การศึกษาสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ผักเคลผง

กัลยา คุณาธิป

สารนิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ
มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์
พ.ศ.2564

THE STUDY OF TOTAL PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF KALE POWDER PRODUCTS

KANLAYA KUNATHIP

A Thematic Paper Submitted in Partial Fulfillment of Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Anti-aging and Regenerative Medicine

College of Integrative Medicine, Dhurakij Pundit University

2021

ใบรับรองสารนิพนธ์

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หัวข้อสารนิพนธ์ การศึกษาสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ผักเคลผง

เสนอโดย กัลยา คุณาธิป

สาขาวิชา วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

กลุ่มวิชา วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกราช บำรุงพืชน์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดยคณะกรรมการสอบสารนิพนธ์แล้ว

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พันโท ดร.นายแพทย์ พิชา สุวรรณหิตาทร)

..... กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกราช บำรุงพืชน์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ พันธ์ศักดิ์ ศุกระฤกษ์)

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ รับรองแล้ว

..... คณบดีวิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์พัฒนา เต็งอำนวย)

วันที่ ...22... เดือน ...มกราคม... พ.ศ. ...2564...

หัวข้อสารนิพนธ์ การศึกษาสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ผักเคลผง
ชื่อผู้เขียน กัลยา คุณาธิป
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกราช บำรุงพืชน์
สาขาวิชา วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
ปีการศึกษา 2563

บทคัดย่อ

องค์การอนามัยโลก (WHO) และองค์การอาหารและการเกษตร (USDA. 2003) แนะนำให้บริโภคผักและผลไม้อย่างน้อย 400 กรัม หรือ 5-7 หน่วยบริโภคต่อวัน เพื่อป้องกันโรคหัวใจ โรคมะเร็ง โรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคอ้วน เนื่องจากผักและผลไม้เป็นแหล่งสำคัญของวิตามิน แร่ธาตุ เส้นใย สารต้านอนุมูลอิสระ และสารพฤกษเคมี ซึ่งมีคุณสมบัติหลักในการต่อต้านอนุมูลอิสระและคุณประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพต่างๆ แต่จากการสำรวจพฤติกรรมการบริโภคอาหารของประชากรในปีพ.ศ. 2560 โดยสำนักสถิติแห่งชาติ พบว่าคนไทยบริโภคผักและผลไม้สดปริมาณลดลง เนื่องจากหลายคนไม่สามารถจะบริโภคผักและผลไม้ในปริมาณที่แนะนำได้ ผลิตภัณฑ์ผักผงจึงถูกพิจารณามาบริโภคเสริมในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาผักเคลได้รับความสนใจเนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง

ผักเคลจึงถือได้ว่าเป็นอาหารที่มีประโยชน์ในการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากอาจมีประโยชน์ในการป้องกันโรคความเสื่อมเรื้อรังได้ การบริโภคผักเคลเริ่มเป็นที่นิยมทั้งรับประทานสด หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ผักเคลผง ผู้วิจัยจึงเลือกผลิตภัณฑ์ผักเคลผงซึ่งกำลังได้รับความนิยมมาทำการวิจัยหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยทำการสุ่มตัวอย่างผักเคลผลที่วางจำหน่ายในประเทศไทยจำนวน 10 ตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) ผลการศึกษาพบว่า ตัวอย่างผักเคลผงมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 61.78 – 262.15 mg GAE/g sample และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ORAC อยู่ที่ 4441.81 – 12438.16 μM TE/g sample ความสัมพันธ์ของปริมาณสารฟีนอลิกรวมของตัวอย่างผักเคลผง

10 ตัวอย่าง กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ORAC มีความสัมพันธ์เส้นตรงเชิงบวกกับปริมาณสารฟีนอลิกรวม (R^2= 0.8514) จากความสัมพันธ์นี้สารประกอบฟีนอลิกรวมน่าจะเป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผักเคลผงได้เป็นอย่างดี

จากการศึกษาวิจัยนี้พบว่า ผลิตภัณฑ์ผักเคลผงในท้องตลาดทั้ง 10 ตัวอย่าง เป็นแหล่งที่ดีของปริมาณสารฟีนอลิกรวมและมีฤทธิ์ที่ดีในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ผักเคลผงอาจเป็นทางเลือกของผู้บริโภคเพื่อเพิ่มปริมาณการบริโภคผักเสริมจากมื้ออาหารได้ เพื่อให้ได้สารต้านอนุมูลอิสระปริมาณเพียงพอเพื่อป้องกันร่างกายจากต่อต้านความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและส่งผลที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพได้

คำสำคัญ: ผักเคลผง สารประกอบฟีนอลิก อนุมูลอิสระ

Thematic Paper Title	THE STUDY OF TOTAL PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF KALE POWDER PRODUCTS
Author	Kanlaya Kunathip
Thematic Paper Adviser	Asst. Prof. Dr. Akkarach Bumrungpert
Department	Anti-aging and Regenerative Medicine
Academic Year	2020

ABTRACTS

The World Health Organization (WHO) and United States Department of Agriculture (USDA) recommend at least 400 grams or 5-7 servings of fruits and vegetables per day to prevent heart disease, cancer, Type 2 diabetes, and obesity. Fruits and vegetables are great sources of vitamins, minerals, fiber, antioxidants. and phytochemicals which has the main properties in fighting free radicals and various health promotion benefits. From Thai National Statistical Office survey in 2017, it was found that Thais consumed less fruits and vegetables. As many of them were unable to consume the recommended intake of fruits and vegetables. The alternative vegetable products were therefore considered to be supplemented.

Kale has gained attention for its high content of bioactive compounds and antioxidants. And it may be useful in the prevention of chronic degenerative diseases. Kale consumption became popular both eaten fresh. or processed into powdered vegetable kale products. For this study, kale powder products marketed in Thailand 10 products were chosen. Total phenolic content was analyzed, and antioxidant activity was examined with Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) method. The results of the study showed that The kale powder sample contains a total phenolic content of 61.78 – 262.15 mg GAE / g sample, and the antioxidant activity ORAC is 4441.81 - 12438.16 μM TE/g sample Correlation of total phenolic content of 10 kale powder samples and oxidative activity ORAC has positive linear correlation with total phenolic content ($R^2 = 0.8514$).

From this finding, total phenolic content is likely to be a good indicator of the antioxidant activity of powdered kale powder. From this study, it was found that all 10 samples of kale powder in the market are good source of total phenolic content and antioxidant activity. Therefore, kale powder may be an alternate option to supplement meals to increase vegetable intake. This may help body to gain antioxidants to protect the oxidative stress and can have beneficial effects on health.

Keywords: Kale Powder, Phenolic Content, Antioxidant

กิตติกรรมประกาศ

สารนิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์ โดยความกรุณาอย่างดียิ่งจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดร.เอกราช บำรุงพืชน์ ที่ให้การชี้แนะแนวทางในการทำการศึกษาวิจัยนี้ ให้ความกรุณาช่วยเหลือแก้ไข และให้คำแนะนำที่มีประโยชน์ต่องานวิจัยครั้งนี้ได้มีคุณค่ามากยิ่งขึ้น

ท้ายสุดนี้ขอขอบพระคุณอาจารย์ในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ที่ให้ความรู้ทางด้านวิชาการ มีส่วนในการวางรากฐานการศึกษาให้แก่ผู้วิจัย ให้คำแนะนำทำให้การศึกษานี้ลุล่วงไปด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ใดๆ จากสารนิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณบิดามารดาที่ให้กำเนิดและเลี้ยงดูให้การศึกษา ตลอดจนครูบาอาจารย์และผู้ที่มีพระคุณทุกท่านที่มีส่วนในการวางรากฐานการศึกษาให้แก่ผู้วิจัย และหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยชิ้นนี้จะเป็นประโยชน์ต่อสังคม

กัลยา คุณาธิป

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย……..	ฆ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ…….	จ
กิตติกรรมประกาศ……...	ช
สารบัญตาราง…….	ญ
สารบัญภาพ…….	ฎ
บทที่	
1. บทนำ……	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา……	1
1.2 คำถามการวิจัย……	2
1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย…….	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ…….	3
2. แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……	4
2.1 อนุมูลอิสระ……	4
2.2 ความเครียดจากออกซิเดชั่นและโรคเกี่ยวกับความชรา……	6
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ……	9
2.4 สารประกอบฟีนอลิก……	12
2.5 ผักเคล……	13
2.6 กรรมวิธีการผลิตผักผง……	14
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในผักใบเขียว และผลิตภัณฑ์ผักผง……	16
3. ระเบียบวิจัย……	23
3.1 วิธีดำเนินการวิจัย…….	23
3.2 ขั้นตอนการศึกษาวิจัย……	24
3.3 วิธีการทดสอบวิจัย……	25
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล……	25

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
4.	ผลการศึกษาวิเคราะห์	27
	4.1 ผลการทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวม	27
	4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยการหาค่าการดูดซับอนุมูลอิสระของออกซิเจน	29
	4.3 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารฟีนอลิกรวมกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	30
5.	อภิปรายผลการทดลองและสรุปผลการวิจัย	32
	5.1 อภิปรายผลการทดลอง	32
	5.2 สรุปผลการวิจัย	34
บรรณานุกรม		35
ประวัติผู้เขียน		40

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

2.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกและอนุพันธ์ที่พบในพืชทั่วไป..... 12

2.2 งานวิจัยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC ในผักเคล..... 17

4.1 ปริมาณ Total Phenolic Content (mg GAE/g sample) ของตัวอย่างผักเคลผง (n=3)..... 27

4.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ Oxygen radical absorbance capacity (μM TE/ g sample) ของตัวอย่างผักเคลผง (n=3)..... 29

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

2.1 ปฏิกิริยาของ AAPH ของสารต้านอนุมูลอิสระในช่วงการทดสอบ ORAC..... 11
2.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจาผักโดยวิธี H-ORAC..... 18
4.1 แผนภูมิแสดงปริมาณ Total Phenolic Content (mg GAE/g sample) ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผง..... 28
4.2 แผนภูมิแสดงฤทธิ์การต้าอนอนุมูลอิสระ Oxygen radical absorbance capacity (μM TE/ g sample) ของตัวอย่างผักเคลผง..... 30
4.3 ความสัมพันธ์ของปริมาณ Total Phenolic Content กับ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ORAC ของตัวอย่างผักเคลผง..... 31

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ผักและผลไม้เป็นแหล่งสำคัญของสารอาหารประเภทวิตามิน แร่ธาตุ เส้นใย สารต้านอนุมูลอิสระ และสารพฤกษเคมี การรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระมีผลดีต่อสุขภาพในระยะยาว นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระยังมีส่วนสำคัญในการลดความรุนแรงของความเครียดจากการออกซิเดชั่น การป้องกันมะเร็ง ป้องกันโรคหัวใจ และการมีอายุยืนยาว สารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดจะทำหน้าที่ส่งเสริมกัน และยังทำหน้าที่ป้องกันการทำลายล้างของอนุมูลอิสระรวมถึงผลิตภัณฑ์อนุมูลอิสระที่เป็นพิษอีกด้วย อย่างไรก็ตามหลักการสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป หรือยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ นอกเหนือจากนั้นสารพฤกษเคมีได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบันโดยเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติที่พบในพืช

องค์การอนามัยโลก (WHO) และองค์การอาหารและการเกษตร (USDA, 2003) แนะนำให้บริโภคผักและผลไม้อย่างน้อย 400 กรัม หรือ 5-7 หน่วยบริโภคต่อวัน เพื่อป้องกันโรคหัวใจ โรคมะเร็ง โรคเบาหวานชนิดที่ 2 และโรคอ้วน และในประเทศไทยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส.) ได้รณรงค์ภาครัฐและเอกชนให้เข้าร่วมโครงการ “กินผักและผลไม้ 400 กรัม” แต่จากการสำรวจพฤติกรรมการบริโภคอาหารของประชากรในปีพ.ศ. 2560 โดย สำนักสถิติแห่งชาติ พบว่าคนไทยบริโภคผักและผลไม้สดลดลง สัดส่วนของคนที่กินผักและผลไม้ทุกวันลดลง จาก 54.5% ในการสำรวจปีพ.ศ. 2556 เป็น 41.1% โดย เป็นการลดลงในทุกกลุ่มอายุ เพศ และภูมิภาค การบริโภคผักและผลไม้ในปริมาณต่ำเป็นหนึ่งในปัจจัยเสี่ยงต่อการเสียชีวิตทั่วโลกมีความสัมพันธ์กับอุบัติการณ์ของมะเร็งทางเดินอาหาร โรคหัวใจขาดเลือด และโรคหลอดเลือดสมอง เนื่องจากหลายคนไม่สามารถจะบริโภคผักและผลไม้ในปริมาณที่แนะนำได้ ทางเลือกในการแก้ปัญหานี้อาจทำได้โดยบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร วิตามินทดแทน หรือเสริมด้วยน้ำผักผลไม้เข้มข้น หรือผลิตภัณฑ์เสริมจากผักและผลไม้ เช่น ผักผลไม้ผง มีงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ทำการทดสอบว่า ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากผักสามารถให้สารต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับบริโภคผัก

ผลไม้ได้ โดย Record และคณะได้ทำการศึกษาหาความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดของอาสาสมัครที่ได้บริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากผักที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง ปริมาณ 30 กรัมต่อวัน บริโภคเป็นจำนวน 2 สัปดาห์ โดยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในการศึกษานี้ทำมาจาก พริก, แครอท, ซิลเวอร์บีท (Beta vulgaris) และข้าวโพด นำไปทำให้เป็นผงโดยวิธี spray dried และเติม Tea Polyphenol และผงขมิ้นเพิ่มไปด้วย ผลการทดสอบพบว่าการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสามารถเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในเลือดของมนุษย์ให้มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับที่ได้รับจากการรวมผักและผลไม้ในอาหารปริมาณ 5-7 หน่วยบริโภคได้ (Record et al, 2001)

ผักเคล (Brassica oleracea var. sabellica) เป็นผักใบเขียวที่อยู่ในวงศ์ Brassicaceae ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาผักเคลได้รับความสนใจเนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง เช่นวิตามินซี โปรวิตามินเอ กลูโคซิโนเลต สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก ใยอาหาร แร่ธาตุหลัก (แคลเซียมและแมกนีเซียม) และแร่ธาตุรอง (เหล็ก สังกะสี และแมงกานีส) ผักเคลจึงถือได้ว่าเป็นอาหารที่มีประโยชน์ในการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และอาจมีประโยชน์ในการป้องกันโรคความเสื่อมเรื้อรังได้ (Becerra-Moreno A. et al, 2013) การบริโภคผักเคลเริ่มเป็นที่นิยมทั้งใช้ในการรับประทานสด หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ผักเคลผง อย่างไรก็ตามข้อมูลของผลิตภัณฑ์ผักเคลผงจะแสดงแค่ปริมาณสารที่เป็นส่วนประกอบสำคัญ แต่ยังขาดถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และประสิทธิภาพของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอาจจะสลายไประหว่างกระบวนการผลิต บรรจุภัณฑ์ และการขนส่ง ผู้วิจัยจึงเลือกผลิตภัณฑ์ผักเคลผงซึ่งกำลังได้รับความนิยมมาทำการวิจัย และพบว่ายังมีข้อมูลในส่วนของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ผักเคลผงจำนวนไม่มาก โดยผลจากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ในการพิจารณาเลือกบริโภคผลิตภัณฑ์ผักเคลผงเพื่อเป็นส่งเสริมสุขภาพโดยรวมได้

1.2 คำถามการวิจัย

ผลิตภัณฑ์ผักเคลผงที่วางจำหนายมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระอยู่เท่าไหร่ และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระหรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการหาค่าการดูดซับอนุมูลอิสระของออกซิเจน (Oxygen radical absorbance capacity, ORAC) ในผลิตภัณฑ์ผักเคลผง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อให้ผู้บริโภคมีความรู้เรื่องปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ผักเคลผงที่จำหน่ายในตลาดและสามารถเลือกบริโภคได้อย่างถูกต้อง

2. เพื่อให้ผู้บริโภคสามารถเลือกผลิตภัณฑ์ผักเคลผง นำไปเสริมในอาหารมื้อปกติเพื่อทดแทนหรือเสริมปริมาณการบริโภคผักและผลไม้

3. เพื่อเป็นแนวทางให้ผู้ผลิต ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากผัก หรือ ผลไม้ผง เพื่อแปรรูปและเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษา เอกสาร บทความ และงานวิจัยเกี่ยวข้องกับการศึกษาวิจัยดังต่อไปนี้

2.1 อนุมูลอิสระ

2.2 ความเครียดจากออกซิเดชั่นและโรคเกี่ยวกับความชรา

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

2.4 สารประกอบฟีนอลิก

2.5 ผักเคล

2.6 กรรมวิธีการผลิตผงผัก

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุมูลอิสระ (Free Radical)

อนุมูลอิสระ หมายถึงสารหรือโมเลกุลใดๆที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Unpaired Electron) ที่ชั้นนอกสุดทำให้มีความไวต่อการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ และการที่สารหรือโมเลกุลใดจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาทางเคมีที่มีการรับหรือสูญเสียอิเล็กตรอนหรืออาจเกิดจากการแตกหัก (Hemolytic Fission) ที่อาศัยพลังงานจากความร้อนหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ให้อิเลกตรอนออกมา โดยอนุมูลอิสระสามารถเกิดได้แม้ในสภาวะการทำงานปกติของร่างกายในกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการใช้ออกซิเจนได้แก่การทำงานของเอนไซม์บางชนิดในร่างกาย การขนส่งอิเล็กตรอนในไมโตรคอนเดรีย การแสดงออกของยีน การกระตุ้นนิวเคลียร์ทรานสคริปชั่นแฟคเตอร์ (Nuclear Transcription Factor) การเกิดปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (Antigen- Antibody Reaction) ตลอดจนการทำงานของแมคโครฟาจ ภาวะชราภาพของร่างกาย (Aging) หรือพยาธิสภาพของโรคต่างๆ นอกจากนี้การได้รับสารจากภายนอกร่างกาย (Xenobiotics) หรือกระบวนการเมแทบอลิซึมผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidative Metabolism) ก็สามารถเหนี่ยวนำการสร้างอนุมูลอิสระได้ (กนกวรรณ จารุกาจร และคณะ, 2557)

อนุมูลอิสระแบ่งออกเป็นหลายประเภทได้แก่ รีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (Reactive Oxygen Species หรือ ROS) เช่นซุปเปอร์ออกไซด์แรดิคอล (Superoxide Radical) ไฮดรอกซิลแรดิคอล (Hydroxyl Radical) ซิงเกลตออกซิเจน (Singlet Oxygen) บางครั้งอาจไม่จัดให้ซิงเกลตออกซิเจนเป็นอนุมูลอิสระ แต่โดยคุณสมบัติแล้วซิงเกลตออกซิเจนก็สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ได้ เช่นในขบวนการโฟโต้เซนซิไทเซชัน (Photosensitization) ซัลเฟอร์เซนเตอร์แรดิคอล (Sulfur-Centered Radical) เช่น ไทอิลแรดิคอล (Thiyl Radical หรือ RS•) ซึ่งสามารถรวมตัวกับโมเลกุลของออกซิเจนได้และสามารถออกซิไดซ์ NADPH ได้ รวมถึงสามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ ได้แก่ HO•, O2• และคาร์บอนเซนเตอร์แรดิคอล (Carbon-Centered Radical) เกิดจากโมเลกุลของพันธะ C-H เกิดการแตกหักได้คาร์บอนที่มีอิเลคตรอนอิสระ (Carbon Radical) ที่สามารถรวมตัวกับโมเลกุลของออกซิเจนได้ และสามารถออกซิไดซ์ NADPH ได้ (กนกวรรณ จารุกาจร และคณะ, 2557)

การทำลายเซลล์ต่างๆของร่างกายจากอนุมูลอิสระส่งผลทำให้เซลล์เสียสภาพทั้งโครงสร้างและการทำงาน โดยอาจเสียสภาพแค่เพียงบางส่วนไปจนกระทั่งสูญเสียสภาพโดยถาวร โดยอนุมูลอิสระมักจะทำลายที่เซลล์ไขมัน โปรตีน และ ดีเอ็นเอ ผ่านกระบวนการสำคัญ ดังนี้

1. ลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่น เป็นการทำลายไขมันไม่อิ่มตัว (Polyunsaturated Lipid) ผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชันและเกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่กรดไขมันไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Fatty Acid Hydroperoxides) และสารประกอบอัลดีไฮด์ (Aldehydes)

2. การทำลายดีเอ็นเอ อนุมูลอิสระสร้างความเสียหายแก่ดีเอ็นเอ และนิวคลีโอโปรตีน (Nucleoproteins) ด้วยกลไกต่าง ๆ ทั้งโดยทางตรงจากการทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระหรือ โดยทางอ้อมจากการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์บางชนิดเช่น แคลเซียมไอออนดีเพนเดนท์เอนโด-นิวคลีเอส (Ca2+-Dependent Endonuclease) ส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์ต่างๆ เช่น การทำลายลำดับเบส (Base Lesion) การทำลายโครงสร้างของน้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบของดีเอ็นเอ (Sugar Lesion) การแตกหักของดีเอ็นเอสายเดี่ยว (Single Stranded Breaks) และการจับตำแหน่งผิดพลาดของดีเอ็นเอ และโปรตีน (DNA-Protein Cross-Links)

3. การทำลายโปรตีน โปรตีนเป็นเป้าหมายสำคัญหนึ่งที่มักจะถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ แม้ว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นอาจไม่รุนแรงถึงขั้นทำให้เซลล์เสียสภาพเช่นเดียวกับการทำลายไขมันและดีเอ็นเอ หากโปรตีนที่ถูกทำลายนั้นมีคุณสมบัติที่จำเพาะต่อการทำงานของเซลล์เช่น เอนไซม์ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ถูกทำลายเป็นตำแหน่งที่มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ (Active Site) ของเอนไซม์เหล่านั้น จะทำให้เอนไซม์สูญเสียคุณสมบัติและส่งผลให้

เซลล์เสื่อมสภาพได้ โดยกรดอะมิโนที่มีแนวโน้มที่จะถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระได้มากที่สุดคือ เมไธโอนีน (Methionine) และซีสเทอีน (Cysteine) เนื่องจากเป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์ (Sulfur) เป็นองค์ประกอบ (กนกวรรณ จารุกาจร และคณะ, 2557)

2.2 ความเครียดจากออกซิเดชันและโรคเกี่ยวกับความชรา (Oxidative Stress and Age-related Diseases)

ภาวะเครียดจากออกซิเดชั่นคือภาวะที่มีอนุมูลอิสระ (Free Radical) ในร่างกายมากจนสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีปริมาณไม่เพียงพอส่งผลให้เกิดการทำลายออกซิเดชัน (Oxidative Damage) ต่อดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมันและโมเลกุลขนาดต่างๆ โรคบางโรคมีสาเหตุจากการที่ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน ถูกทำลาย ด้วยกระบวนการออกซิเดชันในขณะที่บางโรคนั้นภาวะเครียดจากออกซิเดชันไม่ได้เป็นสาเหตุเบื้องต้นแต่เป็นผลสืบเนื่องจากกระบวนการของโรคที่ส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ อาทิ การติดเชื้อ (Infection) การบาดเจ็บ (Trauma) หรือการได้รับสารพิษ (Toxins) ซึ่งเป็นต้นเหตุของการสร้างและสะสมอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรค ภาวะไม่สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ในร่างกายมีผลรบกวนการแสดงออกของยีนและภาวะของโรคต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นอาทิ โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular Diseases), โรคมะเร็ง (Cancer), โรคเบาหวาน (Diabetes), โรคระบบประสาท (Neurological Diseases), โรคระบบภูมิคุ้มกัน (Immune Diseases), โรคตา (Eye Diseases) และภาวะชราภาพ (Aging Process) (Ligouri et al, 2018)

ความชราคือการสูญเสียสภาวะสมดุลเนื่องจากเครียดจากออกซิเดชันเรื้อรังซึ่งส่งผลกระทบต่อระบบประสาท ระบบต่อมไร้ท่อ และภูมิคุ้มกัน ผลที่ตามมาของการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันทำให้เกิดสภาวะการอักเสบซึ่งก่อให้เกิดวงจรความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเรื้อรังส่งผลให้การเจ็บป่วยและการตายที่เกี่ยวข้องกับอายุเพิ่มขึ้น

2.2.1 ความเครียดจากออกซิเดชันกับโรคหัวใจและหลอดเลือด (Oxidative Stress and CVDs)

โรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุสำคัญของการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตในผู้สูงอายุ งานวิจัยหลายชิ้นได้พิสูจน์แล้วว่าความอดทนของหัวใจต่อความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นจะลดลงตามอายุเนื่องจากการลดความเข้มข้นของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น กลูต้าไทโอนเปอร์-ออกซิเดส (GSH-px) และ ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (SOD) ซึ่งเชื่อมโยงโรคหลอดเลือดแข็งตัวกับ LDL และ คอเลสเตอรอลที่ถูกออกซิไดซ์ (Oxidized LDL) ซึ่งมีส่วนในการเปลี่ยนแปลงของหัวใจและหลอดเลือดในวัยชรา ความสัมพันธ์ที่สำคัญระหว่าง Oxidized LDL และความแข็งของหลอดเลือดที่สูงขึ้น เป็นปัจจัยเสี่ยงโรคหัวใจและหลอดเลือดเพิ่มเติมจากสาเหตุแบบดั้งเดิมอื่น ๆ (Ligouri et al, 2018)

2.2.2 ความเครียดจากออกซิเดชันกับโรคเบาหวาน (Oxidative Stress and diabetes)

โรคเบาหวาน (ประเภท 1 และ 2) เป็นโรคเกี่ยวกับการเผาผลาญที่เกี่ยวข้องกับปริมาณอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นและศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงทำให้เกิดความเครียดจากออกซิเดชัน อาจเร่งการเกิดภาวะแทรกซ้อนในโรคเบาหวาน ส่งผลต่อปฏิกิริยาการเกิดลิ่มเลือดซึ่งนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือด โรคเบาหวานถือได้ว่าเป็นผลกระทบที่ทำลายเนื้อเยื่อและออกซิเดชั่นของภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเรื้อรัง กลูโคสภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นจะนำไปสู่การผลิต RONS ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเกินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเซลล์ในการทำให้เป็นกลาง RONS ที่เพิ่มขึ้นจะกระตุ้นออกซิเดชั่นที่เกิดจากน้ำตาลในเลือดสูง: การกระตุ้นของโปรตีนไคเนส (PKC), การกระตุ้นให้เกิด AGEs สามารถทำลายเซลล์ที่ปรับเปลี่ยนการควบคุมการถอดรหัสยีนได้ การส่งสัญญาณระหว่างแมทริกซ์กับเซลล์อื่น ๆ และโปรตีนในเลือด (เช่น อัลบูมิน) ทำให้ตัวรับสัญญาณ (RAGEs) บนเซลล์แมคโครฟาจ (Macrophage) เพิ่มการผลิตสารสื่อการอักเสบได้ (Proinflammatory Cytokine) (Ligouri et al, 2018)

