



การเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า
ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันด้วยวิธี DPPH

THE COMPARATIVE ANTIOXIDANT CONTENT OF EUREKA LEMON
(*Citrus limon* 'Eureka') INFUSED WATER IN DIFFERENT TIME
TO INFUSE BY DPPH

อาทิมา วะชังเงิน

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า
ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันด้วยวิธี DPPH

THE COMPARATIVE ANTIOXIDANT CONTENT OF EUREKA LEMON
(*Citrus limon* 'Eureka') INFUSED WATER IN DIFFERENT TIME
TO INFUSE BY DPPH

อาทิมา วะซังเงิน

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า
ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันด้วยวิธี DPPH

THE COMPARATIVE ANTIOXIDANT CONTENT OF EUREKA LEMON
(*Citrus limon* 'Eureka') INFUSED WATER IN DIFFERENT TIME
TO INFUSE BY DPPH

อาทิมา วะขิงเงิน

การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

2565

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ

Kant W.

ประธานกรรมการ

(ดร.กานต์ วงศ์ศุภสวัสดิ์)

Araya

อาจารย์ที่ปรึกษา

(ดร.อาริญา สาริกะภูติ)

W. Pandit

กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.วงเดือน ปันดี)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณท่าน ดร.กานต์ วงศ์ศุภสวัสดิ์ ประธานกรรมการ สอบการศึกษา คั่นคว่ำอิสระ อาจารย์ ดร.อารีญา สาริกะภูติ อาจารย์ที่ปรึกษาและ รองศาสตราจารย์ ดร.วงเดือน ปันดี กรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ รวมถึงแนวความคิด พร้อมทั้งการให้กำลังใจตลอดมา จนการศึกษาคั่นคว่ำอิสระครั้งนี้สำเร็จลุล่วงได้ดี

ขอขอบพระคุณ สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่ได้ให้ความรู้และแรงบันดาลใจในการศึกษาคั่นคว่ำอิสระครั้งนี้ และขอขอบคุณบุคลากรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือด้านการประสานงาน การดำเนินการด้านเอกสารต่าง ๆ ในการศึกษาคั่นคว่ำอิสระครั้งนี้

ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณผู้ที่มีความสำคัญยิ่ง ได้แก่ บิดา มารดา และครอบครัว อันเป็นที่รักของข้าพเจ้า ที่ทำให้ข้าพเจ้าได้มีโอกาสทางการศึกษาอันมีค่านี้ ทั้งยังคอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งในทุก ๆ ด้าน และขอขอบคุณเหล่าเพื่อนพี่น้องร่วมหลักสูตรที่คอยร่วมทุกข์ ร่วมสุข และให้ความช่วยเหลือเกื้อกูลกันตลอดมา

ข้าพเจ้าหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะมีประโยชน์ และเป็นแนวทางให้กับบุคคลทั่วไป การวิจัยและการศึกษาเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน และเพื่อพัฒนาต่อยอดผลิตภัณฑ์ต่อไป

อาทิมา ะชะงะเงิน

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอน สายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกันด้วยวิธี DPPH
ชื่อผู้เขียน	อาทิมา วะชิงเงิน
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.อาริญา สาริกะภูติ

บทคัดย่อ

ด้วยวิถีชีวิตในสังคมปัจจุบันที่มนุษย์ต้องเผชิญกับสิ่งแวดล้อมที่เจือปนมลพิษ เชนิกับ
ความเครียด ส่งผลให้มีการสะสมอนุมูลอิสระในร่างกายมากขึ้น เมื่ออนุมูลอิสระสะสมเกินขีดจำกัด
ของร่างกาย จะก่อให้เกิดความเสียหายในร่างกาย และก่อให้เกิดการเจ็บป่วยและเกิดโรคในที่สุด
การเลือกรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นทางเลือกที่ดี น้ำอินฟิวส์หรือน้ำแช่ผักผลไม้
เป็นอีกหนึ่งทางเลือกของการดูแลสุขภาพ เพื่อลดการสะสมของอนุมูลอิสระ เนื่องจากน้ำอินฟิวส์จะ
อุดมไปด้วยสารสารพฤกษเคมีที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า เป็นผลไม้ที่นิยม
นำมาทำน้ำอินฟิวส์ จากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาใดที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ
สารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน จึงเป็นที่มาของ
การศึกษาครั้งนี้ การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำแช่ผลไม้ ในช่วงเวลาที่
แตกต่างกันด้วยวิธี DPPH จากผลการศึกษาพบว่าน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง
มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเทียบกับเวลา 3 และ 24 ชั่วโมง ซึ่งข้อมูลดังกล่าว
เป็นแนวทางในการเลือกเวลาในการแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าเพื่อประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระใน
อนาคต

คำสำคัญ: น้ำอินฟิวส์, เลมอน, สารต้านอนุมูลอิสระ

Independent Study Title The Comparative Antioxidant Content of Eureka Lemon (*Citrus limon* ‘Eureka’) Infused Water in Different Time to Infuse by DPPH

Author Atima Vachangngern

Degree Master of Science (Anti-Aging and Regenerative Science)

Advisor Ariya Sarikaphuti, Ph. D.

ABSTRACT

Nowadays, humans are faced with environment that are many pollutions and faced with stress are resulting in the accumulation of more free radicals in the body. When accumulated more than the limit of the body, the human body will cause damage and then causing illness and disease. The food selection that has antioxidant is the best way to be healthy. Infused water is another healthy option to reduce free radical in human body. Because infused water is rich in phytochemicals that is antioxidant. Eureka Lemon, it is a popular fruit are used to make infused water. However, no studies have been done in the past to compare the antioxidant content of eureka lemon infused water over different time periods. Therefore, this study aims to compare the antioxidants capacities in eureka lemon infused water at different time to infused by DPPH method. The results showed that water infusion of Eureka lemon at 6 and 12 hours had the highest antioxidant capacity when compared with 3 and 24 hours, these data were used as a guideline for choosing the infusion time of Eureka lemons for antioxidant benefits.

