีนอลิก (Total phenolic content) ในน้ำผลไม้

เนื่องจากการวัดปริมาณ flavonoids ในผลไม้สดมีค่าต่ำจนไม่สามารถวิเคราะห์ได้ ผู้วิจัยจึงได้ทำการวัดปริมาณ total phenolic content ของน้ำผลไม้คั้นสดและผลไม้ผลแห้ง โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ดัง standard curve ในรูปที่ 12




**รูปที่ 12** Standard curve ของ gallic acid ในการวัดปริมาณสารฟีนอลิก (total phenolic content)

ผลการวิเคราะห์ total phenolic content ในน้ำคั้นผลไม้สด ดังแสดงในตารางที่ 5 พบว่า น้ำฝรั่งมีปริมาณ total phenolic มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ชนิดอื่น ประมาณ 34-35 mg gallic acid equivalent ใน 1 ลิตรของน้ำคั้นผลไม้ 100% (ไม่ได้เติมน้ำในขั้นตอนการคั้นแยกน้ำ) น้ำคั้นจากสัปปะรด มะละกอ และส้มโอ มีปริมาณ total phenolic ไม่แตกต่างกันมากนัก เมื่อเปรียบเทียบน้ำผลไม้คั้นสดและน้ำผลไม้ที่นำไปทำเป็นผงแห้ง พบว่าปริมาณ total phenolic ไม่แตกต่างกันมาก แสดงว่าขั้นตอนการเตรียมผงแห้ง (freeze-dry) ไม่มีผลต่อปริมาณ total phenolic เมื่อคำนวณปริมาณของ total phenolic content ต่อน้ำหนักของเนื้อผลไม้ 100 กรัม พบว่า น้ำฝรั่งยังคงมีปริมาณ total phenolic มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ชนิดอื่นในปริมาณของเนื้อผลไม้ที่เท่ากัน และเมื่อทำทดสอบจากผลไม้อย่างน้อย 3 แหล่งที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณ total phenolic ทั้งสามแหล่งไม่แตกต่างกันมาก ดังแสดงในตารางที่ 6

**ตารางที่ 5** ปริมาณสารฟีนอลิก (total phenolic content) ในน้ำผลไม้สดเปรียบเทียบกับผงแห้งของน้ำผลไม้

| ชนิดของผลไม้ | ปริมาณสารฟีนอลิก (mg GAE/L ของน้ำผลไม้) | | ปริมาณสารฟีนอลิก (mg GAE/100 g เนื้อผลไม้) | |
|---|---|---|---|---|
| | น้ำผลไม้สด [a] | ผงแห้งของน้ำผลไม้ [b] | น้ำผลไม้สด [a] | ผงแห้งของน้ำผลไม้ [b] |
| ฝรั่ง | 34.69±1.59 | 35.21±0.41 | 10.47±0.74 | 9.65±1.29 |
| ส้มโอ | 9.12±0.24 | 11.03±0.36 | 0.95±0.39 | 0.81±0.06 |
| มะละกอ | 10.44±0.22 | 10.58±0.27 | 1.38±0.33 | 1.46±0.15 |
| สัปปะรด | 9.36±0.65 | 10.07±0.34 | 1.52±0.42 | 1.16±0.45 |

*หมายเหตุ* ผลการทดลองจากผลไม้ 3 แหล่ง โดย [a] แสดงผลการทดลองจากผลไม้แหล่งที่ 3, 4 และ 5, [b] แสดงผลการทดลองจากผลไม้แหล่งที่ 1, 2 และ 4

**ตารางที่ 6** ปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic content) ของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด จาก 3 แหล่ง

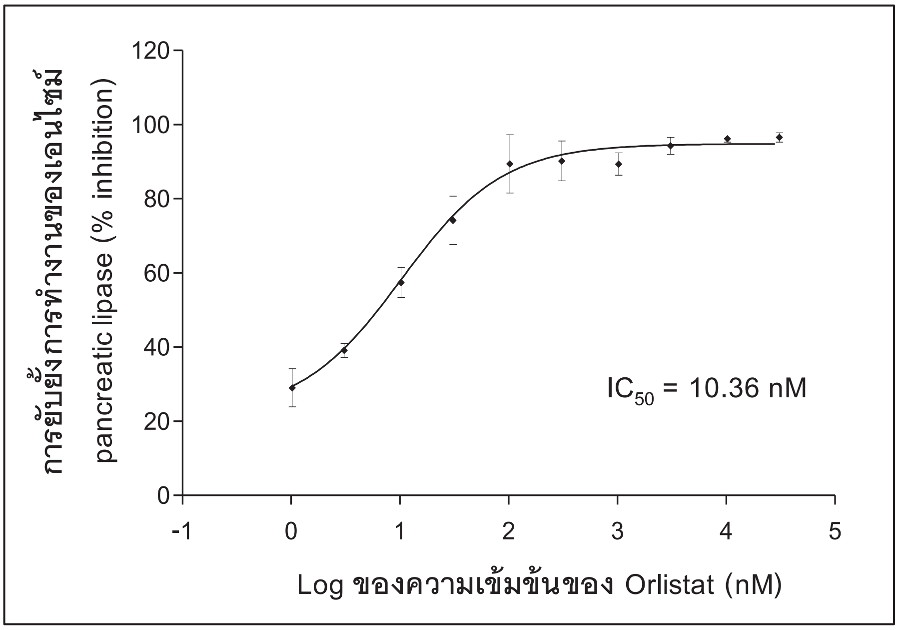
| ชนิดของผลไม้ | ปริมาณสารฟีนอลิก (mg ของ GAE/L น้ำผลไม้) | | |
|---|---|---|---|
| | แหล่งที่ 3 | แหล่งที่ 4 | แหล่งที่ 5 |
| ฝรั่ง | 31.85 | 37.36 | 34.87 |
| ส้มโอ | 8.71 | 9.10 | 9.54 |
| มะละกอ | 10.85 | 10.09 | 10.38 |
| สัปปะรด | 8.13 | 10.33 | 9.62 |

**5. การทดสอบฤทธิ์ของน้ำผลไม้**

**5.1 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase**

ในการทดสอบฤทธิ์ของน้ำผลไม้คั้นสดและน้ำผลไม้ในรูปผงแห้งในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase นั้น หน่วยความเข้มข้นของน้ำผลไม้ที่ใช้เป็น % โดยความเข้มข้น 100% หมายถึง น้ำผลไม้คั้นสดที่ไม่ได้มีการเติมหรือเจือจางด้วยน้ำในระหว่างขั้นตอนของการคั้น จากนั้นนำมาเจือจางด้วย reaction buffer (pH 8) เพื่อเตรียมเป็นน้ำผลไม้ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับน้ำผลไม้ที่ผ่านการ freeze-dry ให้อยู่ในรูปผงแห้งนั้น ได้ทำการเติมน้ำในปริมาตรที่เท่ากับก่อนนำไปเตรียมเป็นผงแห้ง เพื่อเตรียมเป็นความเข้มข้น 100% จากนั้นนำมาเจือจางด้วย reaction buffer (pH 8) เพื่อเตรียมเป็นน้ำผลไม้ความเข้มข้นต่างๆ เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด ก่อนนำไปทดสอบในปฏิกิริยา pancreatic lipase ต้องทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนที่ไม่ละลาย ตะกอนและกากใยออกจากน้ำผลไม้ความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้เสียก่อน แล้วนำเฉพาะส่วนใสไปทดสอบ เนื่องจากตะกอนมีผลรบกวนการวิเคราะห์

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase นี้ ผู้วิจัยได้ทำการทดสอบยืนยันวิธีการวิเคราะห์ด้วย orlistat ซึ่งเป็นยาที่ใช้ลดการดูดซึมไขมันในผู้ที่มีภาวะอ้วน โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้ง enzyme ดังกล่าว ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 13 พบว่า orlistat สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ดี โดยฤทธิ์นี้ขึ้นกับความเข้มข้น (dose-dependent) ค่า 50% inhibition concentration ($IC_{50}$) มีค่า 10.36 nM



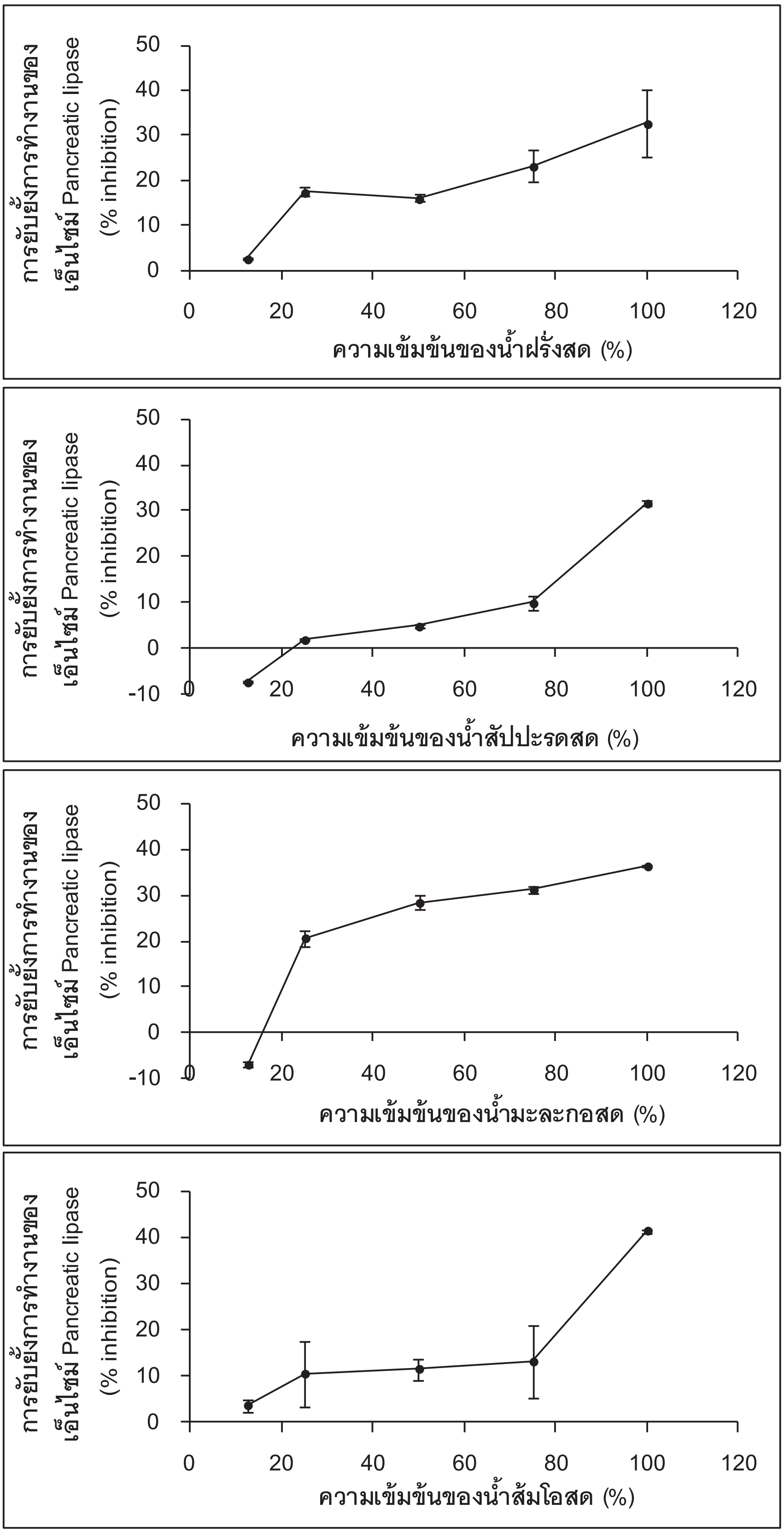

**รูปที่ 13** ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของ Orlistat

ในการทดลองนี้ได้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้คั้นสดที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 12.5, 25, 50, 75 และ 100% ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 14 พบว่า น้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase โดยการยับยั้งมีแนวโน้มขึ้นกับ

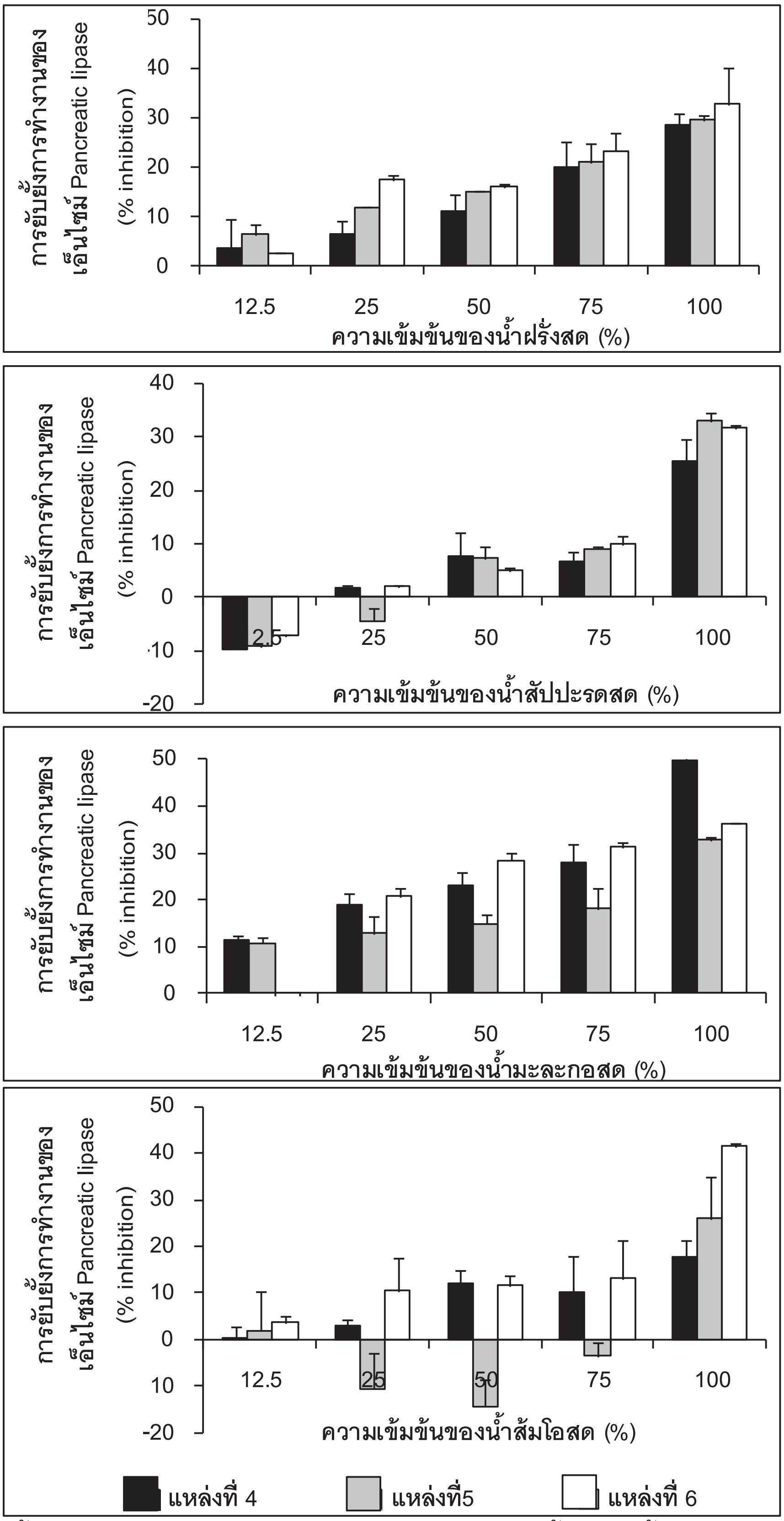
ความเข้มข้น (dose-dependent) ที่ความเข้มข้นสูงสุด (100% น้ำคั้นสด) พบว่าน้ำมะละกอคั้นสดให้ผลยับยั้งได้ดีที่สุดประมาณ 40% ส่วนน้ำคั้นสดจากฝรั่ง สับปะรด และส้มโอ ให้ค่าการยับยั้งไม่ต่างกันมากนักประมาณ 30% อย่างไรก็ตามการทดลองนี้เป็นผลมาจากผลไม้เพียง 1 แหล่ง เพื่อยืนยันผลการทดลอง ผู้วิจัยได้ทดสอบฤทธิ์ดังกล่าวนี้ โดยทดสอบเปรียบเทียบกับน้ำคั้นสดจากผลไม้ 3 แหล่ง (รูปที่ 15) ซึ่งพบว่าผลไม้จากต่างแหล่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้แตกต่างกัน โดยเฉพาะ มะละกอ และส้มโอ ส่วนฝรั่งและสับปะรดมีค่าแตกต่างกันไม่มากนัก และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของผลไม้จาก 3 แหล่ง (รูปที่ 16 A) พบว่าน้ำมะละกอคั้นสดให้ผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้นสูงสุด (100% น้ำคั้นสด) ให้ผลยับยั้งมากกว่าผลไม้ชนิดอื่นประมาณ 10% นอกจากนี้เมื่อลดความเข้มข้นของน้ำผลไม้คั้นสดลงจนถึง 25% พบว่าน้ำมะละกอและน้ำฝรั่งยังคงมีฤทธิ์ในยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase อยู่ประมาณ 20 และ 10% ตามลำดับ ในขณะที่ส้มโอและสับปะรดแทบจะไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้ง

สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์ของผงแห้งของน้ำผลไม้ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase แสดงดังรูปที่ 17 พบว่า ผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase โดยการยับยั้งมีแนวโน้มขึ้นกับความเข้มข้น (dose-dependent) ที่ความเข้มข้นสูงสุด (100% น้ำคั้นสด) ให้ผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ใกล้เคียงกันคือประมาณ 30% ทดสอบเปรียบเทียบกับผงแห้งของน้ำผลไม้จากผลไม้ 3 แหล่ง (รูปที่ 18) ซึ่งพบว่าผลไม้จากต่างแหล่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้แตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของผลไม้จากค่าเฉลี่ยของผลไม้ 3 แหล่ง (รูปที่ 16 B) พบว่าผงแห้งของน้ำมะละกอและฝรั่งให้ผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ดีที่สุด แม้ว่าที่ความเข้มข้นสูงสุด (100% น้ำคั้นสด) ผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิดจะให้ผลยับยั้งใกล้เคียงกันแต่เมื่อลดความเข้มข้นของน้ำผลไม้คั้นสดลงจนถึง 25% พบว่าน้ำมะละกอและน้ำฝรั่งยังคงมีฤทธิ์ในยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase อยู่ประมาณ 15 และ 10% ตามลำดับ ในขณะที่ส้มโอและสับปะรดพบฤทธิ์ในการยับยั้งน้อยกว่า 10%

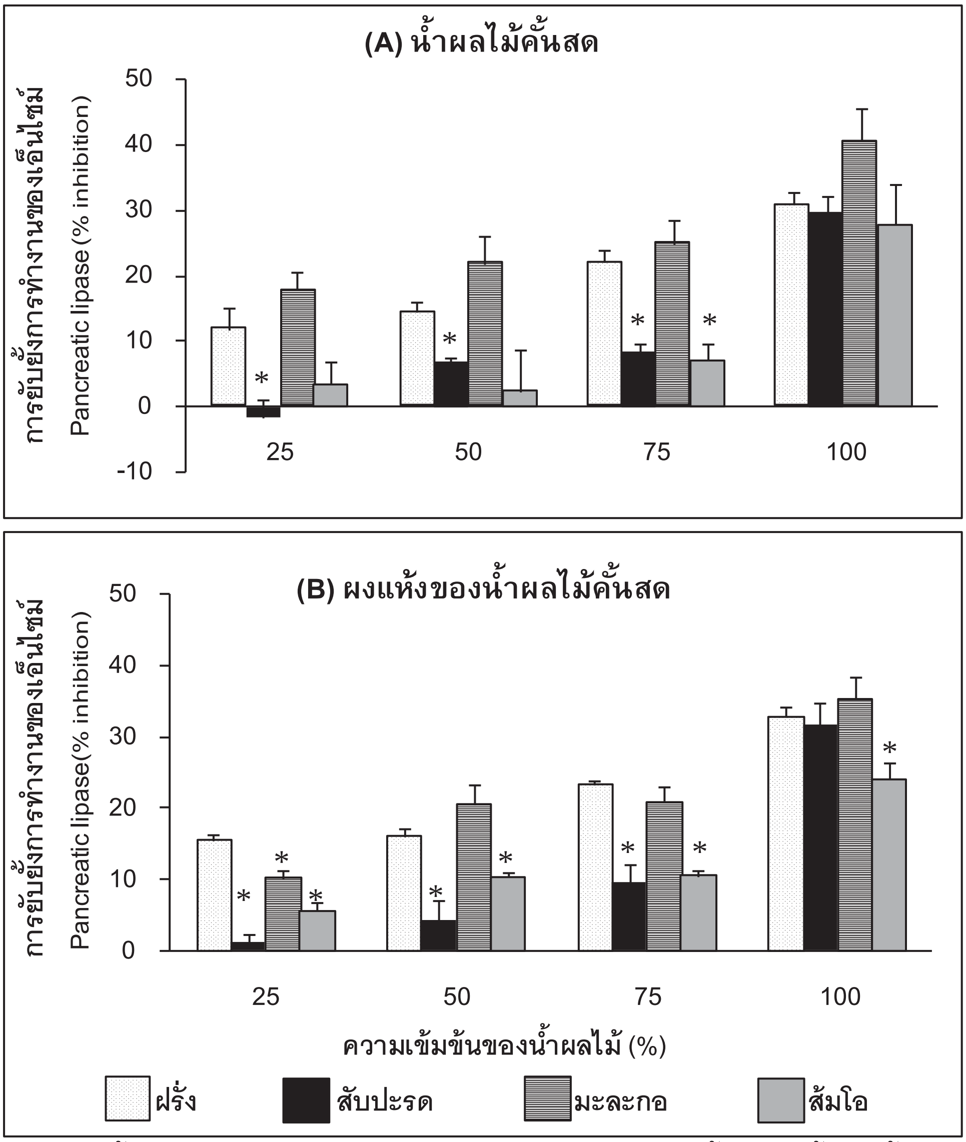
เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำผลไม้คั้นสดและน้ำผลไม้ผงแห้ง (รูปที่ 19) ซึ่งเป็นผลไม้ที่มาจากแหล่งเดียวกัน พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ที่แตกต่างกัน โดยในน้ำฝรั่งและสับปะรด ผงแห้งของน้ำผลไม้สามารถยับยั้งได้ดีกว่าน้ำผลไม้คั้นสด แต่ในน้ำมะละกอและส้มโอน้ำผลไม้คั้นสดสามารถยับยั้งได้ดีกว่าผงแห้งของน้ำผลไม้



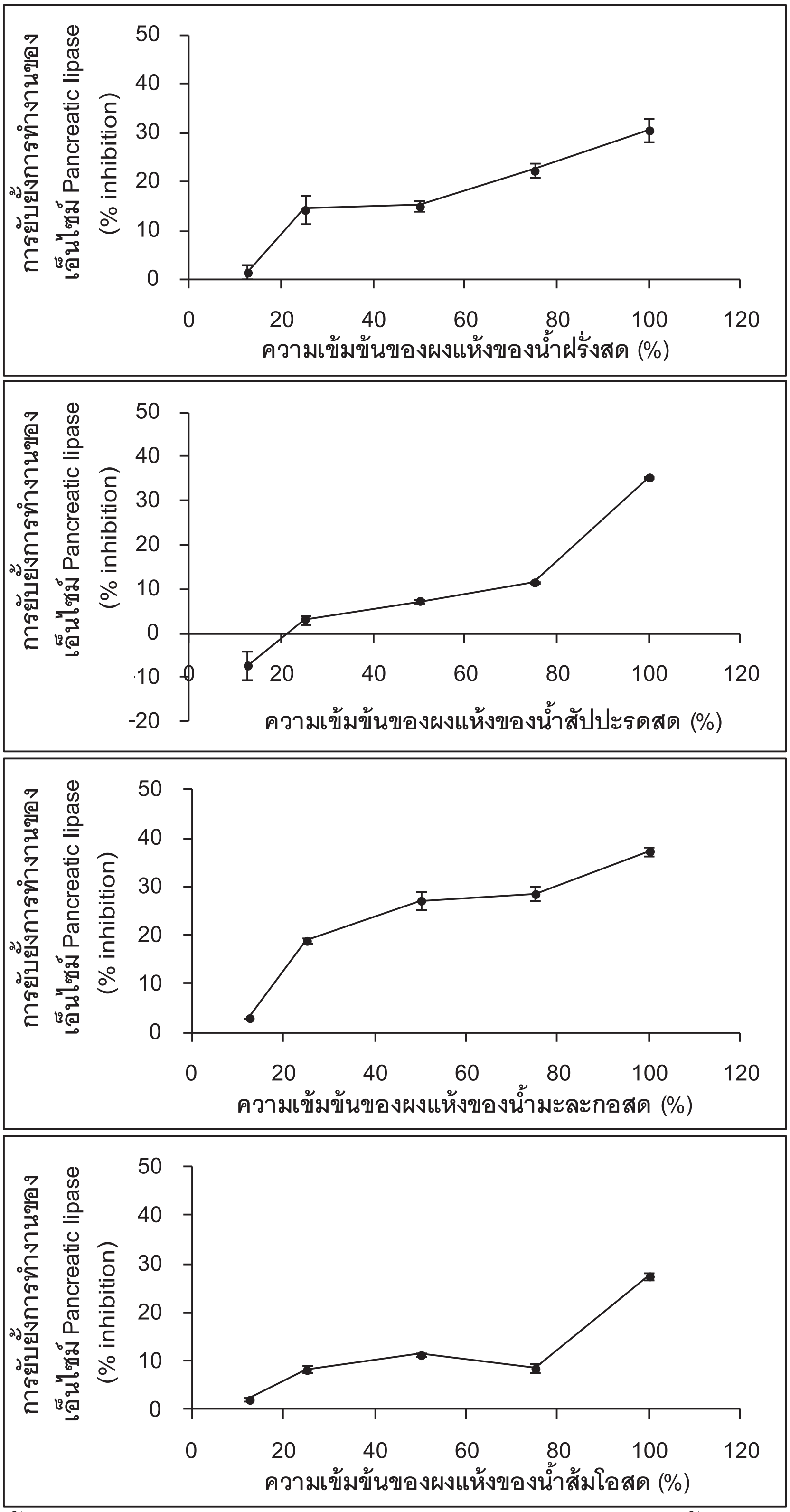

**รูปที่ 14** การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 6) และทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate)



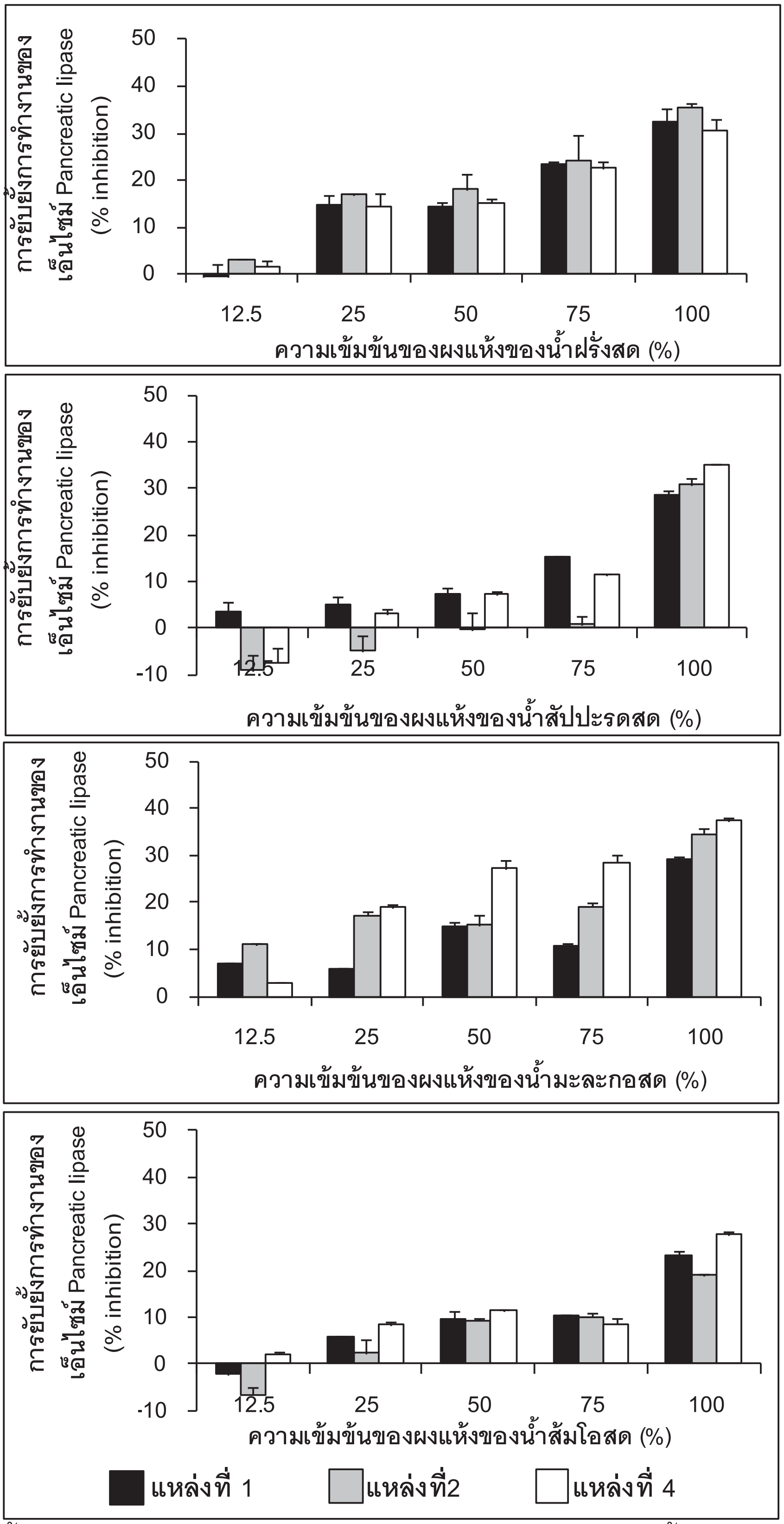

**รูปที่ 15** การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้คั้นสดจาก 3 แหล่ง (แหล่งที่ 4, 5 และ 6) ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่มีความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate)



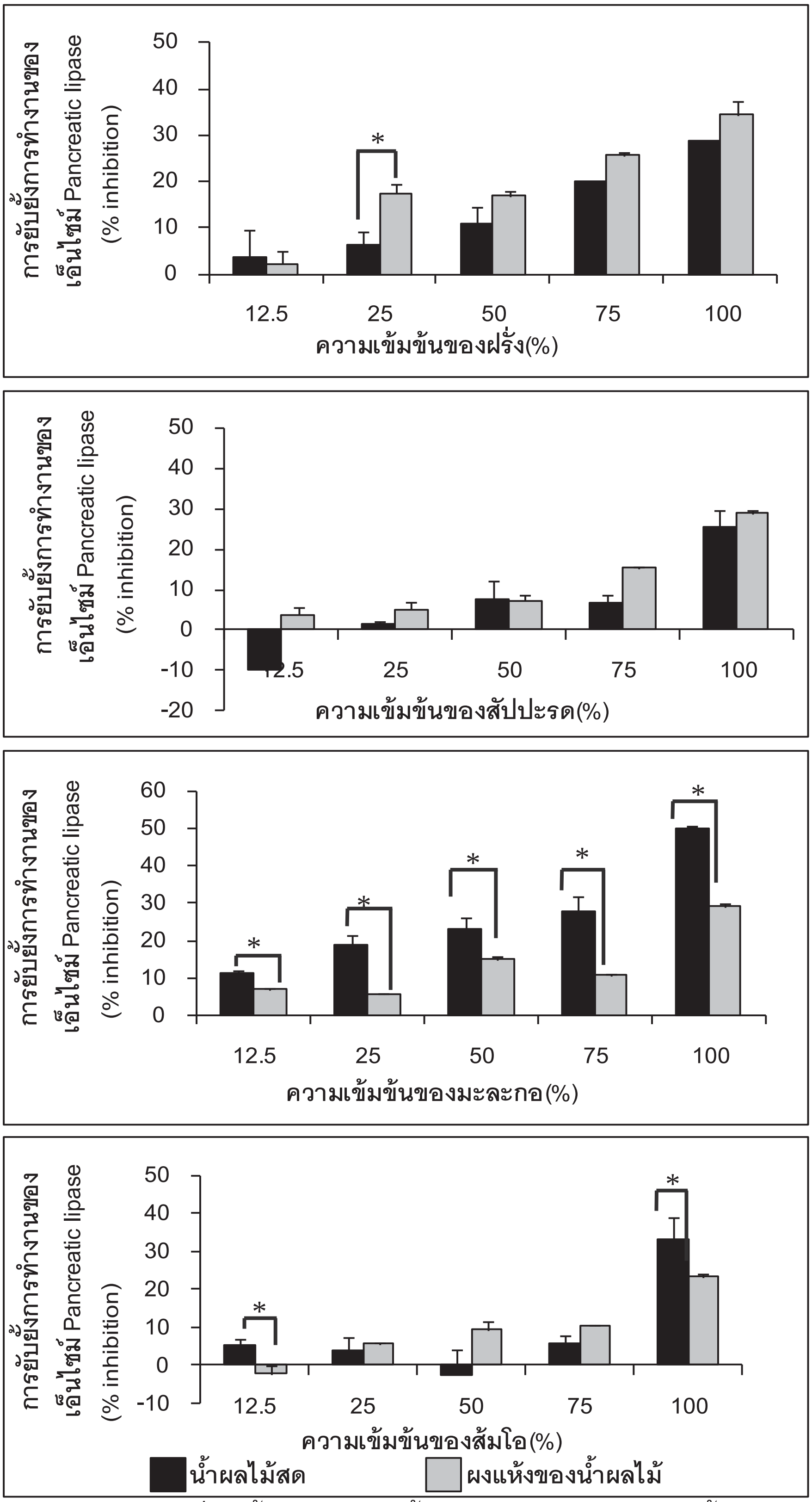

**รูปที่ 16** การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 3 แหล่ง ซึ่งแต่ละแหล่งทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) โดย น้ำผลไม้คั้นสดมาจากแหล่งที่ 4, 5 และ 6 (A) และผงแห้งของน้ำผลไม้คั้นสดมาจากแหล่งที่ 1, 2 และ 4 (B) โดย * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับฝรั่งที่ความเข้มข้นเดียวกัน