2.2.3 ความเครียดจากออกซิเดชันและโรคไตเรื้อรัง (Oxidative Stress and CKD)

ความเครียดจากออกซิเดชันมีบทบาทสำคัญในการลุกลามของโรคไตเรื้อรัง ผ่านความเสียหายของไตและภาวะขาดเลือดของไต และโดยทางอ้อมด้วยการอักเสบ ความดันโลหิตสูงและความผิดปกติของเยื่อบุผนังหลอดเลือด ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังอยู่ในสถานะอักเสบเรื้อรังโดยมีการกระตุ้น PMNs และ Monocytes เซลล์อักเสบเหล่านี้จะเพิ่มการหลั่งของ NADPH oxidase และ MPO ที่ช่วยเพิ่มการสร้าง ROS เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังผลิตแอนไอออนซุปเปอร์ออกไซด์ซึ่งจะปิดใช้งาน NO ช่วยลดความสามารถในการขยายหลอดเลือดที่มีส่วนทำให้เกิดความดันโลหิตสูง ระดับ NO จะลดลงเนื่องจากไม่มีสารตั้งต้น L-Arginine ซึ่งเกิดจาก L-Citrulline ในไต Superoxide

anion ยังสามารถทำปฏิกิริยากับ NO ที่สร้าง Peroxynitrite ซึ่งสามารถออกซิไดซ์ NOS ทำให้ไม่เสถียร NOS ที่ไม่เสถียรนี้จะทำให้เกิดการเพิ่มการผลิต Superoxide กิจกรรมของ NOS ยังถูกยับยั้งโดยสารยับยั้ง NOS เช่น ไดเมทิลอาร์จินีนแบบไม่สมมาตร (Asymmetric Dimethyl-Arginine-ADMA) ซึ่งสะสมในผู้ป่วยไตเรื้อรัง และก่อให้เกิดความดันโลหิตสูงผ่านการหดตัวของหลอดเลือด ผู้ป่วยไตเรื้อรังยังพบค่าโฮโมซิสเตอีน (Homocysteine) ในระดับสูงซึ่งจะเพิ่มการผลิต ROS และ ADMA ช่วยลดการสังเคราะห์ NO และเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ความผิดปกติของ เยื่อบุผนังหลอดเลือดที่เกิดจากความเครียดออกซิเดชันการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของหลอดเลือดและนำไปสู่การเข้าของ LDL Cholesterol เข้าสู่ชั้นภายในและเพิ่มระดับ Oxidized LDL ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการของโรคหลอดเลือด ความผิดปกติของเยื่อบุผนังหลอดเลือดที่เกิดจาก ADMA นำไปสู่การเกิดโปรตีนในปัสสาวะซึ่งเป็นสัญญาณของความเสียหายของไตที่เกี่ยวข้องในทางกลับกันด้วยการหลั่ง Cytokines Proinflammatory ซึ่งจะเพิ่มการผลิต ROS ทำให้ความเสียหายของไตแย่ลง ในที่สุดในสภาวะความเครียดจากออกซิเดชันจะส่งผลให้เยื่อหุ้มไขมันของเซลล์เม็ดเลือดแดงจะลดความยืดหยุ่นทำให้อายุการใช้งานสั้นลง สิ่งนี้อาจอธิบายถึงสาเหตุของโรคโลหิตจางในผู้ป่วยที่เป็นโรคไตเรื้อรัง นอกเหนือจากการลดการสังเคราะห์ Erythropoietin โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้สูงอายุและเป็นโรคไตเรื้องรัง จะเร่งให้เกิดความชราและนำไปสู่ความอ่อนแอในผู้ป่วยสูงอายุผ่านกลไกต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเครียดจากการออกซิเดชัน (Ligouri et al, 2018)

2.2.4 ความเครียดจากออกซิเดชันและโรคมะเร็ง (Oxidative Stress and Cancer)

จากงานวิจัยพบว่าความเครียดจากออกซิเดชันอาจมีผลในการพัฒนาและการลุกลามของมะเร็งได้ จากการตรวจระดับ ROS พบว่ามีสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยมะเร็งเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (GPx) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (SOD) ยังสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยมะเร็ง มีหลักฐานบ่งชี้ว่าเซลล์มะเร็งอยู่ภายใต้ความเครียดออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นร่วมกับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากเนื้องอกจะส่งผลให้มีกิจกรรมการเผาผลาญที่เพิ่มขึ้น, ความผิดปกติของไมโทคอนเดรีย และการสร้าง ROS ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ phagocytes ที่อักเสบซึ่งไม่สามารถตรวจจับเซลล์ที่เติบโตผิดปกติได้และมันยังสามารถสร้าง ROS จำนวนมากได้ นอกจากนี้เซลล์มะเร็งต้องการปริมาณ ATP ในระดับสูงเพื่อการเติบโตและการแพร่กระจายของเซลล์ที่ไม่มีการควบคุม ความต้องการพลังงานสูงที่ผลิตจากห่วงโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรียมีส่วนช่วยในการเพิ่มการสร้าง ROS กลไกอื่น ๆ ที่อาจนำไปสู่ความเครียดออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นในเชื้อโรคมะเร็ง ได้แก่ การเผาผลาญพลังงานที่เปลี่ยนแปลงไป

เนื่องจากการขาดสารอาหารและการผลิตไซโตไคน์ที่ก่อให้เกิดการอักเสบมากเกินไปและการใช้ยาต้านมะเร็ง (Phoonlapdacha et al, 2009)

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) เป็นสารที่ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป หรือยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระนั้น ๆ สารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไปซึ่งมีทั้งที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ และที่ไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำ และสารประกอบที่ละลายในไขมันโดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบเช่น ดักจับอนุมูลอิสระ(Radical Scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (Singlet Oxygen Quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal Chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain-Breaking) เสริมฤทธิ์ (Synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme Inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระเป็นต้น ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระดังสมการ 1 และ 2

$$R\bullet + AH \longrightarrow RH + A\bullet \quad \text{(สมการ 1)}$$

$$RO\bullet + AH \longrightarrow ROH + A\bullet \quad \text{(สมการ 2)}$$

โดย R• และ RO• คืออนุมูลอิสระและ AH คือสารต้านอนุมูลอิสระ แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่งได้แก่สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic Antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural Antioxidants) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ Propyl Gallate, 2-Butylated Hydroxyanisole, 3-Butylate Hydroxyanisole, BHT (Butylated Hydroxytoluene) และ Tertiary Butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไปสารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์วิตามินและสารอื่นๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามินเช่นวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาซึม วิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เมมเบรน และกลูตาไทโอน (Glutathione) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกัน

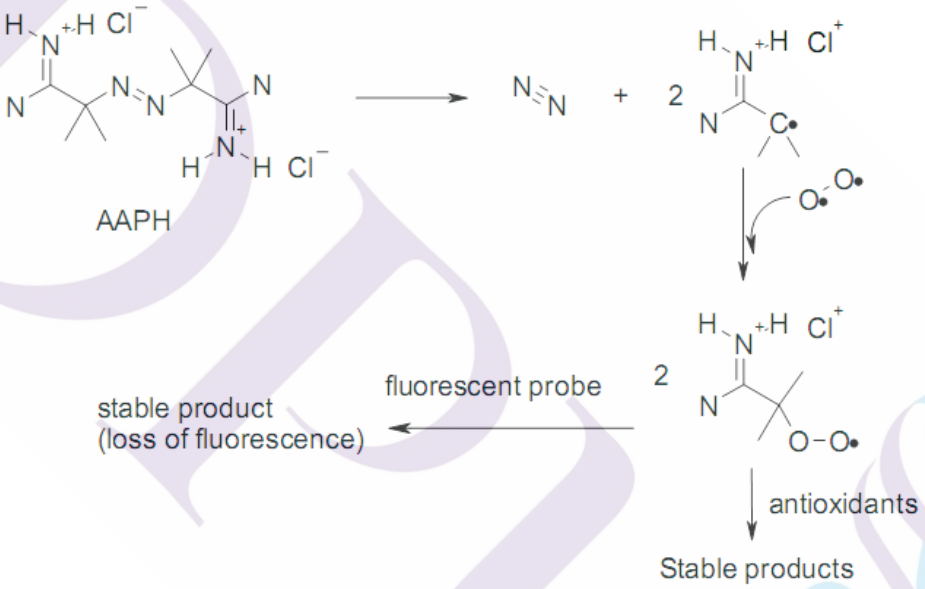
อันตรายจากอนุมูลอิสระที่ ไซโตพลาซึมและเมมเบรน ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่ กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione Peroxidase, GPx), กลูตาไทโอนรีดัคเทส (Glutathione Reductase) และ กลูตาไทโอนทรานเฟอร์เรส (Glutathione Transferase) ซึ่งทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจนและน้ำ ส่วนเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (SOD) สามารถเปลี่ยน $O2^{\bullet-}$ เป็น H_2O_2 ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ได้แก่ แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) และ ยูบิควิโนน (Ubiquinone) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ (บุหรัน พันธุ์สวรรค, 2556)

2.3.1 การประเมินประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง

วิธีการประเมินหาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชที่นำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร กำลังเป็นที่ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเพราะทำให้ข้อมูลที่ได้มีความหลากหลายเช่น สภาวะทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน การกระจายตัวของสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน หรือฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน ที่มีอยู่แล้วภายในร่างกาย หรือได้รับจากการบริโภคอาหารที่ได้จากพืช แนวคิดของวิธีการประเมินนี้เกิดขึ้นครั้งแรกในสาขาวิชาเคมี ต่อมาได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านชีววิทยา การแพทย์ ด้านระบาดวิทยา และทางโภชนาการ ซึ่งมีงานวิจัยจำนวนมากได้ศึกษาเพื่อประเมินความสามารถการต้านออกซิเดชันรวมของผลิตภัณฑ์อาหาร แต่ยังไม่มีวิธีประเมินที่เป็นทางการ โดยแนะนำไว้ว่าการประเมินฤทธิ์การต้านออกซิเดชันควรประเมินหลายๆ สภาวะทั้งมีขั้วหรือไม่มีขั้ว และเลือกใช้วิธีการประเมินที่มีกลไกแตกต่างกัน ซึ่งวิธีการประเมินส่วนใหญ่เป็นการวัดจากค่าการดูดกลืนแสงหลังจากสารสกัดทำปฏิกิริยา (Spectrophotometric Assay) วิธีการที่นิยมใช้ เช่น 2,2-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid(ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) และ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) เป็นต้น วิธีที่ใช้ประเมินความสามารถต้านออกซิเดชัน ขึ้นอยู่กับกลไกการเกิดปฏิกิริยาแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ (1) การประเมินจากการส่งผ่านอิเล็กตรอนให้กับอนุมูลอิสระ เป็นการวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีสารละลาย เช่น วิธี FRAP DPPH และ TEAC และ (2) การประเมินจากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นวิธีการที่นิยมวัดหาความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในเลือด หรือพลาสมาในการขจัดอนุมูลอิสระโดยให้อะตอมไฮโดรเจนเช่น วิธี ORAC (ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย., 2555).

วิธี Oxygen Radical Antioxidant Capacity (ORAC) เป็นวิธีการวัดหาดัชนีความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวม ที่พัฒนาขึ้นโดย Cao และคณะ โดยวัดความสามารถของสารที่ทดสอบในการยับยั้งอนุมูลเปอร์ออกซี (Peroxy Radicals) ไม่ให้เข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งจะหยุด

ปฏิกิริยาลูกโซ่ด้วยกลไกการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจนโดยจะไปยับยั้งอนุมูลอิสระที่จะทำปฏิกิริยาเปลี่ยนจากสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์เป็นสารไม่ให้สารฟลูออเลสเซนส์ ซึ่งปริมาณและความสามารถของสารทดสอบจะแปรผันตรงกับปริมาณสารฟลูออเลสเซนส์ โดยวิธีนี้จะใช้สาร β-phycoerythrin (fluorescein) ซึ่งมีคุณสมบัติให้แสงฟลูออเลสเซนส์ที่ความยาวคลื่น 565 นาโนเมตร เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสง หรือรังสีที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร สาร β-phycoerythrin จะถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ ทำให้คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงเสียไป (ภาพที่ 2.1) (ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย, 2555).