Keywords: Infused water, Lemon, Anti-oxidant

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(5)
สารบัญตาราง	(8)
สารบัญภาพ	(9)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ความสำคัญของการศึกษา	2
1.4 สมมติฐานของการศึกษา	3
1.5 ขอบเขตของการศึกษา	3
1.6 กรอบแนวความคิด	3
1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ	4
2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical and Antioxidant)	6
2.2 เลมอน (Lemon)	14
2.3 น้ำอินฟิวส์ (Infused Water)	17
3 ระเบียบวิธีวิจัย	18
3.1 รูปแบบของการวิจัย	18
3.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	21

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
4 ผลการวิจัย	22
4.1 ลักษณะทั่วไปของเลม่อน สายพันธุ์ยูเรก้า	22
4.2 ลักษณะทั่วไปของน้ำแช่เลม่อนสายพันธุ์ยูเรก้า	23
4.3 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลม่อนสายพันธุ์ยูเรก้า ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน เทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT	24
4.4 เปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลม่อนสายพันธุ์ ยูเรก้าที่เวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง	25
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	27
5.1 สรุปผลการศึกษา	27
5.2 อภิปรายผล	27
5.3 ข้อเสนอแนะ	29
รายการอ้างอิง	30
ภาคผนวก	35
ภาคผนวก ก เพอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลม่อนสายพันธุ์ยูเรก้า ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT	36
ภาคผนวก ข ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลม่อนสายพันธุ์ ยูเรก้า ที่เวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง	37
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลม่อน สายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ด้วยวิธี ANOV	38
ประวัติผู้เขียน	40

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ	7
2.2 ตัวอย่างแหล่งที่มาของอนุมูลอิสระ	8
2.3 คุณค่าทางโภชนาการของเลมอนต่อ 100 กรัม (ไม่รวมเปลือก)	15
4.1 ลักษณะทั่วไปของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน	23
4.2 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้ง สารอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐาน และน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	24
4.3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ	25

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1.1 กรอบแนวความคิด	3
2.1 โรคและอาการที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระและความเครียดออกซิเดชัน	10
2.2 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ	11
3.1 แผนผังการทดลอง	19
4.1 ลักษณะของเลม่อนสายพันธุ์ยูเรก้า	22
4.2 ลักษณะทั่วไปของน้ำแช่เลม่อนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน	23



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารอนุมูลอิสระ หรืออนุมูลอิสระ (free radical) เป็นสารหรือโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ต่อโมเลกุลอื่นสูง เนื่องจากสารอนุมูลอิสระ หรืออนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่ไม่ครบคู่ ทำให้สามารถจับอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาเติมให้ครบคู่ เพื่อความเสถียร และทำให้โมเลกุลนั้น ๆ เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระขึ้นมาอย่างเป็นวงจร ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ในร่างกายได้ ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เกิดจากความไม่สมดุลกันระหว่างสารอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ภาวะเครียดออกซิเดชันสามารถสร้างความเสียหายกับโมเลกุลของสารองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และเป็นสาเหตุของโรค เช่น โรคเบาหวาน โรคทางระบบประสาท โรคไขข้ออักเสบ ต้อกระจก โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคระบบทางเดินหายใจ รวมไปถึงกระบวนการเกิดมะเร็งอีกด้วย (Phaniendra et al., 2014)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารที่สามารถชะลอ หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของโมเลกุลภายในเซลล์ได้ สารอนุมูลอิสระมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระทำให้ลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในเซลล์ จึงสามารถลดความเสียหายที่จะเกิดกับเซลล์ในร่างกายได้ สารต้านอนุมูลอิสระนิยมนำมาเป็นอาหารเสริมกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถชะลอการเกิดโรคได้ เช่น โรคหลอดเลือดและหัวใจ และโรคมะเร็ง เป็นต้น (Penta, 2015) อนุมูลอิสระสามารถถูกกำจัดได้ด้วยกระบวนการชีวเคมีของร่างกาย และจากสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่ได้รับจากภายนอก จากการศึกษาพบว่า แต่ละคนมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระไม่เท่ากัน ในขณะที่พฤติกรรมการดำรงชีวิต และสิ่งแวดล้อม เช่น สารพิษ มลพิษ มลภาวะ นั้นส่งผลให้การต้านอนุมูลอิสระโดยอาศัยเพียงเอนไซม์ของร่างกายนั้นไม่เพียงพอ (รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย, 2555)

พืชผัก ผลไม้ และสมุนไพรที่นิยมรับประทานในชีวิตประจำวันนั้น อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ การบริโภคผักและผลไม้ในปริมาณที่น้อยในแต่ละวันนั้น สามารถเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรค

หลอดเลือดและหัวใจ และโรคอื่น ๆ ได้ จะเห็นได้ว่าการเลือกรับประทานอาหารแต่ละชนิดในชีวิตประจำวันนั้นสามารถส่งผลกระทบต่อสุขภาพเป็นอย่างมาก ผัก ผลไม้ และสมุนไพรที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง เช่น ผลไม้จำพวกเบอร์รี่ ส้ม มะนาว เลมอน ธัญพืช ถั่ววอลนัท สมุนไพร กานพลู และใบสาระแน เป็นต้น (Carlsen et al., 2010)