**รูปที่ 17** การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของผงแห้งของน้ำผลไม้ เติมน้ำในน้ำผลไม้ผงแห้งให้เท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำผลไม้คั้นสด จากนั้นทดสอบที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 4) และทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate)




**รูปที่ 18** การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของผงแห้งของน้ำผลไม้จาก 3 แหล่ง (แหล่งที่ 1, 2 และ 4) ซึ่งเติมน้ำในน้ำผลไม้ผงแห้งให้เท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำผลไม้คั้นสด จากนั้นทดสอบที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate)




**รูปที่ 19** เปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำผลไม้ในรูปคั้นสดและผงแห้งในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 75 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 4) และทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) โดย * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลไม้ในรูปคั้นสดและผงแห้งที่ความเข้มข้นเดียวกัน

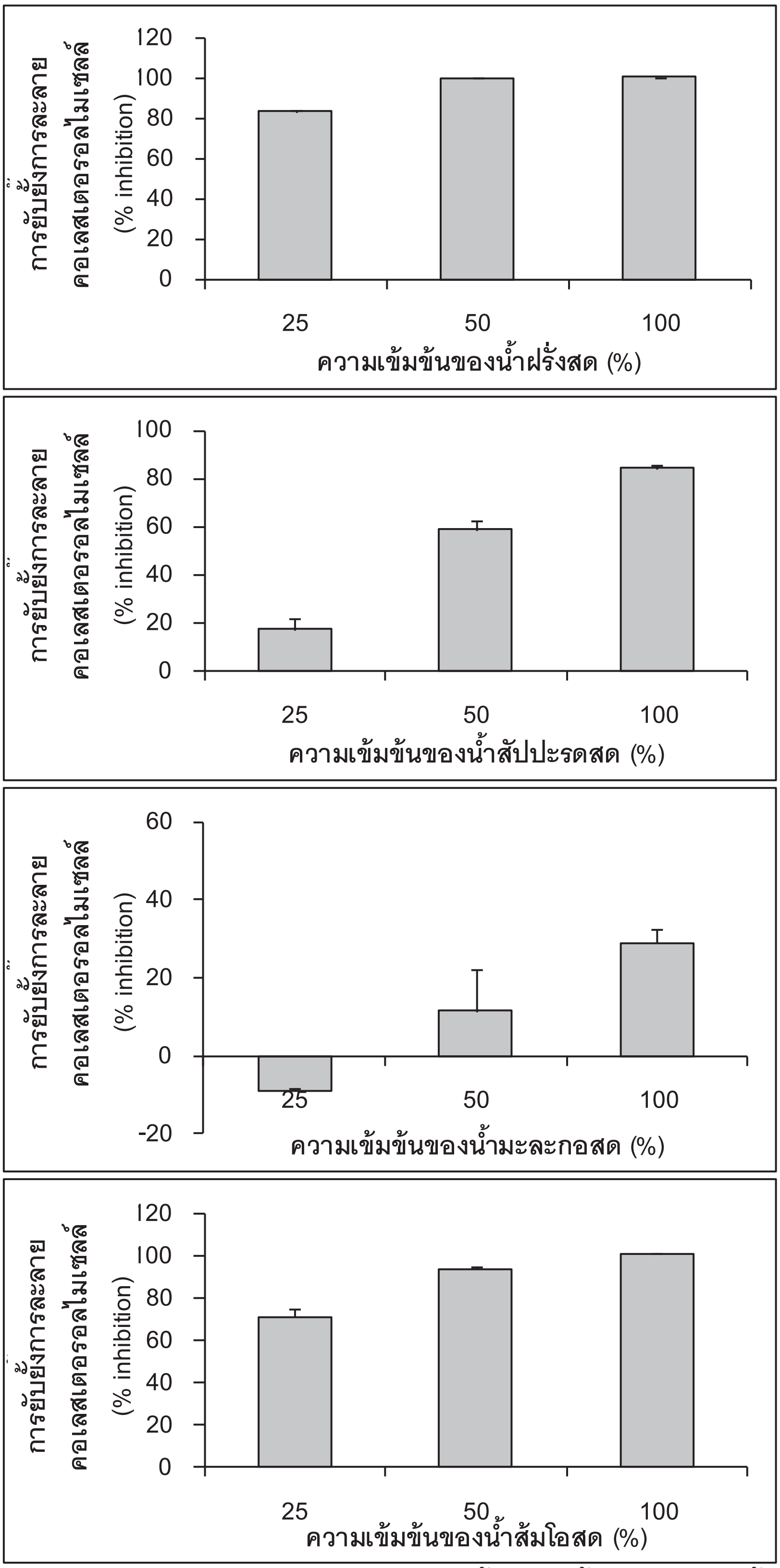
**5.2 ฤทธิ์ยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ (micellar cholesterol solubility)**

ในการย่อยและการดูดซึมไขมันจากทางเดินอาหาร นอกจากจะเป็นผลมาจากการทำงานของ pancreatic lipase แล้ว การดูดซึมไขมันที่ผนังลำไส้เล็กยังมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิด lipid micelles ของไขมันจากอาหารที่รับประทานเข้าไป ถ้ามีการรบกวนการเกิด lipid micelles ในทางเดินอาหาร ก็จะมีผลรบกวนการดูดซึมไขมันด้วยเช่นกัน งานวิจัยนี้จึงทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ (cholesterol solubility in lipid micelles) ซึ่งการละลายในที่นี้ หมายถึงการกระจายของโมเลกุลของคอเลสเตอรอลภายในโครงสร้างของไมเซลล์ การยับยั้งการละลายจึงเป็นการลดจำนวนโมเลกุลของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ ซึ่งโมเลกุลของคอเลสเตอรอลที่ไม่ละลายหรือไม่กระจายในไมเซลล์นั้น อาจจะจับตัวกัน (precipitate) และเป็นส่วนที่จะไม่สามารถถูกดูดซึมในทางเดินอาหาร

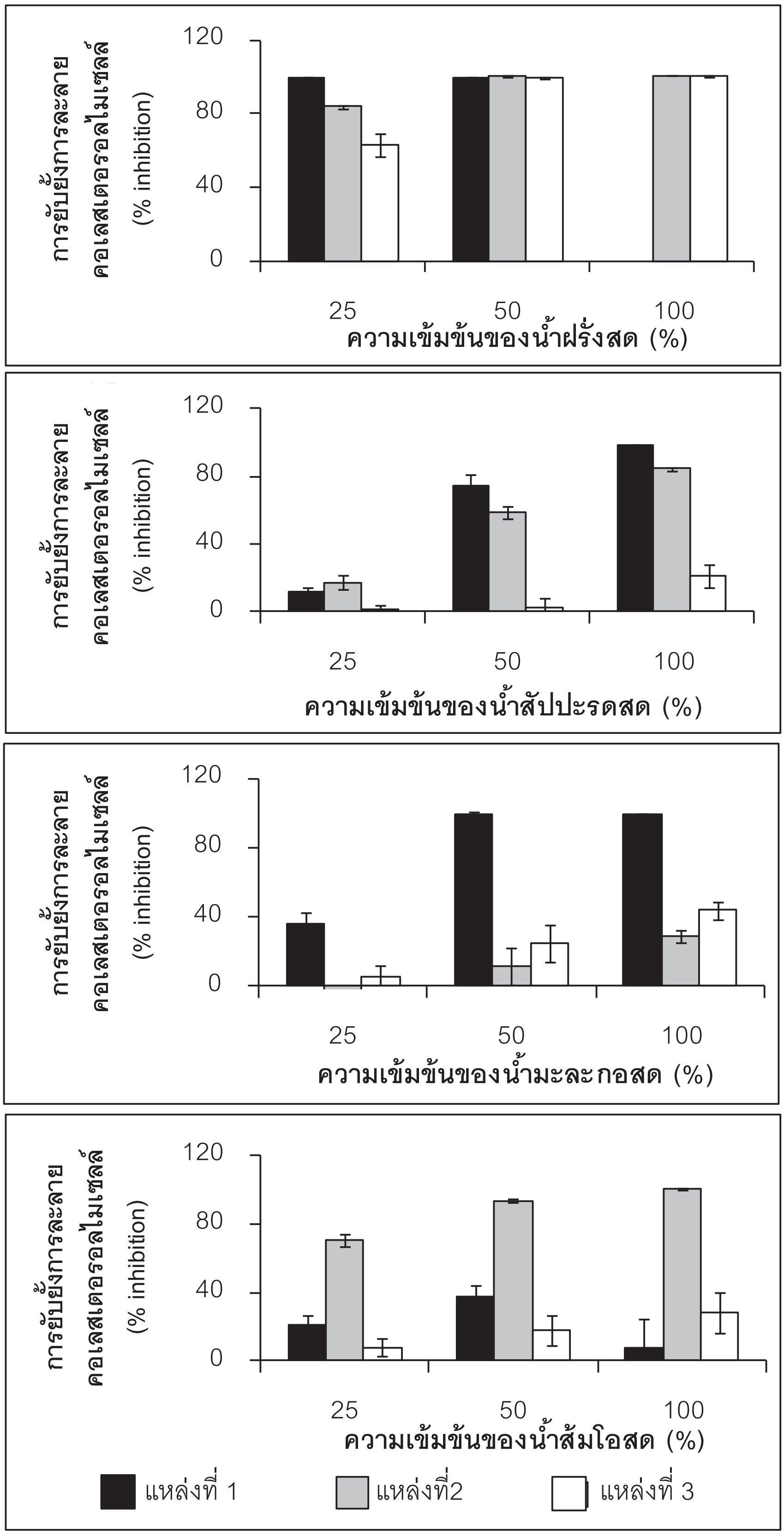
ในการทดลองนี้ ได้ทำการเตรียม mixed lipid micelles ตามวิธีที่กล่าวไว้ข้างต้น จากนั้นจะทำการผสมกับน้ำผลไม้คั้นสดที่ความเข้มข้นต่างๆ ในที่นี้ได้ทดสอบ 3 ความเข้มข้น คือ 25, 50 และ 100% ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 20 พบว่า น้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ โดยการยับยั้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (dose-dependent) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลไม้ 4 ชนิด น้ำฝรั่งและส้มโอคั้นสดให้ผลยับยั้งได้ดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 25% ก็สามารถยับยั้งได้สูงถึง 80% และที่ความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ (100%) ในขณะที่ความเข้มข้นสูงสุด (100% น้ำคั้นสด) ของน้ำคั้นสดจากสัปปะรดสามารถยับยั้งได้สูง (80%) แต่เมื่อลดความเข้มข้นลงเหลือ 25% ความสามารถในยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์เหลือเพียง 20% ส่วนน้ำคั้นสดจากมะละกอแสดงฤทธิ์ยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์น้อยที่สุด โดยที่ความเข้มข้นสูงสุด (100% น้ำคั้นสด) ยับยั้งเพียงประมาณ 30% อย่างไรก็ตามการทดลองนี้เป็นผลมาจากผลไม้เพียง 1 แหล่ง เพียงยืนยันผลการทดลอง ผู้วิจัยได้ทดสอบฤทธิ์ดังกล่าวนี้ โดยทดสอบเปรียบเทียบกันของน้ำคั้นสดจากผลไม้ 3 แหล่ง (รูปที่ 21) ซึ่งพบว่าผลไม้จากต่างแหล่งแสดงฤทธิ์ยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ได้แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะสัปปะรด มะละกอ และส้มโอ ส่วนฝรั่งมีค่าแตกต่างกันไม่มากนัก อาจเนื่องมาจากน้ำคั้นฝรั่งที่ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองนี้ แสดงฤทธิ์การยับยั้งได้ดีมากอยู่แล้ว และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของผลไม้จากค่าเฉลี่ย 3 แหล่ง (รูปที่ 22 A) พบว่า ชนิด น้ำฝรั่งคั้นสดให้ผลยับยั้งได้ดีที่สุด แม้ที่ความเข้มข้น 25% ก็สามารถยับยั้งได้สูงถึง 80% และที่ความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ (100%) น้ำคั้นสดจากสัปปะรด ส้มโอ และมะละกอให้ค่าการยับยั้งไม่ต่างกันมากนัก โดยที่ความเข้มข้นสูงสุด (100% น้ำคั้นสด) สามารถยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ได้ประมาณ 50%

สำหรับผลการทดสอบฤทธิ์ของน้ำผลไม้ผงแห้งในการยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ แสดงดังรูปที่ 23, 24 และ 22 B ซึ่งไม่แตกต่างจากผลของน้ำผลไม้คั้นสดมากนัก คือ ฝรั่งมีฤทธิ์สูงสุด และความแตกต่างของแหล่งที่มาของผลไม้ก็แสดงฤทธิ์ที่แตกต่างกัน

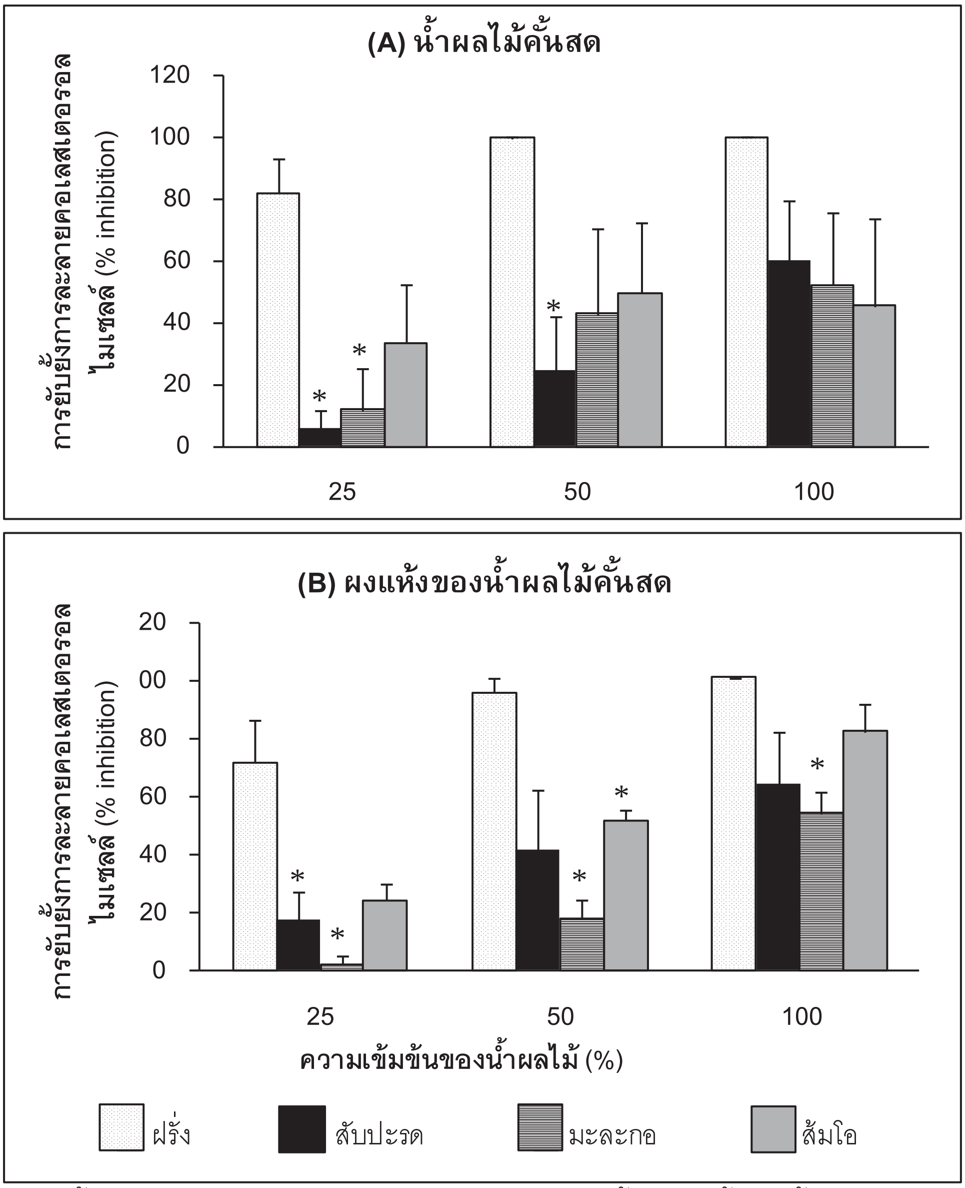
เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำผลไม้คั้นสดและน้ำผลไม้ผงแห้ง (รูปที่ 25) ซึ่งเป็นผลไม้ที่มาจากแหล่งเดียวกัน พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ไม่แตกต่างกันมากนัก ยกเว้นสัปปะรด ที่น้ำผลไม้ผงแห้งสามารถยับยั้งได้ดีกว่าน้ำผลไม้คั้นสด