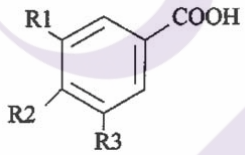
ภาพที่ 2.1 ปฏิกิริยาของ AAPH ของสารต้านอนุมูลอิสระในช่วงการทดสอบ ORAC

ที่มา: Zulueta และคณะ (2009) อ้างถึงใน Loypimai et al. (2011)

2.4 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก คือ สารประกอบที่มีหมู่ฟีนอลเป็นองค์ประกอบสำคัญ และอาจมีหมู่เคมีอื่นๆ เข้ามาเกาะที่ตำแหน่งต่างๆ โครงสร้างพื้นฐานเป็นวงอะโรมาติก (Aromatic Ring) ที่มีหมู่ ไฮดรอกซิล (Hydroxyl Group) เข้ามาแทนที่ซึ่งอาจเข้ามาแทนที่ 1 หมู่หรือมากกว่า สารประกอบ ฟีนอลิกสามารถจำแนกเป็นกลุ่มได้จากโครงสร้างที่แตกต่างกัน ได้แก่ จำนวนคาร์บอน และหมู่ที่เข้ามาแทนที่ในตำแหน่งต่างๆ ซึ่งมีการจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกแล้วมากกว่า 8,000 ชนิด โดยจำแนกเป็นกลุ่มๆ ได้แก่ กรดฟีนอลิก (Phenolic Acids) ลิกนิน (Lignin) กรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์ (Hydroxycinnamic Acid and Derivatives) และ ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกแต่ละกลุ่มมีโครงสร้างและองค์ประกอบแตกต่างกันซึ่งพบได้ในผักหรือผลไม้ชนิดต่างๆ ฟีนอลิกจากพืชสามารถจำแนกเป็นกลุ่มหลักๆ โดยใช้จำนวนของคาร์บอนที่เชื่อมต่อกับโครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลิกเป็นเกณฑ์ ดังแสดงในตารางที่ 1 (Robards et al, 1999)

ตารางที่ 2.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกและอนุพันธ์ที่พบในพืชทั่วไป



Acid	R_1	R_2	R_3
α-Hydroxybenzoic acid	H	OH	H
Protocatechuic acid	H	OH	OH
Vanillic acid	H	OH	OCH_3
Gallic acid	OH	OH	OH
Syringic acid	OCH_3	OH	OCH_3

ที่มา: Robards et al. (1999: 401-436)

คุณสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากของสารประกอบฟีนอลิกคือการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านการกลายพันธ์ (Anti-Mutagens) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (Free Radical) โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังนั้นสารประกอบฟีนอลิกจึงได้รับความสนใจอย่างมากเพื่อช่วยในการป้องกันการเป็นมะเร็ง และชะลอความแก่ ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอางและอื่นๆ แต่การใช้สารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติมีปัญหาในเรื่องความไม่คงตัว ทั้งจากแสงและอุณหภูมิ และการละลายของสารรวมทั้งรสฝาดและขมที่มีในสารประกอบฟีนอลิก การเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ ขบวนการผลิต และจัดเก็บ จึงมีผลต่อฤทธ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์สารประกอบฟีนอลิก (Robards et al, 1999)

2.5 ผักเคล

ผักเคล มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Brassica oleracea var. sabellica เป็นผักใบเขียวในวงศ์ Brassicaceae พบว่ามีหลักฐานเบื้องต้นที่แสดงว่า ผักเคลมาจากภูมิภาคเมดิเตอร์เรเนียนตะวันออกและเอเชียไมเนอร์ ต้นเคลเป็นพืชล้มลุก ขนาดและการเปลี่ยนแปลงทางโภชนาการขึ้นอยู่กับความหลากหลายและสภาพการเจริญเติบโต โดยการเจริญเติบโตของพืชชนิดนี้ขึ้นอยู่กับการปฏิบัติทางการเกษตรที่ใช้และสภาพภูมิอากาศ และโดยทั่วไปมันจะพร้อมเก็บเกี่ยวหลังจากหว่านเมล็ดไปแล้วสองเดือน ผักเคลที่มีให้เลือกหลากหลาย ได้แก่ เคลเขียว เคลแคระ เคลไขกระดูก เคลใบหยิก เคลสก๊อต เคลต้นโดยทั่วไปแล้วใบเคลจะถูกบริโภคทั้งแบบสดและยังไม่ได้แปรรูปเป็นสลัดหรือปรุงสุกและใช้เป็นเครื่องปรุงและมักขายในรูปแบบสดกระป๋องและแช่แข็ง (Satheesh & Fanta, 2020)

ผักเคลเป็นแหล่งที่ดีของเส้นใยและแร่ธาตุเช่นโพแทสเซียมที่มีการดูดซึมแคลเซียมสูงกว่านม นอกจากนั้นยังมีคาร์โบไฮเดรต พรีไบโอติก กรดไขมันไม่อิ่มตัว และวิตามินต่าง ๆ ในขณะที่ปัจจัยต่อต้านโภชนาการเช่นออกซาเลตแทนนินและไฟเตตมีความเข้มข้นสูงกว่า การศึกษาวิจัยรายงานถึงกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพที่แตกต่างกันของผักเคล เช่นบทบาทในการป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ,ฤทธิ์ต้านการอักเสบ,ความสามารถในการต้านพิษ,ฤทธิ์ในการป้องกันทางเดินอาหาร, การยับยั้งการก่อตัวของสารก่อมะเร็ง, ผลบวกต่อจุลินทรีย์ในลำไส้, ยาต้านจุลชีพต่อจุลินทรีย์เฉพาะ อย่างไรก็ตามมีการนำผักเคลมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เช่น ผักเคลอบ และเครื่องดื่ม ผสมผักเคล จึงสามารถสรุปได้ว่าผักเคลมีศักยภาพที่ดีในการนำไปใช้เป็นทางเลือกในการบริโภคได้ (Satheesh & Fanta, 2020)

2.6 กรรมวิธีการผลิตผักผง (Vegetable Powder)

เหตุผลหลักในการผลิตผักผงเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาโดยการลดปริมาณน้ำ เนื่องจากผักและผลไม้มีอายุการเก็บรักษาสั้นมาก ดังนั้นวัตถุประสงค์หลักของการเปลี่ยนผักให้อยู่ในรูปแบบผง คือการรักษาความคงตัวและการทำงานของส่วนผสมต่าง ๆ ในผักไว้ จนกว่าจะมีการนำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งสารสกัดจากผักและผลไม้อุดมไปด้วยส่วนผสมที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพตามธรรมชาติ โดยส่วนผสมต่าง ๆ เหล่านี้รวมอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารที่วางจำหน่ายในตลาด ในรูปแบบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและ "อาหารเพื่อสุขภาพ" หรือ "Nutraceuticals" ขั้นตอนการผลิตผักผงมีการพัฒนาใหม่ ๆ เกี่ยวกับเทคโนโลยีการผลิตที่เกี่ยวข้องและวิธีการที่ใช้ในการประเมินคุณภาพของผักผงจะกล่าวในส่วนนี้ (Jiang & Adhikari, 2013)

2.6.1 เทคโนโลยีการอบแห้ง (Drying Technology)

การคายน้ำและการทำให้แห้งเป็นวิธีที่ใช้กันมากที่สุดวิธีหนึ่งในการเตรียมผงจากผักและผลไม้สด มีความพยายามในการวิจัยอย่างมากในการเสนอข้อมูลเช่นกลไกการสร้างอนุภาค, การออกแบบอุปกรณ์, การอบแห้ง, การสร้างแบบจำลองของกระบวนการอบแห้ง และการระบุพารามิเตอร์ในการอบแห้งเพื่อการปกป้องสารอาหารที่ดีขึ้นในโครงสร้างดั้งเดิม (Jiang & Adhikari, 2013)

2.6.1.1 การอบแห้งด้วยพลังงานแสงอาทิตย์/เตาอบ (Solar oven Drying)

การตากแดดแบบเปิดโล่งนิยมใช้กับผักผลไม้แห้ง อย่างไรก็ตามสำหรับการผลิตขนาดใหญ่ ข้อจำกัดของการอบแห้งแบบเปิดโล่งเป็นที่ทราบกันดี ต้นทุนแรงงานที่สูง ความต้องการของพื้นที่อบแห้งขนาดใหญ่ การควบคุมกระบวนการอบแห้งที่ไม่ดีทำให้โอกาสในการย่อยสลายของผลิตภัณฑ์ที่สูงขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาทางชีวเคมีและการกระทำของจุลินทรีย์เป็นข้อจำกัดหลักของการตากแดด ในการตากแดดเป็นเรื่องง่ายที่ผักและผลไม้จะได้รับผลกระทบเนื่องจากฝนตกพายุและน้ำค้าง ไม่สะดวกในการควบคุมความชื้นสุดท้ายให้อยู่ในระดับที่ต้องการ เมื่อเทียบการอบแห้งด้วยพลังงานแสงอาทิตย์และการทำให้แห้งด้วยเตาอบ พบว่าเตาอบช่วยให้สามารถควบคุมพารามิเตอร์การอบแห้งได้ดีขึ้นเช่นอุณหภูมิและอัตราการไหลของอากาศ อย่างไรก็ตามการอบแห้งด้วยเตาอบยังคงเป็นระบบอบแห้งที่ใช้พลังงานและใช้แรงงานมาก (Jiang & Adhikari, 2013)

2.6.1.2 การอบแห้งด้วยสุญญากาศ (Vacuum Drying)

การทำแห้งแบบสูญญากาศ มีลักษณะเด่นบางประการเช่นอัตราการอบแห้งที่สูงขึ้นอุณหภูมิในการอบแห้งที่ต่ำลง และสภาพแวดล้อมการผลิตที่ขาดออกซิเจน คุณสมบัติเหล่านี้เป็นประโยชน์และช่วยปรับปรุงคุณภาพและ คุณค่าทางโภชนาการของผักและผลไม้แห้งและด้วยเหตุนี้

จึงมีการใช้ การอบแห้งด้วยสูญญากาศ ในการทำให้ผักผลไม้แห้ง การทำแห้งแบบสุญญากาศเป็นแนวคิดที่เหมาะสำหรับการอบแห้งวัสดุที่ไวต่อความร้อน และ / หรือออกซิเจน (เช่นผักและผลไม้) เนื่องจากเป็นข้อดีของการกำจัดความชื้นที่อุณหภูมิต่ำ และยังสามารถลดความเป็นไปได้ในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นอีกด้วย (Jiang & Adhikari, 2013)

2.6.1.3 การทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze Drying)

การทำให้แห้งแบบเยือกแข็งถือเป็นวิธีการอบแห้งที่ดีที่สุดในการกำจัดน้ำออกจากวัสดุที่ไวต่อความร้อนเช่นผักและผลไม้และเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์แห้ง โดยสามารถกำจัดน้ำได้โดยการระเหิดที่อุณหภูมิและแรงดันต่ำมากซึ่งทำให้มั่นใจได้ว่าผลิตภัณฑ์แห้งมีคุณภาพสูง เมื่อเทียบกับวิธีการคายน้ำอื่น ๆ การทำให้แห้งแบบเยือกเข็งมีลักษณะสำคัญเช่นความสามารถในการคงสภาพเดิม โครงสร้างและสีการสูญเสียสารอาหารเล็กน้อยและความสามารถในการคืนสภาพที่ดีเยี่ยม เนื่องจากการพัฒนาโครงสร้างที่มีรูพรุนในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการอบแห้งแบบเยือกแข็ง จึงเป็นที่ต้องการในการอบแห้งผักผลไม้และสารสกัดเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง อย่างไรก็ตามเครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็งส่วนใหญ่ที่มีอยู่ในปัจจุบันต้องใช้เวลาในการอบแห้งนานขึ้นซึ่งนำไปสู่การใช้พลังงานสูงและต้นทุนเงินทุนสูง ต้นทุนของการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง อาจสูงกว่าการอบแห้งด้วยอากาศร้อน 2–5 เท่า และ 6 เท่าเมื่อเทียบกับการทำให้แห้งแบบสเปรย์เพื่อให้ได้ปริมาณความชื้นที่เท่ากัน (Jiang & Adhikari, 2013)

2.6.1.4 การพ่นแห้ง (Spray Drying)

สารที่จะนำมาทำการพ่นแห้ง อาจเป็นสารละลาย สารแขวนลอย หรือสารครีมเข้มข้น (paste) ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายมักจะอยู่ในรูปแบบผงรวมตัวกันหรือเม็ดเล็ก ๆ การผลิตอนุภาคแห้งจากอาหารเหลวในขั้นตอนเดียวทำให้การทำสเปรย์แห้งเป็นกระบวนการที่เป็นเอกลักษณ์และมีความสำคัญ ระยะเวลาที่สั้นเป็นพิเศษในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นทำให้เหมาะสำหรับการอบแห้งวัสดุที่ไวต่อความร้อนเช่นผักและผลไม้ การทำแห้งแบบสเปรย์เป็นที่ต้องการสำหรับการอบแห้งผักผลไม้และสารสกัดเนื่องจากไวต่อความร้อนและผลิตภัณฑ์แบบผงจึงเป็นที่สนใจของผู้บริโภค (Jiang & Adhikari, 2013)

2.6.2 การบดเป็นผง (Grinding or pulverization)

จุดประสงค์ของการใช้การบดคือการเปลี่ยนมวลแห้งให้เป็นอนุภาคขนาดเล็กพิเศษระดับไมครอน เนื่องจากวัสดุอาหารโดยเฉพาะวัสดุผักและผลไม้ มีความไวต่อความร้อนการย่อยสลายด้วยความร้อนระหว่างการบดเป็นผงเกิดขึ้นได้ง่าย ดังนั้นจึงต้องมีการระบายความร้อนที่เพียงพอในระหว่างการบดวัสดุอาหาร การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิระหว่างการบดจะทำให้อาหารอ่อน

ตัวลงและทำให้เกิดความเหนียว ต้องคำนึงถึงค่า T_g (Glass transition temperature) ที่ต่ำ ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้แห้งต้องใช้ความระมัดระวังเป็นพิเศษขณะทำการบด (Jiang & Adhikari, 2013)

2.6.3 การจัดเก็บ (Storage)