น้ำอินฟิวส์ หรือน้ำแช่ผักผลไม้ (infused water) คือ น้ำที่นำผลผลิตจากธรรมชาติ มาแช่ในน้ำ ซึ่งเปรียบเสมือนการสกัดสารพฤกษเคมี หรือที่เรียกว่าไฟโตเคมีคอล (phytochemical) จากพืชผักผลไม้ สารสกัดที่ได้จะถูกกรองด้วยน้ำ เนื่องจากสารพฤกษเคมีส่วนใหญ่ละลายด้วยน้ำ จึงสามารถกรองผ่านการแช่น้ำออกมาได้ ผัก ผลไม้และสมุนไพร เป็นส่วนผสมทั่วไปที่มักนำมาทำน้ำอินฟิวส์ เนื่องจากมีหลากหลายรสชาติ และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะ วิตามินและแร่ธาตุ (Thiagarajah et al., 2019)

ปัจจุบันผู้หันมาดูแลสุขภาพมากขึ้น และน้ำก็เป็นส่วนประกอบสำคัญในร่างกาย การบริโภคน้ำที่มีสารพฤกษเคมี ที่สามารถช่วยบำรุงสุขภาพและลดความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการดูแลสุขภาพได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำแช่ผลไม้ ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ด้วยวิธี DPPH

1.3 ความสำคัญของการศึกษา

เนื่องจากในปัจจุบันผู้คนหันมาสนใจในเรื่องสุขภาพมากขึ้น การเลือกรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย จึงเป็นหนึ่งในวิธีการหลัก ที่สามารถส่งผลให้ร่างกายมีสุขภาพแข็งแรง อีกทั้งยังสามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคในอนาคตได้ น้ำดื่มก็เช่นกัน น้ำอินฟิวส์ เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการเลือกบริโภคอาหาร เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และยังมีวิตามินและแร่ธาตุอีกด้วย ดังนั้น การทำวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นการเปรียบเทียบให้เห็นถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำอินฟิวส์ในแต่ละช่วงเวลาของการแช่ เพื่อที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน โดยสามารถนำงานวิจัยนี้ไปต่อยอดการศึกษาได้ เพื่อประโยชน์สูงสุดของผู้บริโภคอาหารสุขภาพในอนาคต ทั้งยังสามารถเป็นประโยชน์แก่วงการอุตสาหกรรมและวงการแพทย์ด้วย

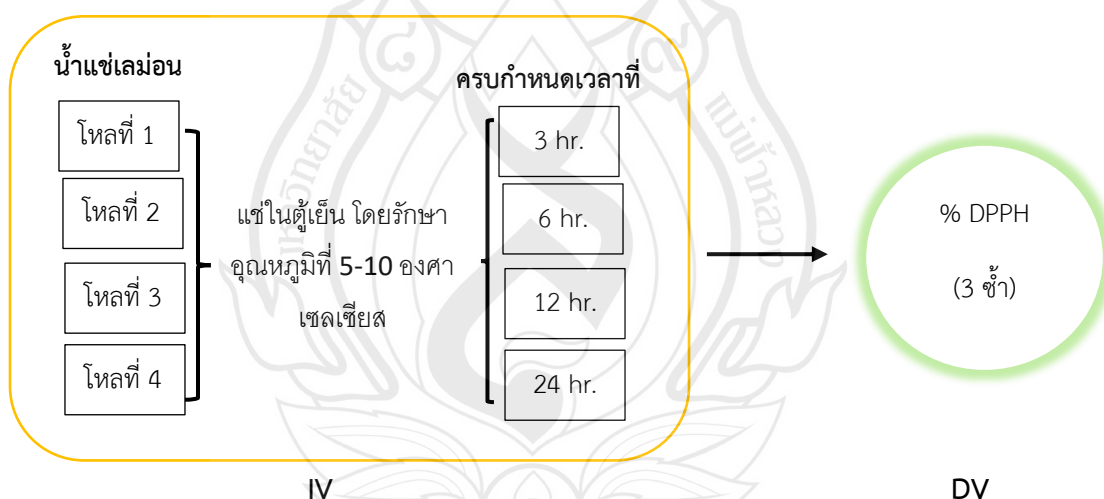
1.4 สมมติฐานของการศึกษา

น้ำแช่ผลไม้ในช่วงเวลาที่ต่างกัน มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน เมื่อวัดด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

1.5 ขอบเขตของการศึกษา

ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำแช่ผลไม้ ที่ผ่านการแช่น้ำสะอาด และแช่เย็นในระยะเวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ด้วยวิธี DPPH โดยใช้ผลไม้คือ มะนาวเหลือง (เลมอน) สายพันธุ์ ยูเรก้า จากพสุธาราฟาร์ม จังหวัดราชบุรี

1.6 กรอบแนวความคิด



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิด

1.6.1 ตัวแปรต้น ได้แก่ การแช่เลมอนในน้ำที่ระยะเวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

1.6.2 ตัวแปรตาม ได้แก่ ปริมาณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แสดงผลเป็นเปอร์เซ็นต์ DPPH

1.6.3 ตัวแปรควบคุม ได้แก่ การควบคุมอุณหภูมิในตู้เย็นและชนิดของผลไม้ ได้แก่ มะนาว เหลือง (เลมอน) สายพันธุ์ยูเรก้า

1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.7.1 มะนาวเหลือง (เลมอน)

มะนาวเหลือง (เลมอน) เป็นผลไม้ที่จัดอยู่ในตระกูลส้ม มีรสเปรี้ยว และยังเป็นผลไม้ที่คนนิยมนำมาประกอบอาหารหรือเครื่องดื่ม เนื่องจากมีสารสำคัญ ได้แก่ วิตามินซีและฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายในด้านการบำรุงสุขภาพ และการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค

1.7.2 ตู้เย็น (Refrigerator)