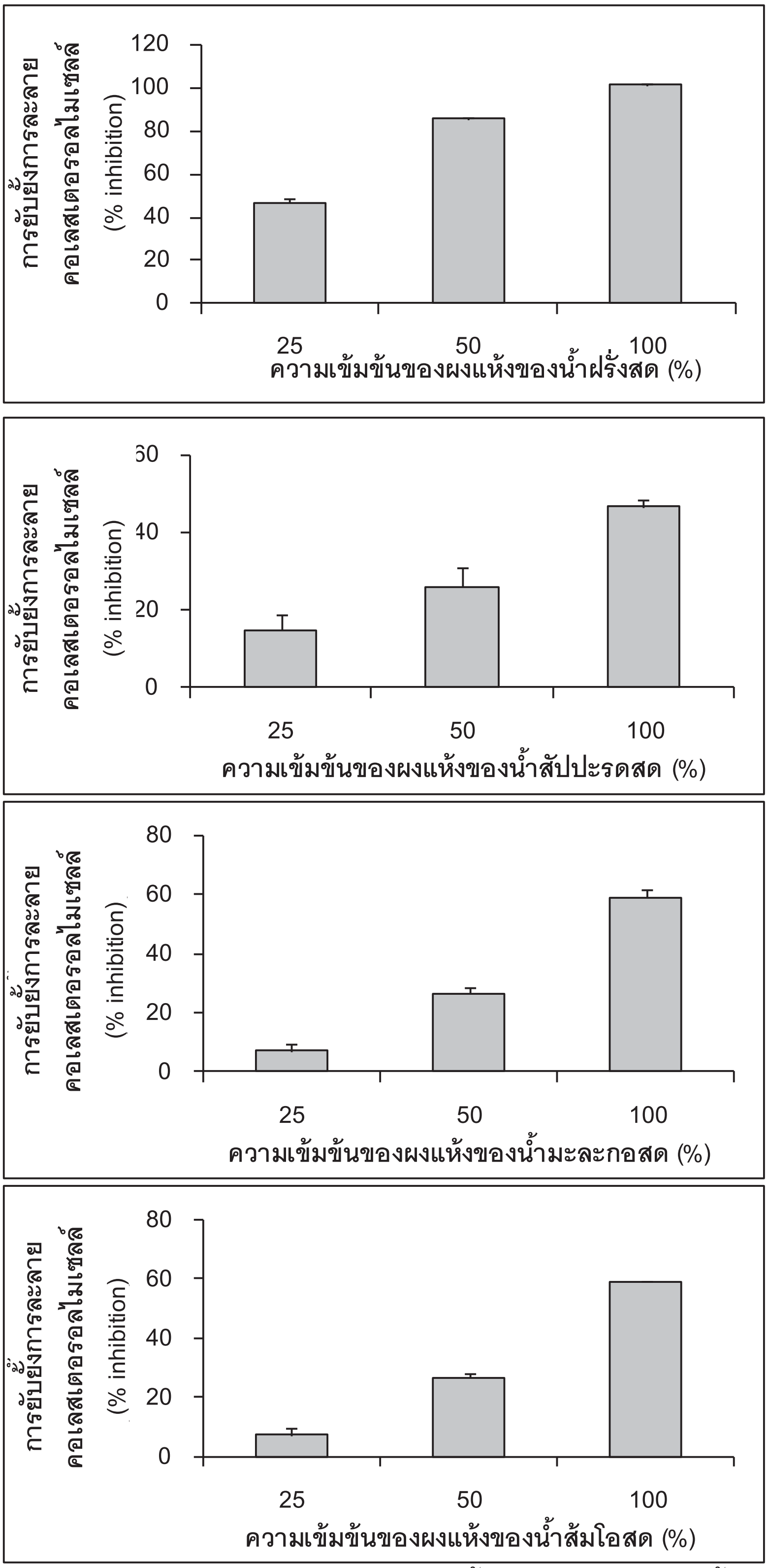

**รูปที่ 20** การยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้คั้นสด ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 2) ซึ่งทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate)



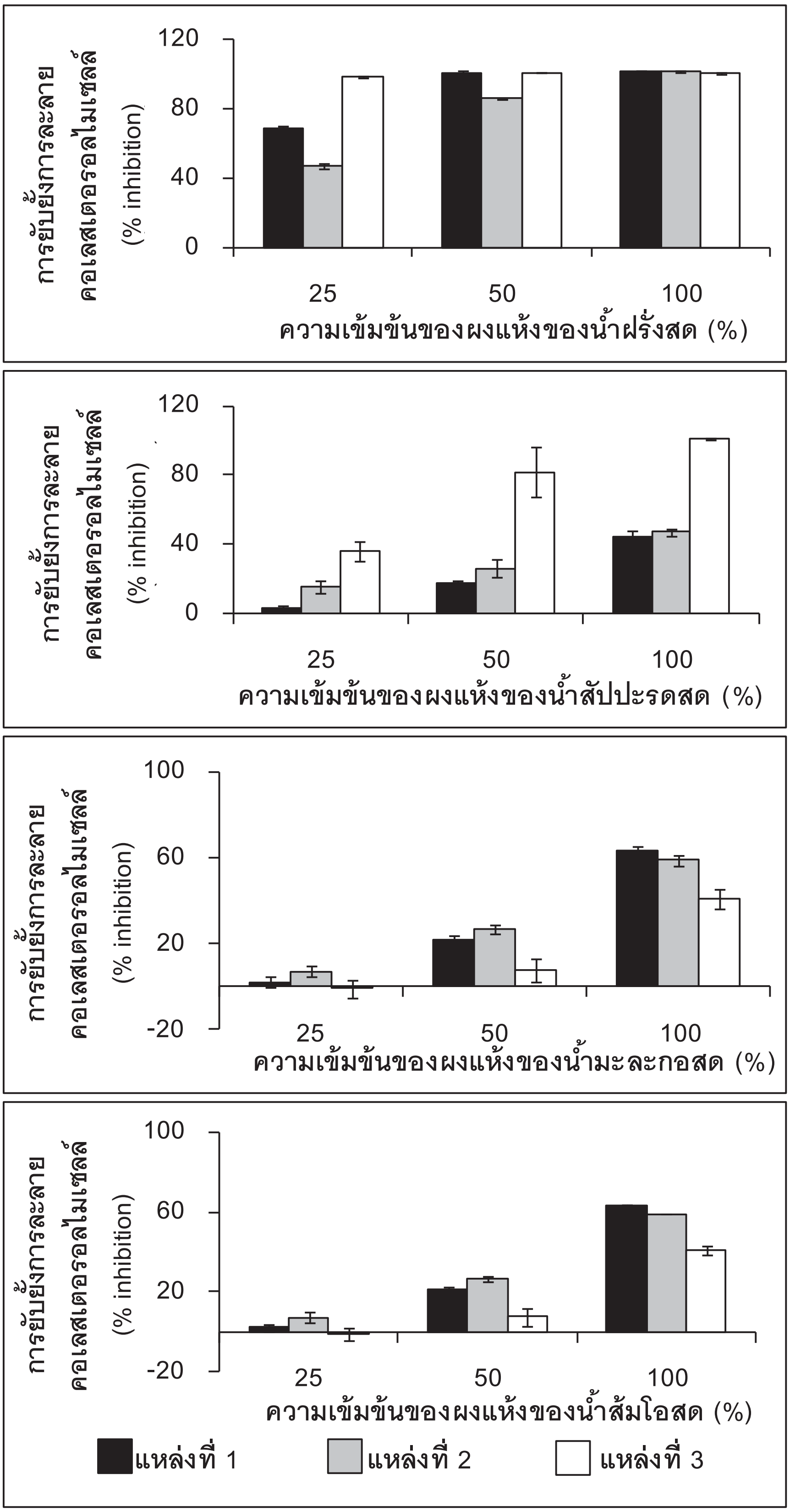

**รูปที่ 21** การยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้คั้นสดจาก 3 แหล่ง (แหล่งที่ 1, 2 และ 3) ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate)



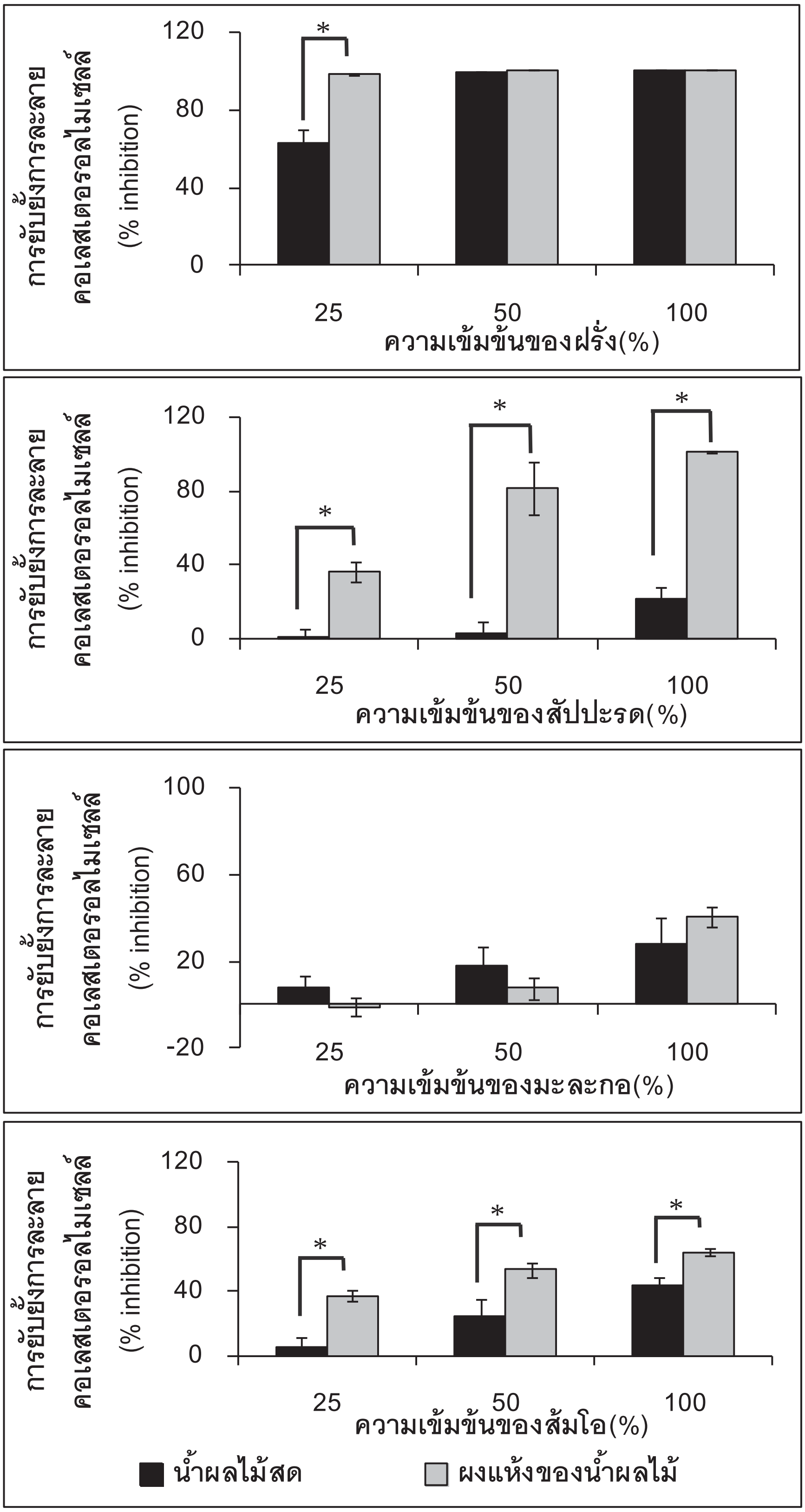

**รูปที่ 22** การยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ทดสอบน้ำผลไม้คั้นสด (A) และผงแห้งของน้ำผลไม้คั้นสด (B) ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 3 แหล่ง (แหล่งที่ 1, 2 และ 3) ซึ่งแต่ละแหล่งทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) โดย * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับฝรั่งที่ความเข้มข้นเดียวกัน




**รูปที่ 23** การยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้ผงแห้ง เติมน้ำในน้ำผลไม้ผงแห้งให้เท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำผลไม้คั้นสด จากนั้นทดสอบที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด โดยแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากผลไม้ 1 แหล่ง (แหล่งที่ 3) ซึ่งทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate)




**รูปที่ 24** การยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ของน้ำผลไม้ผงแห้งจาก 3 แหล่ง (แหล่งที่ 1, 2 และ 3) เติมน้ำในน้ำผลไม้ผงแห้งให้เท่ากับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำผลไม้คั้นสด จากนั้นทดสอบที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% เช่นเดียวกับน้ำผลไม้คั้นสด โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate)




**รูปที่ 25** เปรียบเทียบฤทธิ์ของน้ำผลไม้ในรูปคั้นสดและผงแห้งในการยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 100% ของผลไม้ที่มาจากแหล่งเดียวกัน (แหล่งที่ 3) โดยทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (triplicate) โดย * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลไม้ในรูปคั้นสดและผงแห้งที่ความเข้มข้นเดียวกัน

## วิจารณ์ผลการทดลอง (Discussion)

ไขมันจัดเป็นสารอาหารที่ให้พลังสูงและจำเป็นต่อร่างกาย นอกจากนี้ยังเป็นส่วนประกอบสำคัญของเซลล์สิ่งมีชีวิตและเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมน แต่การบริโภคอาหารประเภทไขมันที่มากเกินความต้องการของร่างกายนอกจากจะทำให้เกิดโรคอ้วนแล้วยังเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคทางหลอดเลือดและหัวใจ (Williams *et al.*, 2008) ในปัจจุบัน จึงมีการศึกษาวิจัยเพิ่มมากขึ้น เพื่อค้นหาวิธีการที่จะสามารถลดความเสี่ยงของการเกิดโรคที่มาจากการรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสม มีการศึกษาพบว่า ผลไม้หลายชนิดสามารถลดระดับไขมันในเลือดได้ เช่น แอปเปิ้ล (Alvarez-Parrilla et al., 2010), ส้ม (Miceli et al., 2007), grapefruit (Daher *et al.*, 2005) เป็นต้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาศักยภาพของน้ำผลไม้ในการลดการย่อยอาหารไขมัน โดยทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase และการละลายของคอเลสเตอรอลใน micelles โดยเลือกทดสอบผลไม้ 4 ชนิด ได้แก่ ฝรั่ง (แป้นสีทอง) สัปปะรด (ภูเก็ต) ส้มโอ (ขาวแตงกวา) และมะละกอ (ฮอลแลนด์) ซึ่งเป็นผลไม้ที่นิยมรับประทานหลังมื้อ

ในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ได้ประสบกับปัญหาในเรื่องระยะเวลาในการทดลอง ทั้งจากเรื่องการรบกวนปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้จึงทำให้ต้องทำการทดลองในส่วนนี้ใหม่ และข้อจำกัดของตัวอย่างซึ่งต้องการทดสอบให้อยู่รูปน้ำผลไม้คั้นสด (freshly preparation) จึงทำให้ไม่สามารถใช้ผลไม้จากแหล่งที่มาเดียวกันเปรียบเทียบระหว่างน้ำผลไม้คั้นสดและผงแห้งของน้ำผลไม้คั้นสดได้ทั้ง 3 แหล่ง แต่อย่างไรก็ตามได้นำข้อมูลจากผลไม้แหล่งที่ 4 เป็นตัวอย่างในการเปรียบเทียบระหว่างน้ำผลไม้คั้นสดและผงแห้งของน้ำผลไม้คั้นสด ซึ่งจากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิดพบว่า น้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ ซึ่งน้ำมะละกอและฝรั่งให้ผลยับยั้งได้ดีที่สุดทั้งในรูปแบบของน้ำคั้นสดและผงแห้งน้ำคั้นสด มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสารในกลุ่มฟีนอลิกในผลไม้หลายชนิดต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase McDougall และคณะ พบว่าสารฟีนอลิกในผลไม้ตระกูล Berry หลายชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ เช่น raspberry, arctic bramble, cloudberry และ strawberry (McDougall *et al.*, 2009) และนอกจากนี้ Sugiyama และคณะ ยังพบว่า oligomeric procyanidins เป็นสารฟีนอลิกสำคัญที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ pancreatic lipase (Sugiyama *et al.*, 2007) ในการวิจัยครั้งนี้ได้ตรวจพบสารฟีนอลิกในน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ซึ่งพบในน้ำฝรั่งมากที่สุด และยังพบ lutein ในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด โดยเฉพาะฝรั่งและส้มโอ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำฝรั่งมี quercitin ในปริมาณสูง (140 ng/g ของน้ำหนักสดของผลไม้) ดังนั้นฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิดอาจเกี่ยวข้องกับเกี่ยวข้องกับสารฟีนอลิกเหล่านี้ ซึ่งต้องมีการทดสอบเพื่อหาผลที่ชัดเจนต่อไป

มีรายงานว่าการรบกวนการละลายของคอเลสเตอรอลใน lipid micelles ส่งผลลดการดูดซึมไขมันจากอาหาร ซึ่งพบว่าโปรตีนจากพืชบางชนิด เช่น ถั่วเหลือง เมล็ดดอกทานตะวัน และ buckwheat มีผลลด micellar cholesterol solubility และทำให้การดูดซึมโคเลสเตอรอลในเซลล์เพาะเลี้ยงและระดับโคเลสเตอรอลในเลือดของสัตว์ทดลองลดลง (Megías *et al.*, 2009; Metzger *et al.*, 2007; Nagaoka *et al.*, 1999) ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะทำการศึกษาฤทธิ์ของผลไม้ไทยทั้ง 4 ชนิดนี้ ต่อการเปลี่ยนแปลงของ micellar cholesterol solubility จากผลการทดสอบพบว่า น้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิดสามารถลดการละลายของคอเลสเตอรอลใน lipid micelles ได้ ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่าน้ำฝรั่งมีฤทธิ์ที่เด่นชัดที่สุด (~100% inhibition) และแม้ที่ความเข้มข้น 25% ของน้ำฝรั่ง ก็สามารถยับยั้ง micellar cholesterol solubility ได้ถึง 80% ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้รายงานถึงผลในการลดระดับไขมันในเลือดของสัตว์ทดลองที่ได้รับสารสกัดจากฝรั่ง (Basumulik, 1994; Singh *et al.*, 1992) ดังนั้นจากผลการทดลองครั้งนี้นอกจากจะแสดงฤทธิ์ในการลดระดับไขมันของฝรั่งแล้ว ยังสนับสนุนว่าควรรับประทานน้ำฝรั่งหรือฝรั่งพร้อมๆ กับการรับประทานอาหาร เพื่อลดการย่อยและการดูดซึมไขมัน และนอกจากนี้อาจเป็นแนวทางหนึ่งในการศึกษากลไกการลดระดับไขมันของฝรั่งต่อไป

จากผลการวิจัยนี้ เป็นหลักฐานในการสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ถึงศักยภาพของผลไม้ไทยทั้ง 4 ชนิด ซึ่งเป็นเพียงตัวอย่างของผลไม้ไทยที่เลือกนำมาทำการทดสอบ ทั้งนี้ผู้วิจัยคาดว่าน่าจะยังมีผลไม้ไทยอีกหลายชนิดที่มีฤทธิ์รบกวนการย่อยไขมันและมีผลลดการดูดซึมไขมันจากทางดินอาหารได้ โดยเป็นการลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูงหรือโรคอ้วนได้ ซึ่งช่วยส่งเสริมสุขภาพในเชิงของการป้องกันโรค ผลการทดลองนี้จึงเป็นการส่งเสริมให้มีการบริโภคผลไม้ก่อนหรือหลังอาหารเป็นประจำ เพื่อให้ประชาชนมีสุขภาพที่ดีขึ้น จึงเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพของประชาชนได้ในอนาคต

## สรุปผลการผลลอง (Conclusions)

จากผลการวิจัยพบว่าน้ำผลไม้ทุกชนิดสามารถยับยั้ง pancreatic lipase ได้โดยฤทธิ์นี้นั้นขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำผลไม้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ฝรั่งและมะละกอแสดงผลการยับยั้ง pancreatic lipase ได้ดีที่สุด ในทำนองเดียวกันน้ำผลไม้ทุกชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลใน micelles โดยขึ้นกับความเข้มข้น และน้ำฝรั่งแสดงฤทธิ์นี้ได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบน้ำผลไม้คั้นสดกับน้ำผลไม้ผงแห้ง สารตัวอย่างทั้งสองแบบแสดงฤทธิ์ที่แตกต่างกันบ้าง โดยเฉพาะมะละกอ แต่ไม่สามารถสรุปเป็นรูปแบบของความแตกต่างที่ชัดเจนได้ นอกจากนี้ แหล่งของผลไม้ยังมีผลต่อการแสดงฤทธิ์ที่แตกต่างกันได้ ผลการทดลองทั้งหมดที่ได้จากการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่า น้ำผลไม้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase และยังยั้งการละลายของคอเลสเตอรอลใน micelles ซึ่งสื่อไปถึงความสามารถในการยับยั้งการย่อยอาหารไขมัน ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้เมื่อรับประทานอาหารไขมันร่วมกับผลไม้เหล่านี้ ซึ่งการรับประทานผลไม้อาจไม่จำเป็นต้องเป็นผลไม้สด น้ำผลไม้ที่มีการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหรือน้ำผลไม้เข้มข้นชนิดแช่แข็งก็อาจมีประโยชน์ในการยังยั้งการย่อยอาหารไขมันเช่นกัน ดังนั้นจึงควรส่งเสริมและสนับสนุนให้มีการรับประทานผลไม้ระหว่างหรือหลังอาหารเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะฝรั่ง ซึ่งแสดงศักยภาพในการรบกวนการย่อยอาหารไขมันได้ดีที่สุด ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อการควบคุมน้ำหนักตัว รวมทั้งยังเป็นการป้องกันโรคหลอดเลือดและหัวใจที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับการรับประทานอาหารไขมันสูงได้

## เอกสารอ้างอิง (References)


Alvarez-Parrilla E, De La Rosa LA, Legarreta P, Saenz L, Rodrigo-García J, González-Aguilar GA (2010). Daily consumption of apple, pear and orange juice differently affects plasma lipids and antioxidant capacity of smoking and non-smoking adults. *Int J Food Sci Nutr* **61**(4)**:** 369-380.

Basumulik AK (1994). Changes in serum lipid profile in atherosclerotic rats on feeding guava pulp and isabgol (Plantago ovata Forsk.) powder. *Pathophysiology* **1**(2)**:** 113-116.

Birari RB, Bhutani KK (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discov Today* **12**(19-20)**:** 879-889.

Daher CF, Abou-Khalil J, Baroody GM (2005). Effect of acute and chronic grapefruit, orange, and pineapple juice intake on blood lipid profile in normolipidemic rat. *Med Sci Monit* **11**(12)**:** BR465-472.

Knarreborg A, Jensen SK, Engberg RM (2003). Pancreatic lipase activity as influenced by unconjugated bile acids and pH, measured in vitro and in vivo. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **14**(5)**:** 259-265.

McDougall GJ, Kulkarni NN, Stewart D (2009). Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro. *Food Chemistry* **115**(1)**:** 193-199.

Megías C, Pedroche J, Del Mar Yust M, Alaiz M, Girón-Calle J, Millán F, *et al.* (2009). Sunflower protein hydrolysates reduce cholesterol micellar solubility. *Plant Foods Hum Nutr* **64**(2)**:** 86-93.

Metzger BT, Barnes DM, Reed JD (2007). Insoluble fraction of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) protein possessing cholesterol-binding properties that reduce micelle cholesterol solubility and uptake by Caco-2 cells. *J Agric Food Chem* **55**(15)**:** 6032-6038.

Miceli N, Mondello MR, Monforte MT, Sdrafkakis V, Dugo P, Crupi ML, *et al.* (2007). Hypolipidemic effects of Citrus bergamia Risso et Poiteau juice in rats fed a hypercholesterolemic diet. *J Agric Food Chem* **55**(26)**:** 10671-10677.

Nagaoka S, Miwa K, Eto M, Kuzuya Y, Hori G, Yamamoto K (1999). Soy protein peptic hydrolysate with bound phospholipids decreases micellar solubility and cholesterol absorption in rats and caco-2 cells. *J Nutr* **129**(9)**:** 1725-1730.

Nijjar PS, Burke FM, Bloesch A, Rader DJ (2010). Role of dietary supplements in lowering low-density lipoprotein cholesterol: A review. *J Clini Lipidol* **4**(4)**:** 248-258.

Salvayre R, Nègre A, Radom J, Douste-Blazy L (1986). Fluorometric assay for pancreatic lipase. *Clinical Chemistry* **32**(8)**:** 1532-1536.

Singh RB, Rastogi SS, Singh R, Ghosh S, Niaz MA (1992). Effects of guava intake on serum total and high-density lipoprotein cholesterol levels and on systemic blood pressure. *The American Journal of Cardiology* **70**(15)**:** 1287-1291.

Slanc P, Doljak B, Kreft S, Lunder M, Janes D, Strukelj B (2009). Screening of selected food and medicinal plant extracts for pancreatic lipase inhibition. *Phytother Res* **23**(6)**:** 874-877.

Sugiyama H, Akazome Y, Shoji T, Yamaguchi A, Yasue M, Kanda T, *et al.* (2007). Oligomeric Procyanidins in Apple Polyphenol Are Main Active Components for Inhibition of Pancreatic Lipase and Triglyceride Absorption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**(11)**:** 4604-4609.

Williams L, Wilkins L (2008). *Principles of pharmacology: The pathophysiology basis of drug therapy*. 2 edn: The United States of America: Quebecor Word-Verailles.

Young SC, Hui DY (1999). Pancreatic lipase/ colipase-mediated triacylglycerol hydrolysis is required for cholesterol transport from lipid emulsions to intestinal cells. *339*, 615-620. *Biochem J* **339**(615-20).

## การนำเสนอผลงานวิจัย

| | |
|---|---|
| ชื่องานประชุม | III International Symposium on Medicinal and Nutraceutical Plants & III Conference of National Institute of Science & Technology for Tropical Fruits |
| ประเภทของการนำเสนอ | Oral presentation |
| สถานที่ | Aracaju, Convention Center Sergipe, Brazil |
| วันเวลา | 14-19 ตุลาคม 2555 |

<u>หมายเหตุ</u> คณะผู้วิจัยอยู่ระหว่างการดำเนินการเขียน manuscript เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารระดับนานาชาติ หรือระดับชาติ เมื่อผลงานได้รับการตีพิมพ์ ผู้วิจัยจะรายงานให้ทางผู้ให้ทุนสนับสนุนทราบต่อไป

## Thai Fruit Juice: Preparation and Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase and Micellar Cholesterol Solubility

Kanittaporn Trisat[1], Nanteetip Limpeanchob[1], and Anan Ounaroon[2]
[1]Department of Pharmacy Practice and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Pharmacological Research Unit, [2]Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand
ananounaroon@yahoo.com

**Keywords:** Fruit juice, Pancreatic lipase, Micellar cholesterol solubility, Cholesterol

### Abstract

Obesity causes several abnormal metabolic syndromes such as hypertension, diabetes, hyperlipidemia which develop to be cardiovascular disease. High fat consumption has been identified as one of the critical factors leading to obesity. Lipid digestion and absorption processes through small intestine depend on pancreatic lipase hydrolysing triacylglycerols to β-monoacylglyceride and fatty acids which then are combined with biles to form lipid micelles before getting absorbed. For people who drug therapy is not yet necessary, lipid levels could be controlled by consuming low fat diet. However, restriction of diet is difficult for most people. Therefore, an alternative dietary intervention is received special attention. This study aimed to investigate the potential of fruit juices to reduce lipid digestion through testing their inhibitory activities against pancreatic lipase and micellar cholesterol solubility. Four types of fruits; guava (Pan-see-thong), pineapple (Phuket), pomelo (Khao-tang-kwa) and papaya (Holland), widely consumed after meal in Thailand was selected for the study. Both effects were determined with freshly prepared juices in comparison with frozen juices. In addition, three different sources of each fruit were studied. The result showed that all four types of fruit juices dose-dependently inhibited pancreatic lipase activity. Guava showed the highest inhibitory activity among all tested fruits. All four fruit juices also reduced the solubility of cholesterol in lipid micelles in a dose-dependent pattern. Guava juice again most effectively reduced micellar cholesterol solubility. Freshly prepared and frozen juices were not different by these two measurements. However, sources of fruit show differences in these activities. The results from this study suggest that fruit juices can inhibit pancreatic lipase activity and micellar cholesterol solubility, implying that ingesting of these fruits may potentially inhibit intestinal lipid digestion and consequently being helpful for weight control.

## ภาคผนวก

**ตารางที่ 1** ปริมาณ kaempferol, quercetin และ lutein ในสารสกัดน้ำผลไม้สด

| ตัวอย่างผลไม้ | ปริมาณ (μg/ml) | | |
|---|---|---|---|
| | **kaempferol** | **quercetin** | **lutein** |
| ฝรั่ง | ND | ND | ND |
| สัปปะรด | ND | ND | < 0.1 |
| ส้มโอ | ND | ND | < 0.1 |
| มะละกอ | ND | ND | < 0.1 |

ND-not detectable

**ตารางที่ 2** ปริมาณ kaempferol, quercetin และ lutein ในตัวอย่างน้ำผลไม้ผงแห้ง

| ตัวอย่างผลไม้ | ปริมาณ (μg/ml) | | |
|---|---|---|---|
| | **kaempferol** | **quercetin** | **lutein** |
| ฝรั่ง | ND | ND | ND |
| สัปปะรด | ND | ND | ND |
| ส้มโอ | ND | ND | ND |
| มะละกอ | ND | ND | ND |

ND-not detectable

**ตารางที่ 3** Peak area of standard kaempferol determined by HPLC at wavelength 370 nm

| **Conc. (μg/mL)** | **1** | **2** | **3** | **Mean** | **SD** |
|---|---|---|---|---|---|
| 0.5 | 27575<br>27802 | 30345<br>28252 | 27335<br>26752 | 28010.2 | 1161.4 |
| 1.0 | 59591<br>59941 | 55796<br>54936 | 57203<br>56901 | 57394.7 | 2219.9 |
| 5.0 | 335223<br>330854 | 308581<br>307444 | 306098<br>304415 | 315435.8 | 15306.5 |
| 10.0 | 750234<br>734714 | 643456<br>644425 | 632675<br>659478 | 677497.0 | 56281.9 |
| 25.0 | 1761507<br>1777245 | 1655344<br>1616441 | 1604932<br>1583100 | 1666428.2 | 91581.1 |

**ตารางที่ 4** Peak area of standard quercetin determined by HPLC at wavelength 370 nm

| **Conc. (μg/mL)** | **1** | **2** | **3** | **Mean** | **SD** |
|---|---|---|---|---|---|
| 0.5 | 25759<br>25181 | 30121<br>29552 | 28290<br>26843 | 27624.3 | 2183.8 |
| 1.0 | 58356<br>57588 | 62732<br>62719 | 55638<br>57046 | 59013.2 | 3316.7 |
| 5.0 | 320654<br>318746 | 337845<br>336620 | 297862<br>299032 | 318459.8 | 19422.5 |
| 10.0 | 710929<br>696922 | 746260<br>751887 | 641840<br>624319 | 695359.5 | 58469.5 |
| 25.0 | 1688956<br>1728310 | 1813610<br>1828237 | 1543671<br>1561884 | 1694111.3 | 134661.5 |