เหตุผลประการหนึ่งในการผลิตผงจากผักและผลไม้คือการยืดอายุการเก็บรักษาโดยการลดปริมาณน้ำ T_g เป็นหนึ่งในตัวบ่งชี้คุณภาพที่สำคัญที่สุดในระหว่างการเก็บรักษาผงผักและผลไม้ ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าการจัดเก็บผงผักและผลไม้เหล่านี้ไว้ต่ำกว่า T_g มีประโยชน์ในการหลีกเลี่ยงความเหนียวและการอบในระหว่างการจัดเก็บ ผลิตภัณฑ์เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเป็นหนึ่งในสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพของผงผักและผลไม้ในระหว่างการอบแห้งและในระหว่างการเก็บรักษา การเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลระหว่างการเก็บรักษาพบว่า ขึ้นอยู่กับความชื้นของผลิตภัณฑ์และอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ อัตราการเกิดสีจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ทั้งการเกิดออกซิ-เดชั่นและการทำงานของเอนไซม์สามารถทำให้เกิดสีน้ำตาลได้ หากเอนไซม์ไม่ได้รับการปิดการใช้งานอย่างเพียงพอในระหว่างการปรับสภาพเอนไซม์ที่มีชีวิตอยู่ จะกระตุ้นการเกิดสีน้ำตาลของเอนไซม์ในระหว่างการเก็บรักษา ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นไม่เพียงแต่สามารถทำให้ผลิตภัณฑ์เป็นสีน้ำตาลและเสื่อมสภาพ แต่ยังสามารถทำลายส่วนผสมที่ใช้งานได้ การจัดเก็บผงผักและผลไม้ในภาชนะที่เหมาะสมและการป้องกันแสงออกซิเจนและความชื้นเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับอายุการเก็บรักษาของผงผักและผลไม้ที่ยาวนานขึ้น (Jiang & Adhikari, 2013)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในผักใบเขียว และผลิตภัณฑ์ผักผง

2.7.1 งานวิจัยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC ในผักเคล

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC ในผักเคล

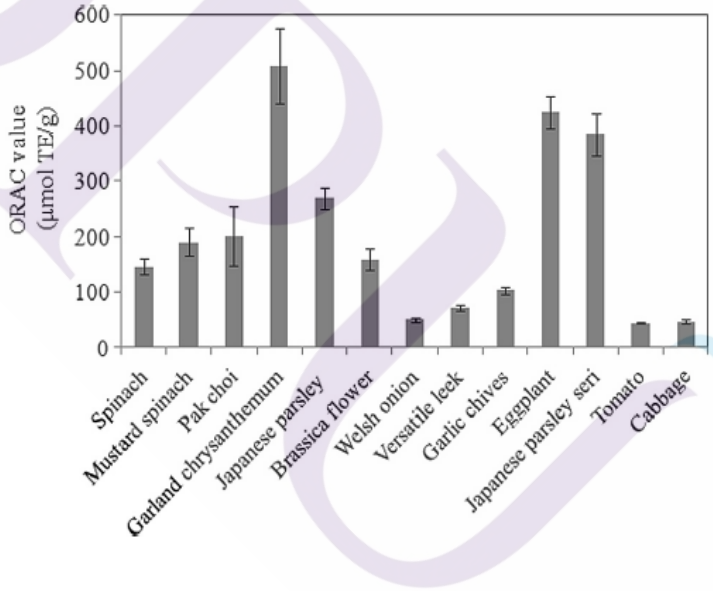
แหล่งของผักเคล	Total Phenolic Content	ORAC	แหล่งอ้างอิง
ผักเคลจากโคโลราโด	16.3 - 18.8 mg GE/g	201.4 - 431.9 µM TE/g	Zhou K. & Yu L., 2005
ผักเคลจากอิตาลี	13.8 mg GE/g dry weight	-	Heimler et al, 2006
ผักเคลจากตุรกี	1366 ng GE/g FW (1.366 mg GE/g FW)	-	Ayaz et al, 2007
ผักเคลจากเมกซิโก	6103 mg GE/kg (6.103 mg GE/g)	10513 mg Trolox/kg	Becerra-Moreno et al, 2013
ผักเคลจากแคลิฟอเนีย	1.59 – 2.33 mg GE/g	13.63 - 35.46 µM TE/g	Yu et al, 2018
ผักเคลจากจีน	166 mg GAE /100g (1.66 mg GAE/g)	3611 µM TE/100g (36.11 µM TE/g)	Wan et al, 2014

2.7.2 งานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC ในผักทั่วไป

Isabelle และคณะได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผัก 66 ชนิดที่นิยมบริโภคในสิงคโปร์ โดยทำการวิเคราะห์ H-ORAC ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (TPC) กรดแอสคอร์บิก (AA) และสารต้านอนุมูลอิสระ Lipophilic พบว่าผักที่มีสีเข้มมักมีสาร H-ORAC, TPC, AA และ Carotenoid สูง ผักที่มีเอกลักษณ์เฉพาะในตลาดเอเชียเช่น เก๋ากี้ (Lycium Chinense Miller) ผักชี ผักคะน้า ผักโขม และพริกแดงได้รับการจัดอันดับสูงอย่างต่อเนื่องในระดับ H-ORAC, TPC,

แคโรทีนอยด์และวิตามินอี ผลการวิจัยโดยรวมชี้ให้เห็นว่าผักใบเขียวเข้มและสีสดใสมักมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง (Isabelle et al, 2009)

Kameya และคณะได้ทำการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ Electron Paramagnetic Resonance (EPR) การดักจับสปินนิ่ง (Spinning Trapping) คือ เทคนิคที่กำหนดขึ้นเพื่อระบุและหาปริมาณอนุมูลอิสระ อนุมูลที่ไม่เสถียรสูงจะถูกดักจับโดยสารประกอบเฉพาะ (Spin Trap) สร้าง Adduct ที่มีความเสถียรนานพอที่จะวิเคราะห์โดยใช้สเปกโตรสโคปี EPR ที่เพื่อเปรียบเทียบกับวิธี ORAC ที่ใช้กันทั่วไปและระบุระดับความสัมพันธ์ระหว่างเทคนิค โดยศึกษาในสารสกัดจากผัก 54 ชนิดที่แตกต่างกันสำหรับอนุมูลหลายตัวและผลการทดลองเปรียบเทียบกับค่าความสามารถในการดูดซับอนุมูลออกซิเจน พบความสัมพันธ์ที่ดีระหว่างทั้งสองวิธีสำหรับ Superoxide และ Alkoxyl Radicals แต่ไม่ใช่สำหรับ Hydroxyl ผลการทดสอบของฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระ ORAC ของผักในการทดสอบนี้ แสดงในรูป (Kameya et al, 2013)



ภาพที่ 2.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากผักด้วยวิธี H-ORAC

ที่มา: Kameya et al. (2013, p. 870)

Normah และคณะได้ทำการศึกษาเพื่อตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในผักใบเขียวโดยใช้การตรวจ ORAC, ABTS และ DPPH ของส่วนประกอบของโพลีฟีนอลที่

แตกต่างกัน (Free Phenolic, Alkaline Hydrolysate, Acidic Hydrolysate) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของปริมาณกรดฟีนอลิกที่ระบุไว้ ทำการวัดโดยใช้การทดสอบที่แตกต่างกันรวมถึงการทดสอบ ORAC, ABTS และ DPPH (End-Point Assay and Kinetic Assay) ในสารสกัดจากกรดฟีนอลิกอิสระ O. Basilicum (กะเพรา) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ORAC= 521804 ± 4243 μmol TE / 100g DW, ABTS = 329.8 ± 0.4mg TE / g DW และ DPPH = 9.0 ± 1.8 μg GAE / g DW ในขณะที่ A. occidentale (เม็ดมะม่วงหิมพานต์) ในสารสกัดอัลคาไลน์ไฮโดรไลเสตพบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดในการทดสอบทั้งสามวิธี: ORAC= 889126 ± 7193 μmol TE / 100g DW, ABTS = 466.5 ± 7.9 mg TE / g DW และ DPPH= 3.5 ± 0.4 μg GAE / g DW ในขณะที่ในไฮโดรไลเสตที่เป็นกรดสารสกัด A. occidentale (เม็ดมะม่วงหิมพานต์) ยังมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วย (ORAC = 560504 ± 5785 μmol TE / 100g DW, ABTS = 387 ± 0.7 mg TE / g DW และ DPPH = 5.9 ± 0.5 μg GAE / g DW) (Normah et al., 2018)

2.7.3 งานวิจัยในคนเกี่ยวกับการรับประทานผักปริมาณสูงกับผลทางสุขภาพ

McEligot และคณะได้ทำการศึกษาเพื่อตรวจสอบความเป็นไปได้ของการทดลองการรับประทานอาหารที่มีปริมาณผักสูงเพื่อลดความเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำของมะเร็งเต้านมในสตรี โดยทำการศึกษากับผู้ทดสอบที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมะเร็งเต้านมขั้นต้นภายใน 4ปีที่ผ่านมาระหว่างเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2536 ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2537 ได้คัดเลือกอาสาสมัคร 93 รายจากรายชื่อทะเบียนมะเร็ง ในกลุ่มทดสอบบริโภคผักปริมาณสูงได้มีการบริโภคอาหารประจำวัน: ผัก 5 หน่วยบริโภค, น้ำผักสด 16 ออนซ์, ผลไม้ 3 หน่วยบริโภค, พลังงาน 15% จากไขมัน และไฟเบอร์ 30 กรัม ส่วนกลุ่มควบคุมได้บริโภคผักและผลไม้ 5 หน่วยบริโภคต่อวันตามคำแนะนำโดยสถาบันมะเร็งแห่งชาติ (NCI) แนวทางการและแนวทางการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพของประชาชนทั่วไป (USDA. 1990) ได้ทำการตรวจสอบความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในพลาสมาหลังจากการทดสอบที่เวลา 1 และ 3 ปี กลุ่มทดสอบพบค่าที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของ b-Carotene, a-Carotene, Lutein และ b-Cryptoxanthin ที่ 12 เดือน (P, 0.05) และที่ 36 เดือนมีค่า b-Carotene, a-Carotene และ Lutein ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P, 0.05) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของดัชนีมวลกาย (BMI) และความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลในพลาสมาเป็นการทำนายการเปลี่ยนแปลงแคโรทีนอยด์ในพลาสมาจากค่าพื้นฐานเป็น 3 ปี ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ในพลาสมามีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของค่าดัชนีมวลกายการเปลี่ยนแปลงขอคอเลสเตอรอลในพลาสมาและความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์พื้นฐาน การตอบสนองของแคโรทีนอยด์ในพลาสมา

อาจเป็นตัวบ่งชี้การบริโภคผักในปริมาณสูงในระยะยาวสำหรับผู้หญิงที่เสี่ยงต่อการกลับเป็นมะเร็งเต้านม (McEligot et al,1999)

Maskarinec และคณะได้ทำการศึกษา Randomized Intervention Study ได้ทดสอบความเป็นไปได้ในการเพิ่มปริมาณการบริโภคผักและผลไม้ในผู้หญิงที่มีสุขภาพดีเป็น 9 หน่วยบริโภคต่อวันผ่านการให้คำปรึกษาด้านอาหารและกิจกรรมกลุ่ม เพื่อสำรวจกลไกการป้องกันมะเร็งที่เป็นไปได้ของผักและผลไม้ได้ทำการตรวจสอบผลการรักษาระดับฟีนอลในพลาสมาและสารที่มีปฏิกิริยากรดไทโอบาร์บิทูริกที่วัดได้ เทียบเท่ากับ Malondialdehyde ซึ่งเป็นตัวที่แสดงถึงค่าความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เป็นไปได้ ผู้หญิงในกลุ่มทดสอบ (n : 5, 13) และกลุ่มควบคุม (n : 5, 16) รายงานว่ามีการบริโภคผักและผลไม้เฉลี่ยต่อวัน 3.3 และ 3.2 ตามลำดับหลังจาก 3 และ 6 เดือนของการทดสอบ ได้ทำการการเพิ่มปริมาณผักและผลไม้ขึ้นเป็น 8.3 และ 7.4 เสิร์ฟในขณะที่กลุ่มควบคุมรายงานการเสิร์ฟต่อวันโดยเฉลี่ย 4.2 และ 4.1 การเพิ่มขึ้นของระดับแคโรทีนอยด์ในพลาสมาจาก 1249 มก. / ลิตรที่ค่าพื้นฐานเป็น 1854 และ 1827 มก. / ลิตรหลังจาก 3 และ 6 เดือนยืนยันว่าสอดคล้องกับคำแนะนำด้านอาหารในกลุ่มทดสอบ ระดับแคโรทีนอยด์ในพลาสมาระหว่างการควบคุมเปลี่ยนไปเล็กน้อยจาก 1165 ถึง 1231 และ 1291 มก. / ลิตรในขณะที่ระดับฟีนอลทั้งหมดไม่ตอบสนองตามสมมติฐาน ระดับ malondialdehyde ลดลงเล็กน้อยในกลุ่มแทรกแซง ผลลัพธ์เหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าผู้หญิงที่มีแรงจูงใจสามารถเพิ่มปริมาณการบริโภคผักและผลไม้ได้อย่างมากซึ่งนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของระดับแคโรทีนอยด์ในพลาสมา (Maskarinec et al,1999)