ตู้เย็นเป็นเครื่องใช้ไฟฟ้าที่ทำความเย็นโดยประกอบด้วยสองส่วนหลัก ๆ คือ ส่วนฉนวนป้องกันความร้อน (ป้องกันไม่ให้ความร้อนไหลเข้ามา) และ ส่วนทำความเย็น (ปั๊มที่นำความร้อนออกไปสู่ภายนอกซึ่งมีอุณหภูมิต่ำกว่า) ตู้เย็นเป็นเครื่องใช้ไฟฟ้าที่นิยมมากตามบ้านเรือน และใช้กันอย่างแพร่หลาย คนส่วนใหญ่ใช้ตู้เย็นเก็บอาหาร เพื่อป้องกันการเน่าเสีย เนื่องจากแบคทีเรียเติบโตช้ากว่าในอุณหภูมิต่ำ ตู้เย็นจึงเป็นเครื่องใช้ไฟฟ้าพื้นฐานในครัวเรือนที่ใช้กันอย่างทั่วไป

1.7.3 สารอนุมูลอิสระ (Free Radical)

สารอนุมูลอิสระ จัดเป็นโมเลกุลชนิดหนึ่งที่อยู่อย่างอิสระและมีอิเล็กตรอนที่ไม่ครบคู่อยู่ในอะตอม ซึ่งการมีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ นั้น ส่งผลให้โมเลกุลไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยการดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นอย่างเป็นวงจรเรียกว่าปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation)

1.7.4 ภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress)

ภาวะเครียดออกซิเดชัน เกิดจากความไม่สมดุลระหว่างสารอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อมีปริมาณของอนุมูลอิสระมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ จนเกิดความเสียหายจากกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) จึงเรียกว่าภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งก่อความเสียหายกับโมเลกุลของสารองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ

1.7.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือโมเลกุลเสถียรที่สามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระได้ จึงมีความสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอะตอม หรือโมเลกุลที่เป็นอนุมูลอิสระ สามารถ

ชะลอหรือยับยั้งความเสียหายที่เกิดขึ้นกับเซลล์โดยอนุมูลอิสระ โดยการต้านหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการออกซิเดชันได้

1.7.6 การตรวจวัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

เป็นการตรวจวัดอนุมูลอิสระโดยใช้สารอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว คือ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เพื่อหาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายต่าง ๆ ซึ่งสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สะดวก ง่ายต่อการวิเคราะห์ และให้ความถูกต้องแม่นยำสูง จึงเป็นวิธีการตรวจวัดอนุมูลอิสระที่ได้รับความนิยมสูง



บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical and Antioxidant)

2.1.1 สารอนุมูลอิสระ (Free Radical)

สารอนุมูลอิสระ หรืออนุมูลอิสระ (free radical) เป็นสารหรือโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ต่อโมเลกุลอื่นสูง เนื่องจากสารอนุมูลอิสระ หรืออนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่ไม่ครบคู่ หรือมีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electron) ทำให้สามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาเติมให้ครบคู่ กล่าวคือในสภาวะปกติอะตอมหรือโมเลกุลต่าง ๆ ในร่างกายจะมีอิเล็กตรอนเป็นจำนวนคู่ซึ่งทำให้เกิดความเสถียร การดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นทำให้โมเลกุลนั้น ๆ เกิดเป็นสารอนุมูลอิสระขึ้นมาอย่างเป็นวงจร หรือเรียกว่าปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ซึ่งทำให้เกิดผลกระทบต่อสารชีวโมเลกุลโดยรอบ ไม่ว่าจะเป็นเซลล์ไขมัน โปรตีน หรือ ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ในร่างกายได้ (Phaniendra et al., 2014)

ปัจจุบันสภาพแวดล้อมในการดำรงชีวิตไม่ว่าจะเป็น มลภาวะ สารพิษต่าง ๆ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในร่างกายเพิ่มขึ้นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ส่งผลถึงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย กล่าวคือหากมีปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ในปริมาณที่เหมาะสมก็จะเป็นไปตามกลไกปกติของร่างกาย แต่หากมีปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายที่สูงขึ้น ทำให้ร่างกายสูญเสียสมดุล ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ สร้างความเสียหายแก่เซลล์และร่างกาย ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) จากการศึกษาพบว่าอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นในร่างกายสัมพันธ์กับโรคหลายชนิด เช่น โรคเบาหวาน โรคทางระบบประสาท โรคไขข้ออักเสบ ต้อกระจก โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคระบบทางเดินหายใจ รวมไปถึงกระบวนการเกิดความชราอีกด้วย (Zhou et al., 2021; รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย, 2555)

อนุมูลอิสระแบ่งออกเป็นหลายประเภท และกลุ่มที่สำคัญ คือกลุ่มสารประกอบออกซิเจน หรือรีแอคทีฟออกซิเจนสปีชีส์ (reactive oxygen species หรือ ROS) เช่น ซิงเกิลทออกซิเจน (singlet oxygen) อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide) อนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์ (peroxide radical) ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (peroxyl radical) และ

อนุมูลอิสระไฮดร็อกซิล (hydroxyl radical) และอนุมูลอิสระอื่นๆ สามารถดูได้จากตารางที่ 2.1 (รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย, 2555)

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ

Free radicals	Description
O_2^- , superoxide anion	One-electron reduction state of O_2 , formed in many autoxidation reactions and by the electron transport chain. Rather unreactive but can release Fe^{2+} from iron-sulfur proteins and ferritin. Undergoes dismutation to form H_2O_2 spontaneously or by enzymatic catalysis and is a precursor for metal-catalyzed OH formation.
H_2O_2 , hydrogen peroxide	Two-electron reduction state, formed by dismutation of O_2^- or by direct reduction of O_2 . Lipid soluble and thus able to diffuse across membranes.
OH, hydroxyl radical	Three-electron reduction state, formed by Fenton reaction and decomposition of peroxymytrite. Extremely reactive, will attack most cellular components
ROOH, organic hydroperoxide	Formed by radical reactions with cellular components such as lipids and nucleobases
RO, alkoxy and ROO, peroxy radicals	Oxygen centered organic radicals. Lipid forms participate in lipid peroxidation reactions. Produced in the presence of oxygen by radical addition to double bonds or hydrogen abstraction
HOCl, hypochlorous acid	Formed from H_2O_2 by myeloperoxidase. Lipid soluble and highly reactive. Will readily oxidize protein constituents, including thiol groups, amino groups, and methionine
NOO^- , peroxynitrite	Formed in a rapid reaction between O_2^- and NO. Lipid soluble and similar in reactivity to hypochlorous acid. Protonation forms peroxynitrous acid, which can undergo hemolytic cleavage to form hydroxyl radical and nitrogen dioxide