**ตารางที่ 5** Peak area of standard lutein determined by HPLC at wavelength 446 nm

| Conc. (µg/mL) | 1 | 2 | 3 | Mean | SD |
|---|---|---|---|---|---|
| 0.1 | 18766<br>19603 | 22662<br>20924 | 19183<br>18230 | 19894.7 | 1661.3 |
| 0.5 | 84914<br>87133 | 103453<br>104824 | 96483<br>97734 | 95756.8 | 9132.8 |
| 1.0 | 178410<br>184743 | 186232<br>187684 | 192460<br>188880 | 186401.5 | 4572.2 |
| 5.0 | 973259<br>942285 | 1091834<br>1070821 | 1009131<br>1058584 | 1024319.0 | 62327.6 |
| 10.0 | 1966370<br>1987482 | 2163947<br>2195234 | 2182382<br>2134227 | 2104940.3 | 111373.4 |

**ตารางที่ 6** การวิเคราะห์หาปริมาณ quercetin ในสารสกัดผลฝรั่ง ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate

| น้ำหนัก ฝรั่งสด (g) | น้ำหนัก crude extrace (g) | นน.ที่ชั่ง (mg) | peak area | ความเข้มข้นของสารสกัดผลฝรั่ง (µg/ml)* |
|---|---|---|---|---|
| 50.00 | 0.0467 | 10.00 | 1010942 | 14.920 |
| | | | 1056541 | 15.588 |
| | | 10.08 | 1004590 | 14.827 |
| | | | 1046719 | 15.444 |
| | | 9.96 | 973830 | 14.377 |
| | | | 990290 | 14.618 |

* คำนวณโดยการแทนค่าในสมการ

y=68,280.6958x-7,816.1418

หมายเหตุ : ไม่พบ Quercetin ใน มะละกอ,สับปะรด และ ส้มโอ

**ตารางที่ 7** การวิเคราะห์หาปริมาณ kaempferol.ในสารสกัดผลฝรั่ง ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate

| น้ำหนัก ฝรั่งสด (g) | น้ำหนัก crude extrace (g) | นน.ที่ชั่ง (mg) | peak area | ความเข้มข้นของสาร สกัดผลฝรั่ง (μg/ml)* |
|---|---|---|---|---|
| 50.00 | 0.0467 | 10.00 | 12171 | - |
| | | | 11917 | - |
| | | 10.08 | 10509 | - |
| | | | 10107 | - |
| | | 9.96 | 8359 | - |
| | | | 6255 | - |

* เนื่องจากค่า peak area ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ไม่อยู่ในช่วงของ calibration curve ที่เตรียมขึ้น จึงไม่นำไปแทนค่าในสมการของสารมาตรฐาน

หมายเหตุ : ไม่พบ kaempferol ใน มะละกอ,สับปะรด และ ส้มโอ

**ตารางที่ 8** การวิเคราะห์หาปริมาณ lutein ในสารสกัดผลฝรั่ง ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate

| น้ำหนัก ฝรั่งสด (g) | น้ำหนัก crude extrace (g) | นน.ที่ชั่ง (mg) | peak area | ความเข้มข้นของสาร สกัดผลฝรั่ง (μg/ml)* |
|---|---|---|---|---|
| 50.00 | 0.0467 | 10.00 | 52484 | 0.3169 |
| | | | 53365 | 0.3211 |
| | | 10.08 | 55315 | 0.3303 |
| | | | 56784 | 0.3373 |
| | | 9.96 | 50005 | 0.3052 |
| | | | 49709 | 0.3038 |

* คำนวณโดยการแทนค่าในสมการ

$$y=211,043.3290x-14,401.3855$$

**ตารางที่ 9** การวิเคราะห์หาปริมาณ lutein ในสารสกัดผลส้มโอ ที่สกัดด้วย 70% ethanol แล้ว partition ด้วย ethyl acetate

| น้ำหนักส้มโอ (g) | น้ำหนัก crude extrace (g) | นน.ที่ชั่ง (mg) | peak area | ความเข้มข้นของสารสกัดผลฝรั่ง (μg/ml)* |
|---|---|---|---|---|
| 50.12 | 0.1547 | 10.05 | 20798 | 0.1668 |
| | | | 22572 | 0.1752 |
| | | 10.01 | 28285 | 0.2023 |
| | | | 30298 | 0.2118 |
| | | 10.02 | 25040 | 0.1869 |
| | | | 26183 | 0.1923 |

* คำนวณโดยการแทนค่าในสมการ

$$y=211,043.3290x-14,401.3855$$

หมายเหตุ เนื่องจากค่า peak area ของตัวอย่างสารสกัดจากผลมะละกอและผลส้มโอไม่อยู่ในช่วงของ calibration curve ที่เตรียมขึ้น จึงไม่นำไปแทนค่าในสมการของสารมาตรฐาน

**ตารางที่ 10** แสดงค่าของ Quercetin ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน (standard) ในการคำนวณปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ (Total flavonoid content)

| Sample | OD 415 nm | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | mean | mean-blank |
| 10%DMSO | 0.0470 | 0.0440 | 0.0455 | 0.0000 |
| 1.5625mg/L Quercetin | 0.1290 | 0.1440 | 0.1365 | 0.0910 |
| 3.125mg/L Quercetin | 0.1890 | 0.2090 | 0.1990 | 0.1535 |
| 6.25mg/L Quercetin | 0.2790 | 0.2810 | 0.2800 | 0.2345 |
| 12.5mg/L Quercetin | 0.5050 | 0.5380 | 0.5215 | 0.4760 |
| 25mg/L Quercetin | 0.9010 | 0.9850 | 0.9430 | 0.8975 |
| 50mg/L Quercetin | 1.6630 | 1.8120 | 1.7375 | 1.6920 |

**ตารางที่ 11** แสดงค่าของ Gallic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน (standard) ในการคำนวณปริมาณของสารฟีนอลิก (Total phenolic content)

| Sample | OD 750 nm | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | mean | mean-blank |
| 10%MeOH | 0.0490 | 0.0510 | 0.0570 | 0.0523 | 0.0000 |
| 3.125mg/L gallic acid | 0.2940 | 0.3060 | 0.2980 | 0.2993 | 0.2470 |
| 6.25mg/L gallic acid | 0.5280 | 0.5750 | 0.5570 | 0.5533 | 0.5010 |
| 12.5mg/L gallic acid | 1.0600 | 1.0350 | 1.1150 | 1.0700 | 1.0177 |
| 25mg/L gallic acid | 2.2060 | 2.1520 | 2.1540 | 2.1707 | 2.1184 |

**ตารางที่ 12** แสดงปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic content) ในน้ำผลไม้สด

| **Sample** | **ปริมาณสารฟีนอลิก (mg ของ Gallic acid equivalent/L น้ำผลไม้)** | | | | **SEM** |
|---|---|---|---|---|---|
| | **แหล่งที่ 3** | **แหล่งที่ 4** | **แหล่งที่ 5** | mean | |
| ฝรั่ง | 31.85 | 37.36 | 34.87 | 34.69 | 1.59 |
| ส้มโอ | 8.71 | 9.10 | 9.54 | 9.12 | 0.24 |
| มะละกอ | 10.85 | 10.09 | 10.38 | 10.44 | 0.22 |
| สัปปะรด | 8.13 | 10.33 | 9.62 | 9.36 | 0.65 |

**ตารางที่ 13** แสดงปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic content) ในผลไม้ คำนวณจากน้ำผลไม้สด

| **Sample** | **ปริมาณสารฟีนอลิก (mg ของ Gallic acid equivalent/100 g เนื้อผลไม้)** | | | | **SEM** |
|---|---|---|---|---|---|
| | **แหล่งที่ 3** | **แหล่งที่ 4** | **แหล่งที่ 5** | mean | |
| ฝรั่ง | 9.10 | 10.67 | 11.62 | 10.47 | 0.74 |
| ส้มโอ | 0.50 | 0.62 | 1.74 | 0.95 | 0.39 |
| มะละกอ | 0.72 | 1.68 | 1.73 | 1.38 | 0.33 |
| สัปปะรด | 0.68 | 1.95 | 1.92 | 1.52 | 0.42 |

**ตารางที่ 14** แสดงปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic content) ในผงแห้งของน้ำผลไม้

| **Sample** | **ปริมาณสารฟีนอลิก (mg ของ Gallic acid equivalent/L น้ำผลไม้)** | | | | **SEM** |
|---|---|---|---|---|---|
| | **แหล่งที่ 1** | **แหล่งที่ 2** | **แหล่งที่ 4** | mean | |
| ฝรั่ง | 34.53 | 35.13 | 35.96 | 35.21 | 0.41 |
| ส้มโอ | 11.76 | 10.67 | 10.67 | 11.03 | 0.36 |
| มะละกอ | 11.12 | 10.31 | 10.31 | 10.58 | 0.27 |
| สัปปะรด | 10.31 | 9.39 | 10.49 | 10.07 | 0.34 |

**ตารางที่ 15** แสดงปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic content) ในผลไม้ คำนวณจากผงแห้งของน้ำผลไม้

| **Sample** | **ปริมาณสารฟีนอลิก (mg ของ Gallic acid equivalent/100 g เนื้อผลไม้)** | | | | **SEM** |
|---|---|---|---|---|---|
| | **แหล่งที่ 1** | **แหล่งที่ 2** | **แหล่งที่ 4** | mean | |
| ฝรั่ง | 11.51 | 7.17 | 10.27 | 9.65 | 1.29 |
| ส้มโอ | 0.93 | 0.77 | 0.72 | 0.81 | 0.06 |
| มะละกอ | 1.18 | 1.49 | 1.72 | 1.46 | 0.15 |
| สัปปะรด | 1.09 | 0.43 | 1.98 | 1.16 | 0.45 |

**การทดสอบเพื่อหาสารตั้งต้นและวิธีที่เหมาะสมในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase**

จากที่ได้รายงานว่าปัญหาของวิธีการวิเคราะห์ pancreatic lipase ไว้ในรายงานความก้าวหน้ารอบ 6 เดือน ในการทดลองส่วนนี้คณะผู้วิจัยจึงได้เปลี่ยนสารตั้งต้นหรือ substrate จากเดิมที่ใช้ 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate) เปลี่ยนเป็น 1,2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เพราะเนื่องจากสังเกตเห็นความผิดปกติของผลการทดลองในการยับยั้ง pancreatic lipase ที่ได้ผลการยับยั้งดีใกล้เคียงกันของน้ำผลไม้และผงแห้งของน้ำผลไม้ทุกชนิด (แสดงไว้ในภาคผนวก ตารางที่ 16 และ 17) โดยเฉพาะความเข้มข้นที่ 100%, 50% และ 25% สามารถการยังยั้ง pancreatic lipase ได้ดีถึงเกือบ 100% ซึ่งแตกต่างจากที่คาดไว้ ต่อมาจึงได้พบว่าผลการทดลองที่ได้อาจไม่สามารถใช้เพื่อแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ได้ เนื่องจากผู้วิจัยคาดว่าน้ำผลไม้อาจมีผลรบกวนหรือยับยั้ง fluorescence ซึ่งจะทำให้ผลการทดลองที่ได้ไม่ใช่เป็นฤทธิ์ของน้ำผลไม้ในการยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase ที่แท้จริง เพราะจากหลักการเกิดปฏิกิริยาในการทดสอบการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase โดยใช้ 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate) เป็นสารตั้งต้นหรือ substrate เมื่อถูก pancreatic lipase ย่อยจะได้ผลิตภัณฑ์ คือ 4-methylumbelliferone ซึ่งเป็นสารเรืองแสง (fluorescence) การลดลงของสารเรืองแสงจึงเป็นการบ่งบอกการทำงานของ pancreatic lipase ที่ลดลง สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์นี้จะทำให้การเปลี่ยน substrate เป็นสารเรืองแสงลดลง ถ้าผลไม้ยับยั้งการเรืองแสงของ 4-methylumbelliferone โดยตรงก็จะทำให้เสมือนกับการมีฤทธิ์ยับยั้ง pancreatic lipase ได้ ผู้วิจัยจึงทำการทดสอบสมมติฐานนี้ ซึ่งแสดงไว้ในภาคผนวก ตารางที่ 18 และ 19 โดยเมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่ 30 นาที (มีค่า fluorescence เพิ่มขึ้น) หลังจากนั้นเติมน้ำผลไม้ลงไป พบว่าค่า fluorescence มีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัด ในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด รวมทั้งผงแห้งของน้ำผลไม้ก็แสดงผลรบกวน fluorescence ในลักษณะเดียวกัน

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงปรับวิธีการทดสอบ pancreatic lipase activity โดยใช้ p-nitrophenyl laurate และ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็น substrate และทำการทดสอบสมมติฐานของการรบกวนปฏิกิริยา พบว่าเมื่อเติมน้ำผลไม้ (ผงแห้งของน้ำผลไม้) ลงไป หลังจากปฏิกิริยาเกิดขึ้น 30 นาที ค่า absorbance และค่า fluorescence ยังคงลดลงอย่างเห็นได้ชัด (แสดงไว้ในภาคผนวก ตารางที่ 20 และ 21 ตามลำดับ) จากการทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าชนิดของสารตั้งต้นไม่ได้เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการรบกวนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อเติมน้ำผลไม้ จากการทดลองหลากหลายวิธี ในที่สุดผู้วิจัยพบว่าการรบกวนปฏิกิริยานี้มาจากการเปลี่ยนไปของค่า pH ในปฏิกิริยาเมื่อเติมน้ำผลไม้ เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase จะเกิดได้ดีเมื่อมีค่า pH เป็นเบสอ่อน (~pH 8) ซึ่งหากค่า pH ในปฏิกิริยาเปลี่ยนไปมากหรือน้อยกว่านี้จะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ (Knarreborg *et al.*, 2003) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลง pH จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ (product) ที่เกิดจากปฏิกิริยาถูกทำลายหรือเปลี่ยนสภาพไป ทำให้ไม่สามารถตรวจสอบได้ด้วยการดูดกลืนแสงหรือการเรืองแสง

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงทำการทดสอบสมมติฐานของการรบกวนปฏิกิริยา โดยปรับวิธีการทดสอบ pancreatic lipase activity โดยเพิ่มความเข้มข้นของ Tris ใน reaction buffer จากเดิมคือ 0.04 M เป็น 0.4 และ 0.8 M ให้มีความสามารถที่จะรักษาระดับ pH 8 ในปฏิกิริยามากขึ้น ในที่สุดจึงเลือก 0.8M Tris มาใช้เป็น Reaction buffer ในการทดสอบต่อไป นอกจากนี้ยังเลือกเฉพาะ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็น substrate เนื่องจากการทดลองโดยใช้ p-nitrophenyl laurate เป็น substrate ต้องใช้ pancreatic lipase ในขนาดสูงถึง 150 U/ml ซึ่งมากกว่าในการทดลองที่ใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็น substrate ถึง 10 เท่า และจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าวิธี fluormetric assay มีความ sensitive สูงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ (Salvayre *et al*., 1986)

**ตารางที่ 16** แสดงผลของน้ำผลไม้สดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้น (%) | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | แหล่งที่ 1 | แหล่งที่ 2 | แหล่งที่ 3 | mean | SEM |
| ฝรั่ง | 1.56 | 5.30 | -34.08 | -5.34 | -11.37 | 11.76 |
| | 3.13 | 1.59 | -7.60 | 34.90 | 9.63 | 12.91 |
| | 6.25 | 35.97 | 2.93 | 51.13 | 30.01 | 14.23 |
| | 12.50 | 56.10 | 18.48 | 76.72 | 50.43 | 17.05 |
| | 25.00 | 84.95 | 61.01 | 96.58 | 80.85 | 10.47 |
| | 50.00 | 100.34 | 94.74 | 99.65 | 98.24 | 1.76 |
| | 100.00 | 101.07 | 99.95 | 99.97 | 100.33 | 0.37 |
| สัปปะรด | 1.56 | -23.68 | -7.51 | 23.75 | -2.48 | 13.92 |
| | 3.13 | 32.26 | 16.52 | 40.02 | 29.60 | 6.91 |
| | 6.25 | 22.24 | 59.50 | 64.15 | 48.63 | 13.26 |
| | 12.50 | 56.31 | 89.05 | 88.99 | 78.12 | 10.90 |
| | 25.00 | 86.40 | 99.28 | 99.34 | 95.01 | 4.30 |
| | 50.00 | 99.94 | 100.44 | 99.74 | 100.04 | 0.21 |
| | 100.00 | | | | | |
| ส้มโอ | 1.56 | 10.54 | 6.17 | 20.05 | 12.25 | 4.10 |
| | 3.13 | 30.57 | 29.01 | 48.32 | 35.97 | 6.19 |
| | 6.25 | 65.14 | 58.32 | 79.80 | 67.75 | 6.34 |
| | 12.50 | 89.07 | 88.58 | 97.38 | 91.68 | 2.86 |
| | 25.00 | 98.80 | 99.60 | 99.83 | 99.41 | 0.31 |
| | 50.00 | 100.65 | 100.20 | 99.71 | 100.19 | 0.27 |
| | 100.00 | | | | | |
| มะละกอ | 1.56 | -15.14 | -1.39 | 22.14 | 1.87 | 10.88 |
| | 3.13 | -3.22 | 5.76 | 33.29 | 11.94 | 10.98 |
| | 6.25 | 16.93 | 17.37 | 38.45 | 24.25 | 7.10 |
| | 12.50 | 12.72 | 37.38 | 46.72 | 32.27 | 10.14 |
| | 25.00 | 70.52 | 54.88 | 58.24 | 61.21 | 4.75 |
| | 50.00 | 91.61 | 91.51 | 88.05 | 90.39 | 1.17 |
| | 100.00 | 99.12 | 97.55 | 98.79 | 98.49 | 0.48 |