Gandini และคณะได้ทำการวิเคราะห์เชิงอภิมาน (Meta-Analysis) เพื่อสรุปข้อมูลที่เผยแพร่เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างมะเร็งเต้านม ผลไม้และ การบริโภคผักและ / หรือการบริโภคเบต้าแคโรทีนและวิตามินซี ความเสี่ยงสัมพัทธ์ (Relative Risk) ถูกแยกออกจากการศึกษาที่ตีพิมพ์ 26 ฉบับ ตั้งแต่ปี 1982 ถึง 1997 โดยใช้แบบจำลองเอฟเฟกต์แบบสุ่มและแบบคงที่ (Random and fixed effects model) ระหว่างการศึกษาพบความแตกต่างของผัก ผลไม้ วิตามินซี แต่ไม่พบความแตกต่างสำหรับเบต้าแคโรทีน สรุปว่าความเสี่ยงสัมพัทธ์ (RR) ประมาณการตามแบบจำลองผลกระทบแบบสุ่มยกเว้นเบต้าแคโรทีนสำหรับ การบริโภคสูง เมื่อเทียบกับ การบริโภคต่ำ ที่ได้จากการศึกษาที่ตรงตามเกณฑ์การคัดแยกมีดังนี้: การบริโภคผัก: RR = 0.75 (95% CI (Confidence Interval) 0.66 ± 0.85) จาก 17 การศึกษา; การบริโภคผลไม้: RR = 0.94 (95% CI 0.79 ± 1.11) จาก 12 การศึกษา; วิตามินซี: RR = 0.80 (95% CI 0.68 ± 0.95) จาก 9 การศึกษา; เบต้าแคโรทีน: RR = 0.82 (95% CI 0.76 ± 0.91) จาก 11 การศึกษา การวิเคราะห์นี้สอดคล้องกับบทความที่ถูกตีพิมพ์แล้วว่า การบริโภคผักและผลไม้ที่เพิ่มขึ้นจะลดความเสี่ยงของมะเร็งเต้านมได้ (Gandini et al, 2000)

2.7.4 งานวิจัยเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากผักผง

Record และคณะได้ทำการศึกษาหาความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาของอาสาสมัครที่ได้บริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากผักที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง ปริมาณ 30 กรัมต่อวัน บริโภคเป็นจำนวน 2 สัปดาห์ โดยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในการศึกษานี้ทำมาจาก พริก, แครอท, ซิลเวอร์บีท (Beta Vulgaris) และข้าวโพด นำไปทำให้เป็นผงโดยวิธี Spray Dried และเติม Tea Polyphenol และผงขมิ้นเพิ่มไปด้วย โดยคำนวณให้ได้สารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ ปริมาณในผักผลไม้ 5-7 หน่วยบริโภค ผลการทดสอบพบว่า การบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสามารถเพิ่มสารอาหารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในพลาสมาของมนุษย์ให้มีความเข้มข้นใกล้เคียงกับที่ได้รับจากการรวมผักและผลไม้ในอาหารปริมาณ 5-7 หน่วยบริโภค โดยความเข้มข้นของไลโคปีนและกรดแอสคอร์บิกมีค่าเพิ่มขึ้น (Record et al, 2001)

Zhang และคณะได้ทำการศึกษานำร่อง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากผัก NanoGreens10 (Biopharma Scientific, Inc, San Diego, CA) ในผู้ทดลองที่มีความดันสูง โดยให้รับประทาน NanoGreens10 วันละ 2 ครั้ง 1 ช้อน (12 กรัม) ผสมกับน้ำ 6 - 8 ออนซ์ ซึ่งผลิตภัณฑ์ NanoGreens10 เป็น "เครื่องดื่มสีเขียว" ที่มีไฟโตนิวเทรียนท์แบบผง ประกอบด้วยอาหารจากพืชสีเขียวผลไม้ผักผงทุกสี , ชา, สมุนไพร, เครื่องเทศ, ไฟโตนิวเทรียนท์เข้มข้นต่างๆ, เลซิตินพีซีสูง, ข้าวโอ๊ตและรำข้าว NanoGreens10 ประกอบด้วยระบบการจัดส่งไลโปโซม (Nano-Sorb) ที่ได้รับการจดสิทธิบัตรซึ่งออกแบบมาเพื่อเพิ่มความสามารถในการดูดซึม จากการศึกษานี้พบว่าการรับประทานอาหารเสริมเป็นเวลา 90 วันช่วยลดความดันโลหิต แต่ไม่ส่งผลถึงน้ำหนักตัวในผู้ป่วยกลุ่มนี้ ส่วนความแปรปรวนของอัตราการเต้นของหัวใจ (HRV) ไม่ได้รับผลกระทบจากอาหารเสริมในช่วง 3 เดือน (Zhang et al,2008)

Bahadoran และคณะทำการศึกษาการทดลองทางคลินิกแบบสุ่ม (Double-blind RCT) ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ให้บริโภค ผงต้นอ่อนบรอกโคลี (BSP) แล้วทำการวัดความเครียดจากออกซิเดชั่น (oxidative stress) โดยการศึกษานี้ได้ใช้ผงต้นอ่อนบรอกโคลีที่ได้มาตรฐานจาก Cyvex Nutrition Company (Irvine, CA, USA) โดยแบ่งผู้ทดสอบเป็นสองกลุ่ม คือกลุ่มที่ได้ผงต้นอ่อนบรอกโคลี 5 กรัม และ 10 กรัม เป็นเวลา สี่สัปดาห์ ส่งผลให้ MDA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P ¼ 0.001 สำหรับผลการรักษา) ไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำออกซิไดซ์ (P¼ 0.03 สำหรับผลการรักษา) OSI (P ¼ 0.001 สำหรับผลการรักษา) และ TAC เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (P ¼ 0.001 สำหรับผลการรักษา) ไม่พบผลกระทบใน TOS และไม่พบความแตกต่างของผลทดสอบในกลุ่ม

5 กรัมและ 10 กรัม สรุปคือผงต้นอ่อนบรอกโคลีมีผลดีต่อสถานะความเครียดออกซิเดชันในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 (Bahadoran et al,2011)

ชนิกา ฉิมเกิด และคณะได้ทำการศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระผลิตภัณฑ์พุดดิ้งจากผักผง โดยมีการใช้ผักผง 3 ชนิด ได้แก่ มันเทศหวาน ข้าวโพดหวาน และฟักทอง ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 8 เติมลงในพุดดิ้งสูตรต้นแบบ พบว่าผลิตภัณฑ์พุดดิ้งผักทุกสูตรมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าพุดดิ้งสูตรต้นแบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์พุดดิ้งข้าวโพดหวานและพุดดิ้งฟักทอง ส่วนผลิตภัณฑ์พุดดิ้งมันเทศหวานมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดใกล้เคียงกับพุดดิ้งสูตรต้นแบบ แต่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าพุดดิ้งสูตรต้นแบบ จากการศึกษาระยะเวลาในการเก็บพบว่าปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของผลิตภัณฑ์ทุกสูตรมีการเพิ่มขึ้นสูงสุด ที่สัปดาห์ที่ 6 และหลังจากนั้นมีการลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 12 สำหรับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่า มีการเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา และมีการลดลงที่สัปดาห์ที่ 12 ดังนั้นในการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า การเติมผักผงและระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ผลิตภัณฑ์พุดดิ้งที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถเป็นต้นแบบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับผู้สูงอายุ ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์นี้สามารถเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับเด็กและผู้บริโภคที่ดูแลสุขภาพได้อีกด้วย (ชนิกา ฉิมเกิด และคณะ ,2019)

Silva และคณะได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารพฤกษเคมี กลูโคซิโนเลต (GLs) ในพาสต้าและบะหมี่ที่เติมผงบรอกโคลีในปริมาณ 20% และ 30% (v/v) โดยผงบรอกโคลีถูกเตรียมโดยวิธีทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) และพบว่าพาสต้าที่มีผงบร็อคโคลี 30% ปริมาณกลูโคซิโนเลต ที่เก็บไว้นั้นเท่ากับผงบรอกโคลี 20% และไม่เพิ่มขึ้นอีก ดังนั้นการรวมผงบร็อคโคลี 30% จึงไม่นำไปสู่ประโยชน์ต่อสุขภาพเพิ่มเติมมากกว่าการรวมผงบร็อคโคลี 20% สรุปได้ว่าฟังก์ชันทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ที่คล้ายพาสต้าของเราสามารถปรับปรุงได้โดยการเพิ่มคุณค่าให้กับบรอกโคลีมากถึง 20% (Silva et al,2013)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผง

สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงที่มีวางขายตามท้องตลาด ในร้านผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและร้านค้าออนไลน์โดยเลือกผลิตภัณฑ์ผักผงเคลที่วางจำหน่ายทั้งหมดจำนวน 10 ตัวอย่าง ซึ่งกำหนดรหัสแต่ละตัวอย่างดังนี้

ผงเคลตัวอย่างที่ 1	A
ผงเคลตัวอย่างที่ 2	B
ผงเคลตัวอย่างที่ 3	C
ผงเคลตัวอย่างที่ 4	D
ผงเคลตัวอย่างที่ 5	E
ผงเคลตัวอย่างที่ 6	F
ผงเคลตัวอย่างที่ 7	G
ผงเคลตัวอย่างที่ 8	H
ผงเคลตัวอย่างที่ 9	I
ผงเคลตัวอย่างที่ 10	J

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. เมทานอล
2. สารละลาย Folin-Ciocalteu
3. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว
4. สารละลายกรดแกลลิก
5. สารละลายมาตรฐาน Trolox

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย (ต่อ)

6. สารละลาย Fluorescein

7. สารละลาย AAPH (substrate)

8. น้ำกลั่น

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่อง shaking water bath

2. กระดาษกรอง Whatman No.1

3. เครื่อง Rotary Evaporator

4. ขวดกำหนดปริมาตรขนาด (Volumetric Flask)

5. ปิเปต (Measuring Pipette)

6. หลอดทดลอง (Test Tube)

7. ช้อนตักสาร (Spatula)

8. แท่งแก้ว (Stirring Rod)

9. บิกเกอร์

10. หลอดหยด (Dropper)

11. 96-Well Plate

12. Microplate Fluorescence Reader

13. Microplate Reader

3.2 ขั้นตอนการศึกษาวิจัย

3.2.1 เตรียมผลิตภัณฑ์ตัวอย่างตามที่กำหนดไว้

3.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetry ในผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ครั้งการทดสอบ

3.2.3 การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC ในผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ครั้งการทดสอบ

3.2.4 นำผลการตรวจที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

3.2.5 อภิปรายผลการทดสอบ

3.3 วิธีการทดสอบวิจัย

3.3.1 การสกัดตัวอย่างผักผง

นำผักผงตัวอย่างสกัดสารด้วยตัวทำละลายเมทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 70 (v/v) ในอัตราส่วนผักผงต่อตัวทำละลาย 1:20 (กรัมน้ำหนักแห้ง : มิลลิลิตร) และเขย่าด้วยเครื่อง Shaking Water Bath ความเร็วรอบ 150 rpm ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ระเหยตัวทำละลายเมทานอลด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน

3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetry

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetry ตามวิธีของ Waterhouse (2002) โดยผสมสารละลายตัวอย่าง 100 µL น้ำกลั่น 7 mLและสารละลาย Folin-Ciocalteu 500 µL ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10 mL ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว 1.5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ที่ความยาวคลื่น 765 nm เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

3.3.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยการหาค่าการดูดซับอนุมูลอิสระของออกซิเจน (Oxygen radical absorbance capacity, ORAC)

ใส่ตัวอย่างผักเคลผงและสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ระดับความเข้มข้น 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 µM ปริมาณ 25 µL ในไมโครเพลท (ขนาด 96 หลุม) เติมสารละลาย Fluorescein ปริมาณหลุมละ 150 µL ลงในไมโครเพลททุกหลุม ใส่สารละลาย AAPH (substrate) 25 µL ทำการวัดการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนทันทีที่ความยาวคลื่น 485 nmสำหรับ Excitation และ 530 nm สำหรับ Emission ด้วยเครื่อง Microplate หา Fluorescence Reader

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำเสนอข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเปรียบเทียบผลการตรวจสารประกอบฟีนอลิกรวม (TPC)

3.4.1 ค่าเฉลี่ย (Mean)

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

โดยที่ $\bar{X}$ = ค่าเฉลี่ย

$\sum x$ = ผลรวมของคะแนนทั้งหมดของกลุ่ม

n = จำนวนของคะแนนในกลุ่ม

3.4.2 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

$$S.D. = \sqrt{\frac{(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

โดยที่ S.D. = ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\sum X^2$ = ผลรวมคะแนนแต่ละตัวยกกำลังสอง

$(\sum X^2)$ = ผลรวมคะแนนทั้งหมดยกกำลังสอง

n = ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

3.4.3 การวิเคราะห์แบบถดถอย (Linear Regression)

ทำการวิเคราะห์ Regression Analysis ใน Microsoft Excel เพื่อหาสมการเชิงเส้น และค่า R^2 จากค่าเฉลี่ยของปริมาณสารฟีนอลิกรวมและ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการทดลอง

บทที่ 4

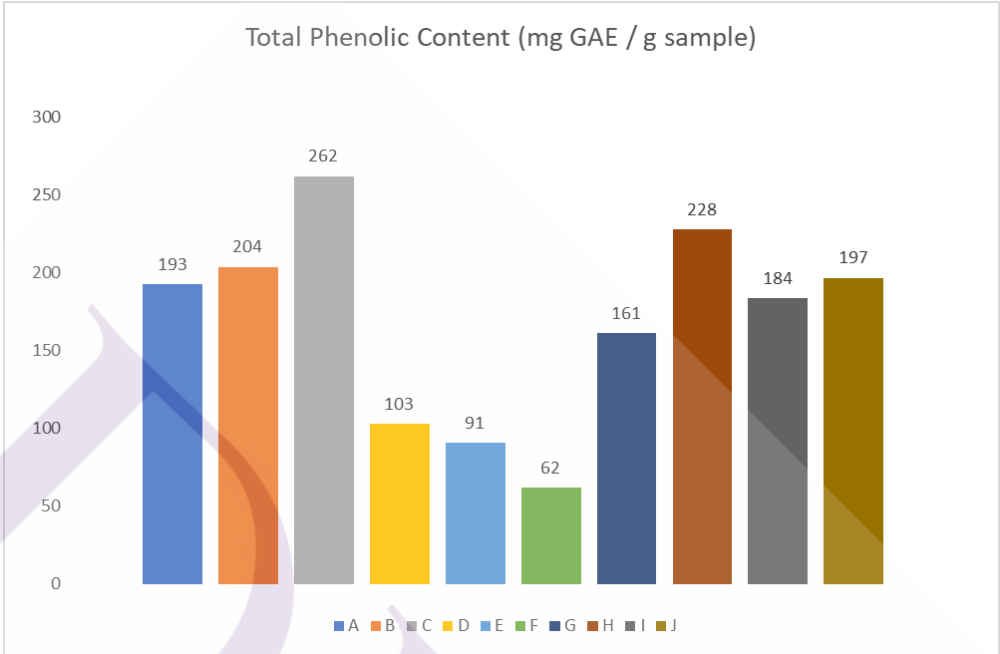
ผลการศึกษาวิเคราะห์

4.1 ผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetry ตามวิธีของ Waterhouse (2002) ของตัวอย่างผักเคลผง 10 ตัวอย่าง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 765 nm เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

ตารางที่ 4.1 ปริมาณ Total Phenolic Content (mg GAE/g) ของตัวอย่างผักเคลผง (n=3)

Sample	Total Phenolic Content (mg GAE /g sample)			Mean	SD
	1	2	3		
A	183.59	175.65	219.34	192.86	23.27
B	207.43	202.13	202.13	203.89	3.06
C	252.44	237.88	296.13	262.15	30.32
D	117.39	86.84	104.15	102.83	15.27
E	85.62	85.62	101.50	90.91	9.17
F	75.02	57.81	52.52	61.78	11.77
G	159.76	269.03	154.46	161.09	7.37
H	251.12	229.93	202.13	227.73	24.57
I	202.13	263.73	184.92	183.59	19.23
J	175.65	220.67	194.19	196.83	22.62



ภาพที่ 4.1 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม Total Phenolic Content (mg GAE/g sample) ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงทั้ง 10 ตัวอย่าง

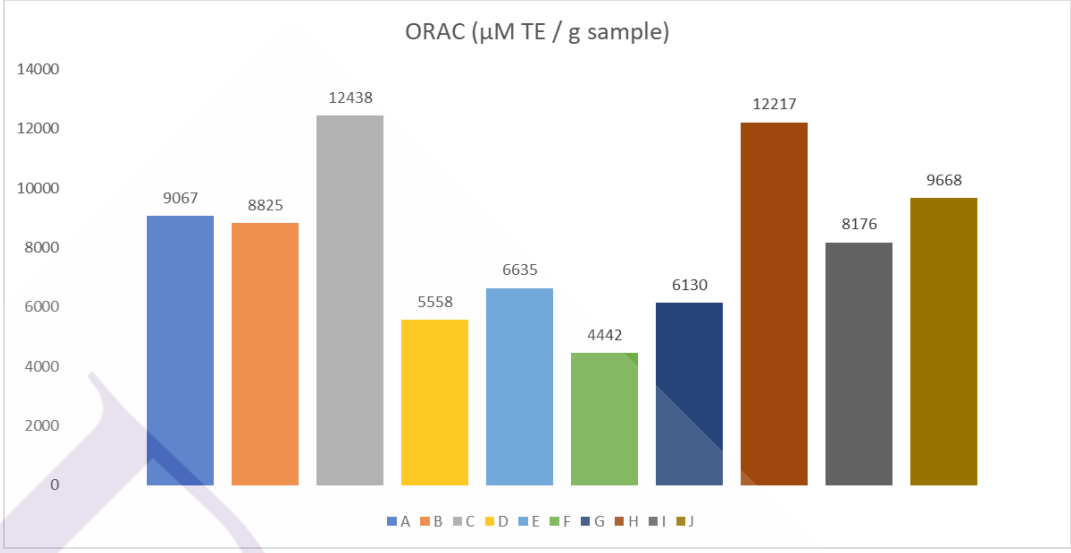
จากแผนภาพแสดงค่าเฉลี่ยปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงที่วางจำหน่ายในประเทศไทย พบว่าค่าเฉลี่ยของ Total Phenolic Content ของตัวอย่าง C มีค่ามากสุด (262.15 mg GAE/g sample) รองลงมาได้แก่ตัวอย่าง H (227.73 mg GAE/g sample) ตัวอย่าง B (203.89 mg GAE/g sample) ตัวอย่าง J (196.83 mg GAE/g sample) ตัวอย่าง A (192.86 mg GAE/g sample) ตัวอย่าง I (183.59 mg GAE/g sample) ตัวอย่าง G (161.09 mg GAE/g sample) ตัวอย่าง D (102.83 mg GAE/g sample) ตัวอย่าง E (90.91 mg GAE/g sample) และ ตัวอย่าง F (61.78 mg GAE/g sample) ตามลำดับ

4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการหาค่าการดูดซับอนุมูลอิสระของออกซิเจน (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC)

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการหาค่าการดูดซับอนุมูลอิสระของออกซิเจน โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ วัดการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนทันทีที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร

ตารางที่ 4.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ Oxygen Radical Absorbance Capacity (μM TE/g sample) ของตัวอย่างผักเคลผง (n=3)

Sample	ORAC (μM TE /g sample)			Mean	SD
	1	2	3		
A	8668.20	8798.42	9734.30	9066.97	581.58
B	8349.16	9111.40	9014.89	8825.15	415.04
C	10942.99	12472.27	13899.23	12438.16	1478.42
D	5453.63	5322.48	5896.97	5557.70	301.20
E	6629.77	6328.06	6948.38	6635.40	310.20
F	3916.52	5121.84	4287.06	4441.81	617.38
G	6310.46	6377.56	5700.53	6129.52	373.03
H	13006.80	11266.19	12378.43	12217.14	881.44
I	8712.76	7581.41	8233.51	8175.89	567.87
J	9763.38	9921.20	9318.42	9667.67	312.58

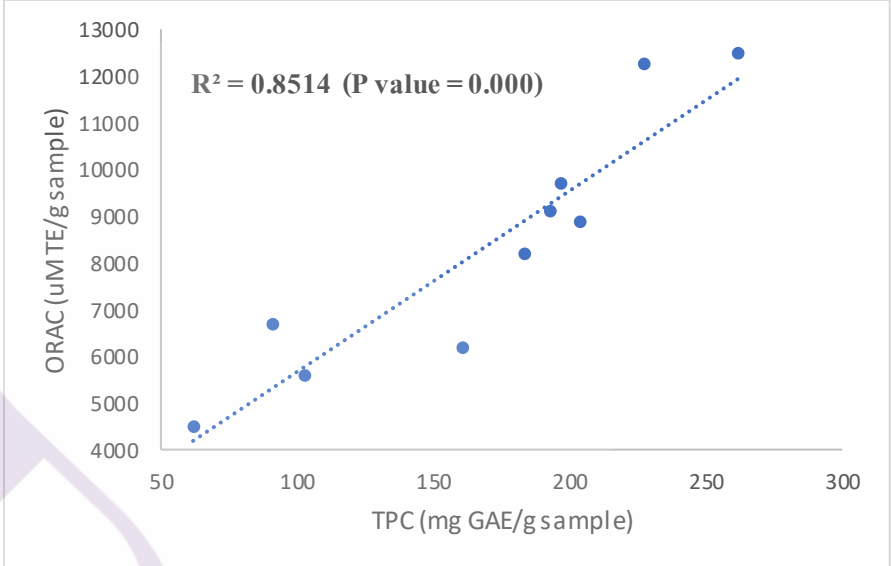


ภาพที่ 4.2 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Oxygen Radical Absorbance Capacity (μM TE/g smaple) ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงทั้ง 10 ตัวอย่าง

จากแผนภาพแสดงค่าเฉลี่ยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Oxygen Radical Absorbance Capacity ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงที่วางจำหน่ายในประเทศไทย พบว่าค่าเฉลี่ย ORAC ของตัวอย่าง C มีค่ามากสุด (12438.16 μM TE /g sample) รองลงมาได้แก่ตัวอย่าง H (12217.14 μM TE /g sample) ตัวอย่าง J (9667.67 μM TE /g sample) ตัวอย่าง A (9066.97 μM TE /g sample) ตัวอย่าง B (8825.15 μM TE /g sample) ตัวอย่าง I (8175.89 μM TE /g sample) ตัวอย่าง E (6635.40 μM TE /g sample) ตัวอย่าง G (6129.52 μM TE /g sample) ตัวอย่าง D (5557.70 μM TE /g sample) ตัวอย่าง F (4441.81 μM TE /g sample) ตามลำดับ

4.3 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) กับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์เส้นตรงเชิงบวกระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงทั้ง 10 ตัวอย่างดังแสดงในภาพที่ 4.3 โดย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างผักเคลผงมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) (R^2 = 0.8514, P value = 0.000)



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ของปริมาณ Total Phenolic Content กับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผง

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลองและสรุปผลการวิจัย

5.1 อภิปรายผลการทดลอง

5.1.1 ผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

จากผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงที่วางจำหน่ายในประเทศไทยจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างผักเคลผงมีปริมาณสารประกอลฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 61.78 – 262.15 mg GAE/g sample ในตัวอย่างผักเคลผง พบปริมาณสารประกอลฟีนอลิกรวมสูงสุดในตัวอย่าง C, H, B และ J มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม 262.15 mg GAE/g sample, 227.73 mg GAE/g sample, 203.89 mg GAE/g sample และ 196.83 mg GAE/g sample (ตามลำดับ) ซึ่งมีปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับผักเคลสดจากงานวิจัยของ Zhou K. & Yu L. ที่ได้ทำการทดสอบผักเคลสดที่ปลูกจากรัฐโคโลราโดในสหรัฐอเมริกา ได้รายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 16.3 – 18.8 mg GE/g (Zhou & Yu, 2006) และเมื่อเทียบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในผักชนิดอื่นจากงานวิจัยของ Isabelle ที่ได้ทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในผัก 66 ชนิดที่วางจำหน่ายในประเทศสิงค์โปร์ เมื่อเทียบกับผักใบเขียวที่ได้รับความนิยมใกล้เคียงกับผักเคลได้แก่ บรอกโคลีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 0.6 mg GAE/g FW และผักขม (Spinach) 1.06 mg GAE/g FW (Isabelle et al.,2010) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่มีปริมาณสูงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงเมื่อเทียบกับผักเคลสด บรอกโคลี และผักขม อาจเป็นผลมาจากขบวนการผลิตผักผงซึ่งอาจมาจากกระบวนการอบแห้งระเหยเอาน้ำออก หรืออาจจะสกัดเป็นสารเข้มข้นแล้วพ่นแห้ง (spray dry) ทำให้ผักเคลผงมีความเข้มข้นมากเมื่อเทียบกับผักเคลสด

นอกจากนั้นเมื่อเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีส่วนผสมจากผักและผลไม้ 36 ชนิด ผลิตโดยบริษัท Juice PLUS+® ในงานวิจัยของ Bresciani แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด 176 mg/g for the aqueous extraction (Bresciani et al., 2015) ซึ่งมีผลสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากตัวอย่างผักเคลผงในงานวิจัยนี้ จากผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ผักเคลผง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูง

โดยสามารถพิจารณาผักเคลผงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการบริโภคผักที่มีประโยชน์และได้รับสารฟีนอลิกจากอาหารในแต่ละวันด้วย เพื่อส่งผลที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ

5.1.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการหาค่าการดูดซับอนุมูลอิสระของออกซิเจน (Oxygen radical absorbance capacity, ORAC)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผักเคลผงที่วางจำหน่ายในประเทศไทยจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างผักเคลผงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC อยู่ที่ 4441.81 – 12438.16 μM TE/g sample ในตัวอย่างผักเคลผงพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC สูงสุดในตัวอย่าง C, H, J และ A มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC 12438.16 μM TE/g sample, 12217.14 μM TE/g sample, 9667.67 μM TE/g sample และ 9066.97 μM TE/g sample (ตามลำดับ) ซึ่งมีปริมาณสูงเมื่อเทียบกับการศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผักเคลที่ปลูกในรัฐโคโลราโด สหรัฐอเมริกา จากผลงานวิจัยของ Zhou K. & Yu L รายงานฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC 201.4 – 431.9 μM TE/g (Zhou & Yu, 2006) ซึ่งมีผลสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมข้างต้น อาจเป็นผลมาจากความเข้มข้นของผักเคลผง และเมื่อเทียบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC ในผักชนิดอื่นจากงานวิจัยของ Isabelle พบว่า เก๋ากี้ (Matrimony Vine) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC สูงสุดอยู่ที่ 69.28 μM TE/g และผักที่นิยมบริโภค เช่น บรอกโคลีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 11.78 μM TE/g และผักขม (Spinach) 16.06 μM TE/g (Isabelle et al.,2010) จากผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ผักเคลผง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับผลของผักเคลสด (Zhou & Yu, 2006) และเก๋ากี้ บรอกโคลี และผักขม (Isabelle et al,2010)

นอกจากนั้นเมื่อเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างผักเคลผงกับผลิตภัณฑ์ผลไม้ผงจากงานทบทวนวรรณกรรมของ Ronald พบว่าตัวอย่างของสตรอเบอร์รี่แห้งแช่แข็ง (strawberry freeze dried) มีผล ORAC 3785 μmol TE per g และ สารสกัดจากเบอร์รี่และสมุนไพร (berry/herbal extract) 44454 μmol TE per g (Ronald L. Prior, 2015) ซึ่งมีผลสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างผักเคลผงในงานวิจัยนี้ นอกจากนั้น Ronald ยังพบว่าจากการศึกษาทางระบาดวิทยาหลายงานวิจัยมีผลสนับสนุนแนวคิดที่ว่าการบริโภค ORAC ในอาหารที่สูงกว่า 10,000 μmol TE ต่อวัน (โดยใช้ Peroxyl Radical ในการทดสอบ ORAC) มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงที่ลดลงหรืออุบัติการณ์ของโรคความดันโลหิตสูง ภาวะสมองขาดเลือด การเสียชีวิตจากทุกสาเหตุโรคหลอดเลือดสมอง (Ronald L. Prior, 2015) จากผลการศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ผักเคลผงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง โดยสามารถพิจารณาผักเคลผงเป็นทางเลือกเพื่อเพิ่มฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระ โดยสามารถพิจารณาบริโภค 2 กรัมต่อวัน เพื่อให้ได้ ORAC สูงกว่า 10,000 μmol TE ต่อวัน เพื่อส่งผลที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพได้

5.1.3 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) กับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC

ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของตัวอย่างผักเคลผง 10 ตัวอย่าง กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ORAC ดังแสดงในรูปที่ 4.3 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Isabelle et al, 2010 ค่า ORAC ของผักเคลผงมีความสัมพันธ์เส้นตรงเชิงบวกกับปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (R^2= 0.8514) จากการค้นพบนี้ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมน่าจะเป็นตัวบ่งชี้ความสามารถของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักเคลผงได้เป็นอย่างดี

5.2 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยนี้พบว่า ผลิตภัณฑ์ผักเคลผงในท้องตลาดทั้ง 10 ตัวอย่าง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ในเกณฑ์ดี ดังนั้นผลิตภัณฑ์ผักเคลผงอาจเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้บริโภคในการเพิ่มปริมาณการบริโภคผักเสริมจากมื้ออาหาร ได้เพื่อให้ได้สารต้านอนุมูลอิสระปริมาณเพียงพอสามารถต่อต้านภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (Oxidative Stress) และส่งผลที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพได้และยังมีส่วนสำคัญในการป้องกันโรคความเสื่อมอีกด้วย เราอาจจะนำผลวิจัยนี้เป็นข้อมูลในการพัฒนานำผลิตภัณฑ์ผักเคลผลซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ไปใช้ในการผสม เครื่องดื่ม ขนม ของขบเคี้ยว ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ อาหารเช่น ขนมปังผักเคล เส้นก๋วยเตี๋ยวผักเคล เป็นต้น

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

กนกวรรณ จารุกาจร, วิลัดดา สินทร, และ ชรินญา พิมพ์สอน. (2557). ความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชั่นและภาวะไขมันในเลือดสูง. *วารสารพิษวิทยาไทย. 29(1-2)*, 57 – 69. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/ThaiJToxicol/article/view/244105

กามีละห์ ยะโกะ, ทัศนพรรณ เวชศาสตร์, และ ภูชิยา สุวรรณโชติ.(2561).สารประกอบฟีโนลิกของผักพื้นบ้าน 10 ชนิดในจังหวัดสุราษฎร์ธานี. *วราสารการแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก. 16(2)*, 185-194. https://he01.tci-thaijo.org/index.php/JTTAM/article/view/140485

ชนิกา ฉิมเกิด, น้ำผึ้ง รุ่งเรือง, ภรัณยา ธิยะใจ, ศศิอำไพ พฤฒิพรธานี, ยุราพร สหัสกุล, ดุลยพร ตราชูธรรม, และ ธัญญ์นลิน วิญญูประสิทธิ์. (2562). การพัฒนาผลิตภัณฑ์พุดดิ้งผักเพื่อผู้สูงอายุและผลของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ต่อปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ. *วราสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี). 11(21)*, 64-76. https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/swujournal/article/view/200197

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วราสารวิทยาศาสตร์และโทรโนโลยี. 21(3)*,275-286. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj/article/view/12696

ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย. (2555). การประเมินความสามารถต้านออกซิเดชันรวมในหลอดทดลอง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 31(2)*, 164-170. http://www.thaiscience.info/Journals/Article/JSMU/10888219.pdf

สุกัญญา เขียวสะอาด. (2555). กะเพรากับการต้านอนุมูลอิสระ. *วราสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 21(2)*, 54-65. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/science_kmitl/article/view/19845A

สำนักงานสถิติแห่งชาติกระทรวงดิจิทัลเพื่อเศรษฐกิจและสังคม. (2018). การสำรวจพฤติกรรมการบริโภคอาหารของประชากร พ.ศ. 2560, 15-20.

เอกราช บำรุงพืชน์, ทิพยาภรณ์ ประใจ, วิสมนทิพย์ ถิ่นทวี, สุทธิพงษ์ วงษ์อำนวย, สุพัฒนา พัฒนประเสริฐ, และ เรวดี จงสุวัฒน์. (2558). การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและสารฆ่าแมลงตกค้างในผลิตภัณฑ์ชาพร้อมดื่ม. *วารสารโภชนาการ. 50(1)*, 1-10. https://he01.tci-thaijo.org/index.php/JNAT/article/view/126087

ภาษาต่างประเทศ

Ayaz, F. A., Hayırlıoglu-Ayaz, S., Alpay-Karaoglu, S., Grúz, J., Valentová, K., Ulrichová, J., & Strnad, M. (2008). Phenolic acid contents of kale (Brassica oleraceae L. var. acephala DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. *Food Chemistry. 107 (1)*, 19-25. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.003

Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Hosseinpanah, F., Hedayati, M., Hosseinpour-Niazi, S., & Azizi, F. (2011). Broccoli sprouts reduce oxidative stress in type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial. *European Journal of Clinical Nutrition. 65(8)*, 972–977. https://doi.org/10.1038/ejcn.2011.59

Becerra-Moreno, A., Alanís-Garza, P. A., Mora-Nieves, J. L., Mora-Mora, J. P., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2013). Kale: An excellent source of vitamin C, pro-vitamin A, lutein and glucosinolates, *CyTA- Journal of Food. 12*. 298-303. http://doi.org/10.1080/19476337.2013.850743

Bresciani, L., Calani, L., Cossu, M., Mena, P., Sayegh, M., Ray, S., & Del Rio, D. (2015). (Poly)phenolic characterization of three food supplements containing 36 different fruits, vegetables and berries, *Pharma Nutrition*. 3(2), 11-19. https://doi.org/10.1016/j.phanu.2015.01.00

Dams, S., Holasek, S., Tsiountsioura, M., Malliga, D. E, MeierAllard, N, Poncza, B., … Lamprecht, M. (2019). An encapsulated fruit, vegetable and berry juice powder concentrate increases plasma values of specific carotenoids and vitamins. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 1–10. http://doi.org/10.1024/0300-9831/a000609

Gandini, S., Merzenich, H., Robertson, C., & Boyle, P. (2000). Meta-analysis of studies on breast cancer risk and diet: the role of fruit and vegetable consumption and the intake of associated micronutrients. *European Journal of Cancer. 36(5)*, 636-646. https://doi.org/10.1016/S0959-8049(00)00022-8

Grosso, G. (2018). Dietary antioxidants and prevention of non-communicable diseases. *Antioxidants. 7(7)*, 1-3. https://doi.org/10.3390/antiox7070094

Hanapi, M. J. (2019). Antioxidant Capacity Of The Green Leafy Vegetables Using Oxygen Radical Antioxidant Capacity (Orac), 2,2'-Azino-Bis (3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulphonic Acid(Abts) And 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (Dpph). *Science Heritage Journal (GWS), Zibeline International Publishing. 3(1)*, 1-7. http://doi.org/10.26480/gws.01.2019.01.07

Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G., Vincieri, F. F., & Romani, A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry, 99 (3)*. 464-469. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.057

Isabelle, M., Lee, B. L., Lim, M. T., Koh, W., Huang, D., & Ong, Ch. N. (2010). Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. *Food Chemistry. 120(4)*, 993-1003. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.038

Jarukamjorn, K., Sinthorn, W., & Pimson, C. (2020). The Relation of Oxidative Stress and Hypercholesterolemia. *Thai Journal of Toxicology. 29(1-2)*, 57. Retrieved from https://li01.tci-thaijo.org/index.php/ThaiJToxicol/article/view/244105

Jiang, H., & Adhikari, B. (2013). Fruit and vegetable powders. In B. Bhandari, N. Bansal, M. Zhang, & P. Schuck (Eds.). *Handbook of Food Powders*. 532–552. https://doi.org/10.1533/9780857098672.3.532

Kameya, H., Watanabe. J., Takano-Ishikawa, Y., & Todoriki, S. (2014). Comparison of scavenging capacities of vegetables by ORAC and EPR. *Food Chemistry.145*, 866-873. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.015

Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., … Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions In Aging. 13*, 757–772. https://doi.org/10.2147/CIA.S158513

Maskarinec, G., Chan, C. L., Meng, L., Franke, A. A., & Cooney, R. V. (1999). Exploring the feasibility and effects of a high-fruit and -vegetable diet in healthy women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 8(10)*, 919–924.

McEligot, A. J., Rock, C. L., Flatt, S. W., Newman, V., Faerber, S., & Pierce, J. P. (1999). Plasma Carotenoids Are Biomarkers of Long-Term High Vegetable Intake in Women with Breast Cancer. *The Journal of Nutrition. 129(12),* 258–2263. https://doi.org/10.1093/jn/129.12.2258

Oliviero, T., & Fogliano, V. (2016). Food design strategies to increase vegetable intake: The case of vegetable enriched pasta. *Trends in Food Science & Technology. 51*, 58–64. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.008

Ove, T. A., Khatun, A. A., Saifullah, S. B., & Ahmed, M. (2021). Effectiveness of Solvent Extraction on Phytochemicals and Antioxidant Activities from Fresh and Dried Wheatgrass. *European Journal of Nutrition & Food Safety*. 13(2), 1-10. https://doi.org/10.9734/ejnfs/2021/v13i230370

Phoonlapdacha, P., & Chongviriyaphan, N. (2009). Oxidative Stress in Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Ramathibodi Medical Journal. 32(3)*, 143-152. https://he02.tci-thaijo.org/index.php/ramajournal/article/view/175400

Record, I., Dreosti, I., & McInerney, J. (2001). Changes in plasma antioxidant status following consumption of diets high or low in fruit and vegetables or following dietary supplementation with an antioxidant mixture. *British Journal of Nutrition. 85(4)*, 459-464. http://doi:10.1079/BJN2000292

Robards, K., Prenzler, P., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W., Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*. 66 (4), 401-436. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00093-X

Ronald, L. P. (2015). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. *Journal of Functional Foods*. 18(B), 797-810. https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.018

Satheesh, N., & Fanta, S. W. (2020). Kale: Review on nutritional composition, bio-active compounds, anti-nutritional factors, health beneficial properties and value-added products. *Cogent Food & Agriculture. 6:1*. https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1811048

Silva, E., Gerritsen, L., Dekker, M., van der Linden, E., & Scholten, E. (2013). High amounts of broccoli in pasta-like products: nutritional evaluation and sensory acceptability. *Food and Function*. *4*. 1700-1708. http://doi.org/10.1039/C3FO00012E

Wan, H., Liu, R., Sun, H., Yu, X., Li, Y., Cong, Y., & Liu, D. (2014). Caco-2 cell-based antioxidant activity of 36 vegetables commonly consumed in China. *Journal of Food and Nutrition Research. 2 (2)*, 88-95. http://doi.org/10.12691/jfnr-2-2-5

Yu, L., Gao, B., Li, Y., Wang, T.T.Y., Luo, Y., Wang, J. & Yu, L. L. (2018). Home food preparation techniques impacted the availability of natural antioxidants and bioactivities in kale and broccoli., *Food Function*. *9*. 585–593. http://doi.org/10.1039/C7FO00948H

Zhang, J., Oxinos, G., & Maher, J. H. (2009). The effect of fruit and vegetable powder mix on hypertensive subjects: a pilot study. *Journal of Chiropractic Medicine. 8(3)*, 101–106. https://doi.org/10.1016/j.jcm.2008.09.004

Zhou, K., &Yu, L. (2005). Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado, *LWT - Food Science and Technology. 39(10)*, 1155-1162. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.015

ประวัติผู้เขียน

ชื่อผู้เขียน	กัลยา คุณาธิป
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2538 วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยรังสิต พ.ศ. 2543 วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสวินเบิร์นเทคโนโลยี, เมลเบิร์น ประเทศออสเตรเลีย
ตำแหน่งและสถานที่ทำงานปัจจุบัน	ผู้จัดการอาวุโสแผนกวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ บริษัทยูนิลีเวอร์ ไทย เทรดดิ้งส์ 161 ถนนพระราม 9, ห้วยขวาง, กรุงเทพมหานคร 10310