*หมายเหตุ :* ใช้ 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate) เป็นสารตั้งต้น

**ตารางที่ 17** แสดงผลของผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้น (%) | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | แหล่งที่ 1 | แหล่งที่ 2 | แหล่งที่ 3 | mean | SEM |
| ฝรั่ง | 1.56 | -19.08 | 23.71 | -4.75 | -0.04 | 12.57 |
| | 3.13 | -12.67 | 34.24 | 51.18 | 24.25 | 19.10 |
| | 6.25 | 27.81 | 65.41 | 94.51 | 62.58 | 19.31 |
| | 12.50 | 98.99 | 83.18 | 99.92 | 94.03 | 5.43 |
| | 25.00 | 67.97 | 96.29 | 99.61 | 87.95 | 10.04 |
| | 50.00 | 101.59 | 99.57 | 99.58 | 100.25 | 0.67 |
| | 100.00 | 101.32 | 100.42 | 100.37 | 100.70 | 0.31 |
| สัปปะรด | 1.56 | -13.21 | 27.27 | 5.38 | 6.48 | 11.70 |
| | 3.13 | -56.52 | 81.71 | 91.07 | 38.76 | 47.71 |
| | 6.25 | -3.85 | 99.01 | 98.58 | 64.58 | 34.22 |
| | 12.50 | -7.49 | 99.15 | 100.00 | 63.89 | 35.69 |
| | 25.00 | 61.40 | 99.78 | 100.78 | 87.32 | 12.97 |
| | 50.00 | 100.87 | 100.33 | 100.66 | 100.62 | 0.16 |
| | 100.00 | 100.64 | 99.61 | 99.48 | 99.91 | 0.37 |
| ส้มโอ | 1.56 | -2.65 | 33.56 | 59.66 | 30.19 | 18.06 |
| | 3.13 | -5.32 | 63.02 | 98.46 | 52.05 | 30.46 |
| | 6.25 | 75.33 | 98.12 | 99.71 | 91.06 | 7.87 |
| | 12.50 | 66.38 | 99.58 | 100.55 | 88.84 | 11.23 |
| | 25.00 | 100.03 | 99.60 | 98.95 | 99.53 | 0.31 |
| | 50.00 | 101.05 | 99.87 | 101.09 | 100.67 | 0.40 |
| | 100.00 | 100.60 | 99.96 | 99.91 | 100.16 | 0.22 |
| มะละกอ | 1.56 | -28.89 | -36.10 | -27.13 | -30.71 | 2.74 |
| | 3.13 | -58.75 | -8.20 | 7.76 | -19.73 | 20.05 |
| | 6.25 | -34.27 | 29.23 | 45.55 | 13.50 | 24.35 |
| | 12.50 | 65.61 | 61.78 | 72.81 | 66.73 | 3.23 |
| | 25.00 | 99.59 | 92.67 | 94.22 | 95.49 | 2.10 |
| | 50.00 | 94.53 | 98.83 | 97.99 | 97.12 | 1.31 |
| | 100.00 | 100.71 | | | 100.71 | |

*หมายเหตุ :* ใช้ 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate) เป็นสารตั้งต้น

**ตารางที่ 18** ผลของน้ำผลไม้สด ทั้ง 4 ชนิด ที่รบกวนสารผลิตภัณฑ์ (product) หลังจากเกิดปฏิกิริยาของ Pancreatic lipase โดยสมบูรณ์ (30 นาที) โดยใช้ 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate) เป็นสารตั้งต้น

| การทดสอบ | ค่า Fluorescence | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ฝรั่ง | สัปปะรด | มะละกอ | ส้มโอ |
| เริ่มต้นปฏิกิริยา | 13075 | 13277 | 13890 | 16102 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที | 17599 | 20370 | 20439 | 20875 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 1 นาที | 9121 | 8381 | 16035 | 7499 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 5 นาที | 7349 | 4625 | 14860 | 3937 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 30 นาที | 1991 | 2595 | 9912 | 2603 |

**ตารางที่ 19** ผลของน้ำผลไม้ผงแห้งทั้ง 4 ชนิด ที่รบกวนสารผลิตภัณฑ์ (product) หลังจากเกิดปฏิกิริยาของPancreatic lipase โดยสมบูรณ์ (30 นาที)โดยใช้ 4-methylumbelliferyl oleate (4-MU oleate) เป็นสารตั้งต้น

| การทดสอบ | ผงแห้งของน้ำผลไม้ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ฝรั่ง | สัปปะรด | มะละกอ | ส้มโอ |
| เริ่มต้นปฏิกิริยา | 5102 | 5177 | 4932 | 4928 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที | 53831 | 50568 | 51507 | 49403 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 30 นาที | 3583 | 6195 | 21532 | 11558 |

**ตารางที่ 20** ผลของน้ำผลไม้ผงแห้ง (ฝรั่ง, สัปปะรด และส้มโอ) ที่ที่รบกวนสารผลิตภัณฑ์ (product) หลังจากเกิดปฏิกิริยาของPancreatic lipase โดยสมบูรณ์ (30 นาที) โดยใช้ p-nitrophenyl laurate เป็นสารตั้งต้น

| **การทดสอบ** | **ค่า absorbance** | | |
|---|---|---|---|
| | **ฝรั่ง** | **สัปปะรด** | **ส้มโอ** |
| เริ่มต้นปฏิกิริยา | 0.164 | 0.118 | 0.125 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที | 0.764 | 0.754 | 0.793 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 1 นาที | 0.509 | 0.276 | 0.162 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 5 นาที | 0.425 | 0.237 | 0.150 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 15 นาที | 0.315 | 0.172 | 0.124 |

**ตารางที่ 21** ผลของน้ำผลไม้ผงแห้ง(ฝรั่ง, สัปปะรด และส้มโอ) ที่รบกวนสารผลิตภัณฑ์ (product) หลังจากเกิดปฏิกิริยาของPancreatic lipase โดยสมบูรณ์ (30 นาที) โดยใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็นสารตั้งต้น

| **การทดสอบ** | **ค่า fluorescent** | | |
|---|---|---|---|
| | **ฝรั่ง** | **สัปปะรด** | **ส้มโอ** |
| เริ่มต้นปฏิกิริยา | 182339 | 188865 | 169874 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที | 604446 | 616940 | 567647 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 1 นาที | 270441 | 203296 | 145158 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 5 นาที | 228975 | 127558 | 84728 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 15 นาที | 120917 | 33752 | 25145 |

**ตารางที่ 22** ผลของน้ำผลไม้ผงแห้งทั้ง 4 ชนิด ที่ที่รบกวนสารผลิตภัณฑ์ (product) หลังจากเกิดปฏิกิริยาของPancreatic lipase โดยสมบูรณ์ (30 นาที) โดยใช้ p-nitrophenyl laurate เป็นสารตั้งต้น

| การทดสอบ | ค่า absorbance | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ฝรั่ง | | | ส้มโอ | | | มะละกอ | | | สัปปะรด | | |
| | 0.04M Tris | 0.4M Tris | 0.8M Tris | 0.04M Tris | 0.4M Tris | 0.8M Tris | 0.04M Tris | 0.4M Tris | 0.8M Tris | 0.04M Tris | 0.4M Tris | 0.8M Tris |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที | 0.498 | 0.412 | 0.453 | 0.500 | 0.408 | 0.455 | 0.498 | 0.421 | 0.458 | 0.493 | 0.401 | 0.461 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้วัดที่ 5 นาที | 0.351 | 0.634 | 0.730 | 0.236 | 0.367 | 0.484 | 0.508 | 0.567 | 0.633 | 0.265 | 0.427 | 0.535 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 10 นาที | 0.289 | 0.672 | 0.781 | 0.194 | 0.351 | 0.491 | 0.503 | 0.595 | 0.654 | 0.247 | 0.423 | .548 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 20 นาที | 0.281 | 0.726 | 0.848 | 0.122 | 0.304 | 0.545 | 0.510 | 0.639 | 0.697 | 0.168 | 0.400 | 0.587 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 30 นาที | 0.283 | 0.775 | 0.913 | 0.129 | 0.266 | 0.608 | 0.524 | 0.681 | 0.744 | 0.167 | 0.363 | 0.675 |

***หมายเหตุ*** : ผู้วิจัยจึงทำการทดสอบสมมติฐานของการรบกวนปฏิกิริยา โดยปรับวิธีการทดสอบ pancreatic lipase activity โดยเพิ่มความเข้มข้นของ Tris ใน reaction buffer จากเดิมคือ 0.04 M เป็น 0.4 และ 0.8 M ให้มีความสามารถที่จะรักษาระดับ pH 8 ในปฏิกิริยามากขึ้น ซึ่งผู้วิจัยได้ทดสอบโดยใช้ p-nitrophenyl laurate เป็น substrate โดยเมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่ 30 นาที (มีค่า absorbance เพิ่มขึ้น) หลังจากนั้นเติมน้ำผลไม้ (ผงแห้งของน้ำผลไม้) ลงไป พบว่าค่า absorbance มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ Tris ในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด โดยที่ 0.8 M Tris มีค่า absorbance เพิ่มขึ้นเมื่อเติมน้ำผลไม้หลังจากปฏิกิริยาเกิดขึ้น 30 นาที ในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ในขณะที่ 0.4 M Tris ยังมีค่า absorbance ที่ลดลง ดังนั้นจึงเลือก 0.8M Tris มาใช้เป็น Reaction buffer ในการทดสอบต่อไป

**ตารางที่ 23** ผลของน้ำผลไม้ผงแห้งทั้ง 4 ชนิด ที่รบกวนสารผลิตภัณฑ์ (product) หลังจากเกิดปฏิกิริยาของPancreatic lipase โดยสมบูรณ์ (30 นาที) โดยใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็นสารตั้งต้น

| **การทดสอบ** | **ค่า fluorescent** | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **ฝรั่ง** | | | **ส้มโอ** | | | **มะละกอ** | | | **สัปปะรด** | | |
| | **0.04M Tris** | **0.4M Tris** | **0.8M Tris** | **0.04M Tris** | **0.4M Tris** | **0.8M Tris** | **0.04M Tris** | **0.4M Tris** | **0.8M Tris** | **0.04M Tris** | **0.4M Tris** | **0.8M Tris** |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที | 511518 | 526111 | 523158 | 511790 | 529902 | 518132 | 508295 | 519954 | 522739 | 511985 | 529553 | 513420 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้วัดที่ 5 นาที | 115110 | 457671 | 464857 | 21789 | 322771 | 397210 | 362412 | 338262 | 361805 | 67375 | 308599 | 348254 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 10 นาที | 61218 | 477195 | 474936 | 19223 | 301890 | 416455 | 365952 | 367726 | 390851 | 27925 | 267751 | 343882 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 20 นาที | 42983 | 483374 | 481126 | 16712 | 264997 | 464705 | 382814 | 429374 | 433911 | 21021 | 236354 | 405449 |
| ปฏิกิริยาที่เวลา 30 นาที ตามด้วยการเติมน้ำผลไม้ วัดที่ 30 นาที | 39835 | 481876 | 482048 | 15063 | 247653 | 473808 | 399829 | 455993 | 462063 | 21260 | 238010 | 439678 |

***หมายเหตุ*** : ผู้วิจัยจึงทำการทดสอบสมมติฐานของการรบกวนปฏิกิริยาการทดสอบ pancreatic lipase activity โดยเพิ่มความเข้มข้นของ Tris ใน reaction buffer จากเดิมคือ 0.04 M เป็น 0.4 และ 0.8 M ให้มีความสามารถที่จะรักษาระดับ pH 8 ในปฏิกิริยามากขึ้น โดยใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็น substrate โดยเมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่ 30 นาที (มีค่า fluorescence เพิ่มขึ้น) หลังจากนั้นเติมน้ำผลไม้ (ผงแห้งของน้ำผลไม้) ลงไป พบว่าค่า fluorescence มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ Tris ในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด พบว่าทุกความเข้มข้นของ Tris มีค่า fluorescence น้อยกว่าเมื่อเติมน้ำผลไม้หลังจากปฏิกิริยาเกิดขึ้น 30 นาที แต่ที่ความเข้มข้น 0.8M มีค่าใกล้เคียงกับ ค่า fluorescence ก่อนเติมน้ำผลไม้หลังจากปฏิกิริยาเกิดขึ้น 30 นาทีมากที่สุด ดังนั้นจึงเลือก 0.8M Tris มาใช้เป็น Reaction buffer ในการทดสอบต่อไป

**ตารางที่ 24** แสดงผลของ Orlistat ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase

| ความเข้มข้นของ Orlistat (nM) | การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase (% inhibition) | | | | SEM |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | mean | |
| 1 | 18.18 | 35.50 | 23.11 | 29.31 | 5.15 |
| 3 | 42.39 | 42.11 | 36.70 | 39.41 | 1.85 |
| 10 | 45.50 | 57.55 | 57.87 | 57.71 | 4.07 |
| 30 | 55.06 | 73.49 | 75.54 | 74.51 | 6.51 |
| 100 | 66.64 | 87.26 | 92.18 | 89.72 | 7.82 |
| 300 | 74.87 | 92.83 | 88.19 | 90.51 | 5.38 |
| 1000 | 81.47 | 91.72 | 87.62 | 89.67 | 2.98 |
| 3000 | 89.82 | 97.45 | 91.74 | 94.59 | 2.29 |
| 10000 | 95.31 | 97.87 | 95.07 | 96.47 | 0.90 |
| 30000 | 98.63 | 98.82 | 94.91 | 96.86 | 1.27 |

*หมายเหตุ:* ใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็นสารตั้งต้น

**ตารางที่ 25** แสดงผลของน้ำผลไม้สดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%) | การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ Pancreatic lipase (% inhibition) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | แหล่งที่ 4 | แหล่งที่ 5 | แหล่งที่ 6 | mean | SEM |
| ฝรั่ง | 12.5 | 3.64 | 6.37 | 2.68 | 4.23 | 1.11 |
| | 25 | 6.45 | 11.94 | 17.46 | 11.95 | 3.18 |
| | 50 | 11.07 | 15.09 | 16.07 | 14.08 | 1.53 |
| | 75 | 19.91 | 20.97 | 23.28 | 21.39 | 0.99 |
| | 100 | 28.72 | 29.58 | 32.78 | 30.36 | 1.24 |
| สับปะรด | 12.5 | -9.81 | -9.18 | -7.29 | -8.76 | 0.76 |
| | 25 | 1.65 | -4.46 | 1.94 | -0.29 | 2.09 |
| | 50 | 7.52 | 7.34 | 4.89 | 6.58 | 0.85 |
| | 75 | 6.75 | 9.04 | 9.96 | 8.58 | 0.95 |
| | 100 | 25.37 | 32.96 | 31.71 | 30.01 | 2.35 |
| มะละกอ | 12.5 | 11.32 | 10.75 | -6.98 | 5.03 | 6.01 |
| | 25 | 18.80 | 12.76 | 20.70 | 17.42 | 2.39 |
| | 50 | 23.07 | 14.80 | 28.43 | 22.10 | 3.96 |
| | 75 | 27.81 | 18.11 | 31.27 | 25.73 | 3.94 |
| | 100 | 49.95 | 32.71 | 36.41 | 39.69 | 5.24 |
| ส้มโอ | 12.5 | 0.36 | 1.85 | 3.68 | 1.96 | 0.96 |
| | 25 | 2.91 | -10.52 | 10.52 | 0.97 | 6.15 |
| | 50 | 12.15 | -14.42 | 11.57 | 3.10 | 8.76 |
| | 75 | 10.27 | -3.57 | 13.15 | 6.62 | 5.16 |
| | 100 | 17.58 | 25.95 | 41.53 | 28.35 | 7.02 |

*หมายเหตุ:* ใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็นสารตั้งต้น

**ตารางที่ 26** แสดงผลเปรียบเทียบจาก 3 แหล่งของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%) | การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ Pancreatic lipase (% inhibition) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | แหล่งที่4 | SD | แหล่งที่5 | SD | แหล่งที่6 | SD |
| ฝรั่ง | 12.5 | 3.64 | 6.01 | 6.37 | 2.01 | 2.68 | 0.18 |
| | 25 | 6.45 | 2.68 | 11.94 | 0.03 | 17.46 | 1.00 |
| | 50 | 11.07 | 3.55 | 15.09 | 0.27 | 16.07 | 0.76 |
| | 75 | 19.91 | 5.26 | 20.97 | 3.86 | 23.28 | 3.61 |
| | 100 | 28.72 | 2.05 | 29.58 | 0.96 | 32.78 | 7.42 |
| สับปะรด | 12.5 | -9.81 | 1.40 | -9.18 | 0.21 | -7.29 | 0.26 |
| | 25 | 1.65 | 0.71 | -4.46 | 2.51 | 1.94 | 0.17 |
| | 50 | 7.52 | 4.48 | 7.34 | 2.21 | 4.89 | 0.55 |
| | 75 | 6.75 | 1.90 | 9.04 | 0.31 | 9.96 | 1.64 |
| | 100 | 25.37 | 4.19 | 32.96 | 1.69 | 31.71 | 0.54 |
| มะละกอ | 12.5 | 11.32 | 0.94 | 10.75 | 1.26 | -6.98 | 0.54 |
| | 25 | 18.80 | 2.74 | 12.76 | 3.66 | 20.70 | 1.77 |
| | 50 | 23.07 | 2.92 | 14.80 | 2.01 | 28.43 | 1.46 |
| | 75 | 27.81 | 3.93 | 18.11 | 4.24 | 31.27 | 0.86 |
| | 100 | 49.95 | 0.61 | 32.71 | 0.66 | 36.41 | 0.08 |
| ส้มโอ | 12.5 | 0.36 | 2.28 | 1.85 | 8.57 | 3.68 | 1.28 |
| | 25 | 2.91 | 1.48 | -10.52 | 7.60 | 10.52 | 7.03 |
| | 50 | 12.15 | 2.57 | -14.42 | 5.78 | 11.57 | 2.29 |
| | 75 | 10.27 | 7.61 | -3.57 | 3.08 | 13.15 | 7.97 |
| | 100 | 17.58 | 3.73 | 25.95 | 9.02 | 41.53 | 0.39 |

*หมายเหตุ:* ใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็นสารตั้งต้น

**ตารางที่ 27** แสดงผลของผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase

| **ชนิดผลไม้** | **ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%)** | **การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ Pancreatic lipase (% inhibition)** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **แหล่งที่ 1** | **แหล่งที่ 2** | **แหล่งที่ 4** | **mean** | **SEM** |
| ฝรั่ง | 12.5 | -0.83 | 3.18 | 1.67 | 1.34 | 1.17 |
| | 25 | 14.81 | 17.03 | 14.48 | 15.44 | 0.80 |
| | 50 | 14.37 | 18.14 | 15.19 | 15.90 | 1.14 |
| | 75 | 23.30 | 24.21 | 22.51 | 23.34 | 0.49 |
| | 100 | 32.36 | 35.55 | 30.76 | 32.89 | 1.41 |
| สับปะรด | 12.5 | 3.73 | -8.96 | -7.34 | -4.19 | 3.99 |
| | 25 | 5.16 | -4.81 | 3.18 | 1.18 | 3.05 |
| | 50 | 7.28 | -0.36 | 7.29 | 4.74 | 2.55 |
| | 75 | 15.28 | 0.84 | 11.47 | 9.20 | 4.32 |
| | 100 | 28.83 | 30.92 | 35.24 | 31.66 | 1.89 |
| มะละกอ | 12.5 | 6.91 | 11.06 | 3.01 | 6.99 | 2.32 |
| | 25 | 5.72 | 17.26 | 18.92 | 13.97 | 4.15 |
| | 50 | 15.04 | 15.13 | 27.17 | 19.11 | 4.03 |
| | 75 | 10.72 | 19.12 | 28.56 | 19.47 | 5.15 |
| | 100 | 29.00 | 34.57 | 37.33 | 33.63 | 2.45 |
| ส้มโอ | 12.5 | -2.25 | -6.65 | 2.17 | -2.24 | 2.55 |
| | 25 | 5.68 | 2.26 | 8.30 | 5.41 | 1.75 |
| | 50 | 9.43 | 9.29 | 11.37 | 10.03 | 0.67 |
| | 75 | 10.50 | 10.03 | 8.58 | 9.70 | 0.58 |
| | 100 | 23.38 | 18.88 | 27.58 | 23.28 | 2.51 |

*หมายเหตุ:* ใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็นสารตั้งต้น

**ตารางที่ 28** แสดงผลเปรียบเทียบจาก 3 แหล่งผงแห้งของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase

| **ชนิดผลไม้** | **ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%)** | **การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ Pancreatic lipase (% inhibition)** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **แหล่งที่ 1** | **SD** | **แหล่งที่2** | **SD** | **แหล่งที่ 4** | **SD** |
| ฝรั่ง | 12.5 | -0.83 | 2.84 | 3.18 | 0.11 | 1.67 | 1.36 |
| | 25 | 14.81 | 2.13 | 17.03 | 0.26 | 14.48 | 2.78 |
| | 50 | 14.37 | 1.16 | 18.14 | 3.17 | 15.19 | 1.03 |
| | 75 | 23.30 | 0.58 | 24.21 | 5.41 | 22.51 | 1.53 |
| | 100 | 32.36 | 2.93 | 35.55 | 0.76 | 30.76 | 2.31 |
| สับปะรด | 12.5 | 3.73 | 1.97 | -8.96 | 3.43 | -7.34 | 3.18 |
| | 25 | 5.16 | 1.62 | -4.81 | 3.36 | 3.18 | 0.94 |
| | 50 | 7.28 | 1.45 | -0.36 | 3.76 | 7.29 | 0.51 |
| | 75 | 15.28 | 0.34 | 0.84 | 1.95 | 11.47 | 0.15 |
| | 100 | 28.83 | 0.90 | 30.92 | 1.44 | 35.24 | 0.25 |
| มะละกอ | 12.5 | 6.91 | 0.40 | 11.06 | 0.27 | 3.01 | 0.01 |
| | 25 | 5.72 | 0.18 | 17.26 | 0.68 | 18.92 | 0.66 |
| | 50 | 15.04 | 0.74 | 15.13 | 2.35 | 27.17 | 1.93 |
| | 75 | 10.72 | 0.43 | 19.12 | 0.99 | 28.56 | 1.49 |
| | 100 | 29.00 | 0.90 | 34.57 | 1.18 | 37.33 | 0.79 |
| ส้มโอ | 12.5 | -2.25 | 2.19 | -6.65 | 1.71 | 2.17 | 0.53 |
| | 25 | 5.68 | 0.14 | 2.26 | 2.78 | 8.30 | 0.66 |
| | 50 | 9.43 | 1.99 | 9.29 | 0.32 | 11.37 | 0.34 |
| | 75 | 10.50 | 0.18 | 10.03 | 0.81 | 8.58 | 1.09 |
| | 100 | 23.38 | 0.86 | 18.88 | 0.26 | 27.58 | 0.72 |

*หมายเหตุ:* ใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็นสารตั้งต้น

**ตารางที่ 29** แสดงการเปรียบเทียบผลของน้ำผลไม้สดและผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase จากแหล่งเดียวกัน (แหล่งที่ 4)

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%) | การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ Pancreatic lipase (% inhibition) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | น้ำผลไม้สด | | ผงแห้งของน้ำผลไม้ | |
| | | mean | SD | mean | SD |
| ฝรั่ง | 12.5 | 3.64 | 6.01 | 2.25 | 2.76 |
| | 25 | 6.45 | 2.68 | 17.41 | 2.07 |
| | 50 | 11.07 | 3.55 | 16.99 | 1.11 |
| | 75 | 19.91 | 5.26 | 25.64 | 0.54 |
| | 100 | 28.72 | 2.05 | 34.43 | 2.82 |
| สับปะรด | 12.5 | -9.81 | 1.40 | 3.73 | 1.97 |
| | 25 | 1.65 | 0.71 | 5.16 | 1.62 |
| | 50 | 7.52 | 4.48 | 7.28 | 1.45 |
| | 75 | 6.75 | 1.90 | 15.28 | 0.34 |
| | 100 | 25.37 | 4.19 | 28.83 | 0.90 |
| มะละกอ | 12.5 | 11.32 | 0.94 | 6.91 | 0.40 |
| | 25 | 18.80 | 2.74 | 5.72 | 0.18 |
| | 50 | 23.07 | 2.92 | 15.04 | 0.74 |
| | 75 | 27.81 | 3.93 | 10.72 | 0.43 |
| | 100 | 49.95 | 0.61 | 29.00 | 0.90 |
| ส้มโอ | 12.5 | 5.11 | 2.05 | -2.25 | 2.19 |
| | 25 | 3.89 | 3.34 | 5.68 | 0.14 |
| | 50 | -2.53 | 6.54 | 9.43 | 1.99 |
| | 75 | 5.58 | 2.49 | 10.50 | 0.18 |
| | 100 | 33.03 | 6.09 | 23.38 | 0.86 |

*หมายเหตุ:* ใช้ 1, 2-Di-O-lauryl-*rac*-glycero-3-(glutaric acid 6-methylresorufin ester) เป็นสารตั้งต้น

**ตารางที่ 30** แสดงผลของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์

| **ชนิดผลไม้** | **ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%)** | **การยับยั้งการละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ (% inhibition)** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **แหล่งที่ 1** | **แหล่งที่ 2** | **แหล่งที่3** | **mean** | **SEM** |
| ฝรั่ง | 25 | 99.96 | 84.13 | 63.23 | 82.44 | 10.64 |
| | 50 | 99.35 | 100.77 | 99.75 | 99.96 | 0.42 |
| | 100 | | 100.93 | 100.50 | 100.72 | 0.18 |
| สับปะรด | 25 | 11.86 | 17.57 | 1.02 | 10.15 | 4.85 |
| | 50 | 74.67 | 58.97 | 2.71 | 45.45 | 21.85 |
| | 100 | 98.18 | 84.53 | 21.48 | 68.06 | 23.62 |
| มะละกอ | 25 | 35.88 | -8.90 | 5.67 | 10.88 | 13.19 |
| | 50 | 98.97 | 11.46 | 24.69 | 45.04 | 27.23 |
| | 100 | 99.46 | 28.88 | 44.06 | 57.47 | 21.45 |
| ส้มโอ | 25 | 21.33 | 70.92 | 8.01 | 33.42 | 19.14 |
| | 50 | 37.76 | 93.89 | 18.12 | 49.92 | 22.70 |
| | 100 | | 100.90 | 28.42 | 64.66 | 29.59 |

**ตารางที่ 31** แสดงผลเปรียบเทียบจาก 3 แหล่งของน้ำผลไม้คั้นสดทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%) | การยับยั้งการละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ (% inhibition) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | แหล่งที่1 | SD | แหล่งที่2 | SD | แหล่งที่3 | SD |
| ฝรั่ง | 25 | 99.96 | 0.38 | 84.13 | 0.98 | 63.23 | 6.39 |
| | 50 | 99.35 | 1.05 | 100.77 | 0.34 | 99.75 | 0.72 |
| | 100 | | | 100.93 | 0.12 | 100.50 | 0.31 |
| สับปะรด | 25 | 11.86 | 2.38 | 17.57 | 4.26 | 1.02 | 3.59 |
| | 50 | 74.67 | 6.98 | 58.97 | 3.32 | 2.71 | 6.02 |
| | 100 | 98.18 | 1.00 | 84.53 | 1.25 | 21.48 | 6.69 |
| มะละกอ | 25 | 35.88 | 7.18 | -8.90 | 0.72 | 5.67 | 5.98 |
| | 50 | 98.97 | 2.02 | 11.46 | 10.86 | 24.69 | 10.64 |
| | 100 | 99.46 | 0.47 | 28.88 | 3.85 | 44.06 | 5.02 |
| ส้มโอ | 25 | 21.33 | 5.20 | 70.92 | 3.77 | 8.01 | 5.08 |
| | 50 | 37.76 | 6.41 | 93.89 | 1.24 | 18.12 | 8.54 |
| | 100 | 7.24 | 17.92 | 100.90 | 0.26 | 28.42 | 11.79 |

**ตารางที่ 32** แสดงผลของผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%) | การยับยั้งการละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ (% inhibition) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | แหล่งที่ 1 | แหล่งที่ 2 | แหล่งที่3 | mean | SEM |
| ฝรั่ง | 25 | 69.17 | 46.92 | 98.84 | 71.64 | 15.04 |
| | 50 | 100.82 | 85.76 | 100.92 | 95.83 | 5.04 |
| | 100 | 101.42 | 101.60 | 100.89 | 101.30 | 0.21 |
| สับปะรด | 25 | 2.62 | 15.03 | 36.15 | 17.93 | 9.79 |
| | 50 | 17.38 | 25.99 | 81.79 | 41.72 | 20.19 |
| | 100 | 44.57 | 46.80 | 100.88 | 64.08 | 18.41 |
| มะละกอ | 25 | 2.15 | 7.12 | -0.92 | 2.78 | 2.34 |
| | 50 | 21.56 | 26.54 | 7.57 | 18.56 | 5.68 |
| | 100 | 63.47 | 58.98 | 40.59 | 54.35 | 7.00 |
| ส้มโอ | 25 | 17.10 | 19.82 | 37.18 | 24.70 | 6.29 |
| | 50 | 45.34 | 57.20 | 53.60 | 52.05 | 3.51 |
| | 100 | 96.69 | 87.63 | 64.43 | 82.92 | 9.61 |

**ตารางที่ 33** แสดงผลเปรียบเทียบจาก 3 แหล่งของผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%) | การยับยั้งการละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ (% inhibition) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | แหล่งที่1 | SD | แหล่งที่2 | SD | แหล่งที่3 | SD |
| ฝรั่ง | 25 | 69.17 | 1.09 | 46.92 | 1.68 | 98.84 | 0.50 |
| | 50 | 100.82 | 0.97 | 85.76 | 0.51 | 100.92 | 0.12 |
| | 100 | 101.42 | 0.69 | 101.60 | 0.21 | 100.89 | 0.30 |
| สับปะรด | 25 | 2.62 | 1.69 | 15.03 | 3.80 | 36.15 | 5.68 |
| | 50 | 17.38 | 1.63 | 25.99 | 5.27 | 81.79 | 14.11 |
| | 100 | 44.57 | 3.33 | 46.80 | 1.64 | 100.88 | 0.54 |
| มะละกอ | 25 | 2.15 | 2.51 | 7.12 | 2.49 | -0.92 | 4.21 |
| | 50 | 21.56 | 2.12 | 26.54 | 1.99 | 7.57 | 5.25 |
| | 100 | 63.47 | 1.76 | 58.98 | 2.58 | 40.59 | 4.60 |
| ส้มโอ | 25 | 17.10 | 1.62 | 19.82 | 2.48 | 37.18 | 3.15 |
| | 50 | 45.34 | 1.18 | 57.20 | 1.39 | 53.60 | 4.55 |
| | 100 | 96.69 | 0.02 | 87.63 | 0.02 | 64.43 | 2.30 |

**ตารางที่ 34** แสดงการเปรียบเทียบผลของน้ำผลไม้สดและผงแห้งของน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการละลายของคอเลสเตอรอลในไมเซลล์ จากแหล่งเดียวกัน (แหล่งที่ 3)

| ชนิดผลไม้ | ความเข้มข้นของน้ำผลไม้ (%) | การยับยั้งการละลายคอเลสเตอรอลไมเซลล์ (% inhibition) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | น้ำผลไม้สด | | ผงแห้งของน้ำผลไม้ | |
| | | mean | SD | mean | SD |
| ฝรั่ง | 25 | 63.23 | 6.39 | 98.84 | 0.50 |
| | 50 | 99.75 | 0.72 | 100.92 | 0.12 |
| | 100 | 100.50 | 0.31 | 100.89 | 0.30 |
| สับปะรด | 25 | 1.02 | 3.59 | 36.15 | 5.68 |
| | 50 | 2.71 | 6.02 | 81.79 | 14.11 |
| | 100 | 21.48 | 6.69 | 100.88 | 0.54 |
| มะละกอ | 25 | 8.01 | 5.08 | -0.92 | 4.21 |
| | 50 | 18.12 | 8.54 | 7.57 | 5.25 |
| | 100 | 28.42 | 11.79 | 40.59 | 4.60 |
| ส้มโอ | 25 | 5.67 | 5.98 | 37.18 | 3.15 |
| | 50 | 24.69 | 10.64 | 53.60 | 4.55 |
| | 100 | 44.06 | 5.02 | 64.43 | 2.30 |