2.1.2 แหล่งที่มาของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระมีแหล่งที่มา มาจาก 2 แหล่ง ได้แก่ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย และ อนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกในร่างกาย อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกายเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย (metabolism processes) เช่น กระบวนการเผาผลาญ และกระบวนการหายใจ อนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องในเซลล์ ทั้งในแบบปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ (enzymatic reaction) และปฏิกิริยาที่ไม่ใช้เอนไซม์ (nonenzymatic reaction) ปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ ที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น กระบวนการหายใจ (respiratory chain) และกระบวนการฟาโกไซโตซิส (phagocytosis) ปฏิกิริยาที่ไม่ใช้เอนไซม์ที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น ปฏิกิริยาของออกซิเจนกับสารประกอบอินทรีย์เช่นเดียวกับที่เกิดปฏิกิริยาไอออไนซ์ อนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอก หรือสิ่งแวดล้อม คือการที่ร่างกายได้สัมผัสกับสิ่งภายนอกจากการรับประทาน อาหารและเครื่องดื่ม การสูดดม และการสัมผัสจากผิวหนัง ได้แก่ รังสีเอกซ์เรย์ แสงแดด โอโซน แอลกอฮอล์ ควันทูบหรี่ สารพิษจากยา สารปนเปื้อนในอาหาร สารเคมีจากอุตสาหกรรมต่างๆ หรือแม้กระทั่งมลภาวะก็สามารถเป็นแหล่งกำเนิดของอนุมูลอิสระได้ทั้งสิ้น ทั้งนี้ตัวอย่างแหล่งที่มาของอนุมูลอิสระสามารถดูได้จากตารางที่ 2.1 (Lobo et al., 2010)

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างแหล่งที่มาของอนุมูลอิสระ

Internally generated	External sources
Mitochondria	Cigarette smoke
Phagocytes	Radiation
Xanthine oxidase (EC 1.1.3.22)	UV light
Reactions with Fe or other transition metals	Pollution
Arachidonate pathways	Certain drugs
Peroxisomes	Chemical reagents
Exercise	Industrial solvents
Inflammation	
Ischemia and reperfusion	

ที่มา Surai and Dvorska (2002)

2.1.3 ภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress)

ภาวะเครียดออกซิเดชัน คือภาวะที่มีการสะสมของอนุมูลอิสระมากเกินไป ซึ่งเป็นผลมาจากความไม่สมดุลระหว่างการผลิต และการทำลายอนุมูลอิสระโดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ส่งผลให้เกิดกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) ที่มากเกินไป ซึ่งเรียกว่าภาวะนี้ว่า ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่เพียงพอต่อการทำลายอนุมูลอิสระนั้นทำให้เกิดการทำลายออกซิเดชัน (oxidative damage) หรือกล่าวได้ว่าสร้างความเสียหายกับโมเลกุลสารองค์ประกอบของเซลล์ เช่น โปรตีน ไขมันและดีเอ็นเอ การตอบสนองของเซลล์ในร่างกายต่อการเกิดความเครียดออกซิเดชันและความเสียหายจากการทำลายออกซิเดชันนี้ เป็นตัวกระตุ้นให้ร่างกายเข้าสู่กระบวนการชราและการตายของเซลล์ อีกทั้งยังส่งผลไปถึงยีนที่ควบคุมการแสดงออกของการอักเสบในร่างกายอีกด้วย (Kregel & Zhang, 2007; กนกวรรณ จารุกัจฉา, 2557)

การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลไขมัน หรือ ลิพิด เปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) โมเลกุลไขมันเป็นโมเลกุลที่อ่อนไหวที่สุดในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ สามารถเกิดขึ้นได้กับหลายส่วนของเซลล์ มักเกิดขึ้นที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลไขมันและคอเลสเตอรอล ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติคล้ายของเหลว และสร้างความเสียหายต่อเยื่อเลือกผ่าน เอนไซม์ทรานส์เมมเบรน ตัวขนส่ง ตัวรับ และโปรตีนอื่น ๆ บนเยื่อหุ้มเซลล์เสียไป เป็นสาเหตุของการสูญเสียความสามารถในการรักษาความสมดุล และเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลไขมันมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในกลุ่มของการเสื่อม เช่น โรคทางหลอดเลือดและหัวใจ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการเกิดออกซิเดชันกับโมเลกุลไขมัน ได้แก่ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde: MDA) และ 4-hydroxy-2-nonenol (4-HNE) มักสะสมอยู่ในร่างกายและสามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อโปรตีนและดีเอ็นเอได้ (Rubbo et al., 1994; Meral et al., 2000; วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, 2555)

การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลโปรตีน โปรตีนเป็นส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ เอนไซม์และโครงสร้างต่าง ๆ ภายในเซลล์ การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลโปรตีนส่งผลให้การทำงานของโปรตีนแต่ละชนิดเปลี่ยนแปลง เช่นการทำงานของเอนไซม์ การขนส่งของโปรตีน โปรตีนตัวรับ (receptors) การกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และสามารถนำไปสู่ความเสียหายทุติยภูมิต่อสารชีวโมเลกุลอื่นๆ หรืออาจเพิ่มการสลายโครงสร้างของโปรตีนในทุกอวัยวะหรือเนื้อเยื่ออีกด้วย

การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลดีเอ็นเอ ดีเอ็นเอไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ จึงสามารถสร้างความเสียหายให้กับดีเอ็นเอได้โดยตรง โดยทำลายสมดุลลำดับเบสของดีเอ็นเอ สายดีเอ็นเอทั้งที่เป็นสายเดี่ยวและสายคู่เกิดการแตกหัก การสูญเสียพิวรีนและไพริมิดีน ทำลายโครงสร้างของน้ำตาลดีออกซีไรโบส ซึ่งเป็นส่วนประกอบของดีเอ็นเอ ทำลายระบบซ่อมแซมตัวเองของ

ดีเอ็นเอ การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลดีเอ็นเออาจทำให้เกิดการกลายพันธุ์ และส่งผลกระทบถึงดีเอ็นเอของนิวเคลียสและไมโทคอนเดรีย

ดังที่กล่าวมาข้างต้นเห็นได้อนุมูลอิสระและภาวะเครียดออกซิเดชันสามารถก่อให้เกิดโรคได้หลายชนิด ได้แก่โรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของอวัยวะในร่างกาย (degenerative disease) ได้แก่ โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และโรคพาคินสัน (Parkinson's disease) โรคที่เกี่ยวข้องกับอโตอิมมูน (autoimmune disease) ได้แก่ ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) และโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง (human immunodeficiency) โรคมะเร็งต่าง ๆ (cancers) และอื่นๆ เป็นต้น สามารถดูตัวอย่างได้ดังภาพที่ 2.3 (Halliwell, 1999; วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, 2555)

Some Clinical Conditions in Which Free Radicals and Other Reactive Oxygen Species Are Thought to Be Involved^{a,b}

BRAIN	INFLAMMATORY IMMUNE INJURY
Parkinson's disease	Rheumatoid arthritis
Neurotoxins	Glomerulonephritis
Vitamin E deficiency	Autoimmune diseases (HIV/AIDS)
Hyperbaric oxygen	Vasculitis (hepatitis B virus)
Hypertensive cerebrovascular injury	ALCOHOLISM
Aluminum overload	AGING
Allergic encephalomyelitis (demyelinating diseases)	Age-related macular degeneration
Potentiation of traumatic injury	RADIATION INJURY
EYE	IRON OVERLOAD
Photic retinopathy	Nutritional deficiencies (kwashiorkor)
Occular hemorrhage	Thalassemia and other chronic anemias treated with multiple blood transfusions
Cataractogenesis	Dietary iron overload (red wine, beer brewed in iron pots)
Degenerative retinal damage	Idiopathic hemochromatosis
Retinopathy of prematurity	RED BLOOD CELLS
HEART AND CARDIOVASCULAR SYSTEM	Fanconi's anemia
Atherosclerosis	Sickle cell anemia
Adriamycin cardiotoxicity	Favism
Keshan disease (selenium deficiency)	Malaria
Alcohol cardiomyopathy	Protoporphyrin photo-oxidation
KIDNEY	LUNG
Metal ion-mediated nephrotoxicity	Bronchopulmonary dysplasia
Aminoglycoside nephrotoxicity	Mineral dust pneumoconiosis
Autoimmune nephrotic syndromes	Bleomycin toxicity
GASTROINTESTINAL TRACT	Hypoxia
NSAID-induced GI tract lesions ^a	Cigarette smoke effect
Oral iron poisoning	Emphysema
Endotoxin liver injury	ARDS (some forms)
Diabetogenic actions of alloxan	Oxidant pollutants (O ₃ , SO ₂ , NO ₂)
Halogenated hydrocarbon liver injury	ISCHEMIA-REPERFUSION
FFA-induced pancreatitis	Stroke/myocardial infarction
CANCER	Organ transplantation
	AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

^aAbbreviations: ARDS, adult respiratory distress syndrome; NSAID, nonsteroidal antiinflammatory drug; FFA, free fatty acid.

^bSkin injury due to solar radiation, porphyria, contact dermatitis, and photosensitizers may also involve free-radical mechanisms.

ที่มา Aruoma (1998)

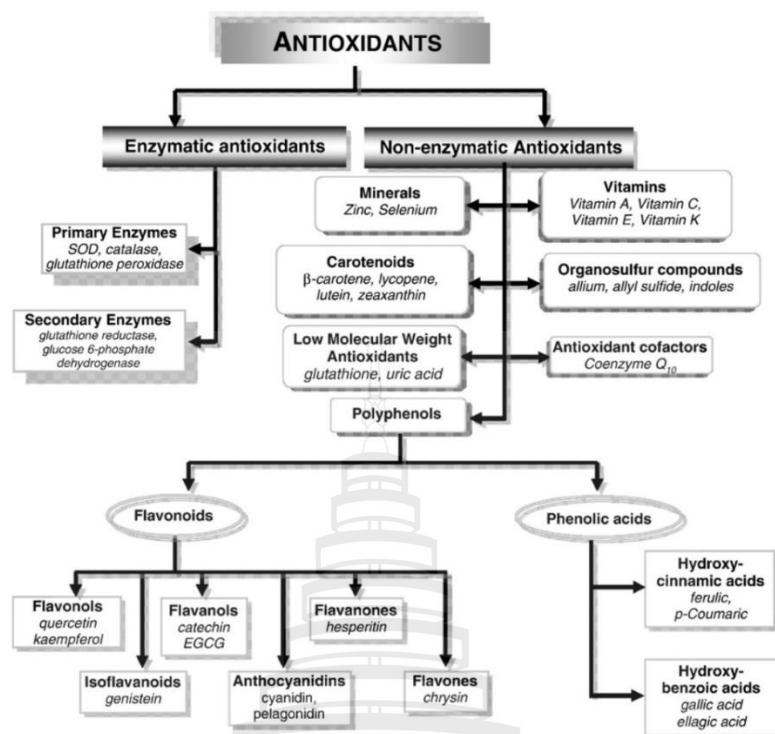
ภาพที่ 2.1 โรคและอาการที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระและความเครียดออกซิเดชัน

2.1.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระคือโมเลกุลที่มีความเสถียรและสามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุดไม่ครบคู่ เพื่อทำให้อนุมูลอิสระเหล่านั้นเกิดความเสถียร สารต้านอนุมูลอิสระมีฤทธิ์ต้าน ยับยั้ง หรือควบคุมสารอนุมูลอิสระไม่ให้เกิดกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งช่วยต้าน หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการออกซิเดชันได้ สารต้านอนุมูลอิสระจึงมีความสำคัญ ในด้านของการลดและยับยั้งความเสียหายอันเกิดจากกระบวนการออกซิเดชัน สารต้านอนุมูลอิสระมี กลไกการออกฤทธิ์หลักอยู่สองกลไกคือ การทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ที่เกิดจากอนุมูลอิสระ นั่นคือการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรง และการป้องกันการเกิดออกซิเดชันโดยการลดตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น การดักจับโลหะ หรือการยับยั้งเอนไซม์ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถถูกกำจัดได้ด้วยกระบวนการชีวเคมีของร่างกายและจากสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอก จากการศึกษาพบว่า ลักษณะทางพันธุกรรม ของแต่ละคนมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระไม่เท่ากัน ในขณะที่สารพิษ มลพิษ มลภาวะ และลักษณะการดำรงชีวิตของมนุษย์ในยุคปัจจุบันนั้น ส่งผลให้การต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น โดยปกติของร่างกายซึ่งอาศัยเพียงเอนไซม์นั้นไม่เพียงพอ จึงมีการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากอาหารและเครื่องดื่มเพิ่มมากขึ้น (ไชยวัฒน์ ไชยสูตร, 2555)

2.1.5 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ (Type of Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งประเภทได้หลากหลายแบบ ไม่ว่าจะเป็นจากแหล่งที่มาภายนอก หรือจากกลไกการทำงานในร่างกาย ส่วนใหญ่แล้วสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งออกเป็นสองประเภทหลัก คือแบบที่เป็นเอนไซม์ และแบบที่ไม่เป็นเอนไซม์ ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้จากกระบวนการภายในร่างกาย เช่น กลูตาไทโอน ยูริกแอซิด และยูบิควินอล และสามารถได้รับจากภายนอกโดยการรับประทานอาหาร และเครื่องดื่ม เช่นอาหารที่มีวิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น กรดอะมิโนต่าง ๆ เบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี เป็นต้น (Lee et al., 2004) สามารถดูประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระได้ดังภาพที่ 2.4



ที่มา Ratnam et al. (2006)

ภาพที่ 2.2 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

2.1.5.1 สารต้านอนุมูลอิสระประเภทเอนไซม์

สารต้านอนุมูลอิสระประเภทเอนไซม์มีกลไกหน้าที่แบบป้องกัน คือการทำลายอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างภายในเซลล์ ก่อนที่อนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำลายส่วนประกอบของเซลล์และเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป เป็นการจัดการอนุมูลอิสระในขั้นแรกของกระบวนการ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเอนไซม์ที่สำคัญมี 3 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase, SOD) เอนไซม์คาตาเลส (catalase, CAT) และเอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase, GPX) (วรพล เองวานิช, 2555)

1. เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (SOD)

เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสทำหน้าที่ยับยั้งกระบวนการของสารตั้งต้นในการสร้างอนุมูลอิสระในขั้นแรก โดยช่วยเร่งปฏิกิริยาการแยกส่วนของอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide) ที่มีความไวต่อปฏิกิริยาสูง ให้ไปเป็นไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และ ออกซิเจน (oxygen) ที่มีความไวต่อปฏิกิริยาลดกว่า หากเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

บกพร่องทำให้เกิดการออกซิเดชันของ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สูง (cellular oxidative toxicity) เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสที่พบในร่างกาย พบได้ 3 ชนิด ได้แก่ ซีโตโซลิก (cytosolic; Cu/Zn-SOD) ไมโทคอนเดรียล (mitochondrial; Mn-SOD) และ เอกซ์ตราเซลล์ลูลา (extracellular; EC-SOD) และยังสามารถพบได้ในธรรมชาติ เช่น กระหล่ำปลี ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ และบลูคอกลี (Mates, 1999; วรพล เองวานิช, 2555)

2. เอนไซม์คาตาเลส (CAT)

เอนไซม์คาตาเลส ทำหน้าที่ในการทำลายอนุมูลอิสระ โดยเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของ ไฮโดรเจน เปอร็อกไซด์ ที่ได้จากการย่อยสลายซูเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ด้วยวิธีการการคาตาลิสต์ (catalyst) ให้อยู่ในรูปของน้ำและออกซิเจน เอนไซม์คาตาเลส มีประสิทธิภาพในการกำจัด ไฮโดรเจน เปอร็อกไซด์ ในภาวะเฉียบพลัน (acute) หรือในสภาวะที่ร่างกายเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันอย่างรุนแรง (severe oxidative stress) (Mates, 1999; Lobo et al., 2010)

3. เอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร็อกซิเดส (GPx)

เอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร็อกซิเดส เป็นศูนย์กลางที่กำจัดพิษซึ่งเกิดจากเปอร็อกไซด์ (peroxide) ทำหน้าที่ป้องกันความเสียหายจากอนุมูลอิสระจำพวก ไฮโดรเจน (hydrogen) และลิปิด เปอร็อกไซด์ (lipid peroxide) เอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร็อกซิเดส ทำหน้าที่เป็นด่านแรกที่กำจัดไฮโดรเจน เปอร็อกไซด์ โดยจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ และต่อเนื่อง ซึ่งแตกต่างจากเอนไซม์คาตาเลส มีประสิทธิภาพในการกำจัดไฮโดรเจน เปอร็อกไซด์ ในภาวะเฉียบพลัน (acute) หรือในสภาวะที่เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันอย่างรุนแรง (severe oxidative stress) และสามารถป้องกันการเกิดลิปิด เปอร็อกซิเดชัน โดยการทำลายลิปิด เปอร็อกไซด์ ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของ กระบวนการลิปิด เปอร็อกซิเดชัน เอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร็อกซิเดส จึงสามารถซ่อมแซมดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมันที่ได้รับความเสียหายจากอนุมูลอิสระได้ (Lobo et al., 2010)

2.1.5.2 สารต้านอนุมูลอิสระประเภทที่ไม่ใช่เอนไซม์

สารต้านอนุมูลอิสระประเภทที่ไม่ใช่เอนไซม์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยตรง นั่นคือการป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในอาหารที่เรารับประทาน เช่น กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) กรดไลโปอิก (lipoic acid) สารโพลีฟีนอล (polyphenols) และ สารแคโรทีนอยด์ (carotenoid) รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกตัวจับโลหะ (chelating agents) อีกด้วย (Atta et al., 2017)

2.2 เลมอน (Lemon)

เลมอน หรือมะนาวเหลือง เป็นผลไม้ที่จัดอยู่ในตระกูลส้ม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Citrus limon* (L.) Osbeck เลมอนเป็นผลไม้ยอดนิยมที่มีสรรพคุณหลากหลาย เนื่องจากอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ทั้ง วิตามิน และแร่ธาตุ วิตามินที่พบได้ในเลมอน เช่น วิตามินซี (Vitamin C) วิตามินบี 1 (thiamine) วิตามินบี 3 (niacin) วิตามินบี 6 (pyridoxine) และวิตามินบี 9 (folate) แร่ธาตุที่พบได้ในเลมอน เช่น แคลเซียม (calcium) เหล็ก (iron) แมกนีเซียม (magnesium) โพแทสเซียม (potassium) และสังกะสี (zinc) นอกจากนี้เลมอนยังมีสารพฤกษเคมีจำพวก ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) โพลีฟีนอล (polyphenols) และ เทอร์พีน (terpenes) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงอีกด้วย ในน้ำเลมอน 100 มิลลิลิตร จะประกอบไปด้วยวิตามินซีสูงถึง 50 มิลลิกรัมและกรดซิตริก 5 กรัม โดยกรดซิตริกในผลไม้ตระกูลส้มนี้ นิยมนำมาใช้ในวงการอาหารเพื่อเป็นสารกันเสียจากธรรมชาติอีกด้วย ตั้งแต่อดีตชาวอินเดียใช้เลมอนในการรักษาสุขภาพ เช่น เพิ่มประสิทธิภาพในระบบการย่อยอาหาร เพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกัน เพิ่มพลังงานของร่างกายและสมอง รักษาความเป็นกรด-ด่างในร่างกาย รักษาระดับความชุ่มชื้นในร่างกาย ลดเสมหะ ฟันฟูสภาพผิว และช่วยในการลดน้ำหนัก ด้วยส่วนประกอบและสรรพคุณที่หลากหลายเหล่านี้ ทำให้เลมอน เป็นหนึ่งในยาสามัญประจำบ้านของชาวอินเดีย เห็นได้ว่าเลมอนมีสารอาหารและสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระอยู่มากมาย รวมถึงสามารถลดการอักเสบในร่างกายได้ จึงอาจรวมถึง การมีส่วนช่วยในการป้องกันโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้อีกด้วย นอกจากนี้เปลือกและใบของเลมอน ยังประกอบไปด้วยน้ำมันหอมระเหยหลากหลายชนิด โดยเฉพาะ ลิโมนีน (limonene) และยังพบ μ -terpinene β -pinene และ myrcene อีกด้วย (Ali, 2020; Al-Qudah et al., 2018)

ลิโมนีน (1-methyl-4-(1-methylethenyl) เป็นเทอร์พีน (terpene) ที่พบมากที่สุด ในธรรมชาติ และพบได้ทั่วไปในน้ำมันหอมระเหยของพืชบางชนิด โดยเฉพาะส้ม และเลมอน มีการศึกษาพบว่าลิโมนีนมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และจุลินทรีย์หลากหลายชนิดจึงมีการใช้ลิโมนีนเป็นสารกันเสียจากธรรมชาติ (natural preservative) กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น เนื่องจากมีความปลอดภัย และมีความเป็นพิษต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าลิโมนีน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ รวมถึงเชื้อราได้อย่างมีนัยสำคัญ (Han et al., 2019)

สายพันธุ์ของเลมอนนั้น มีมากมาย แต่สายพันธุ์ที่สำคัญ และเป็นที่ยอมรับในปัจจุบันได้แก่ ยูเรก้า (*Citrus limon* 'Eureka') ลิสบอน (*Citrus limon* 'Lisbon') และเมเยอร์ (*Citrus limon* 'Meyer') ทั้งสามสายพันธุ์มีจำหน่ายอย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยเฉพาะสายพันธุ์ยูเรก้า เนื่องจากเป็น

สายพันธุ์ที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศประเทศไทย และยังสามารถให้ผลผลิตได้ทั้งปีอีกด้วย แต่สายพันธุ์จะมีลักษณะผลที่แตกต่างกันออกไป โดยสายพันธุ์ยูเรก้า จะมีลักษณะกลมรี มีปลายแหลม ผิวค่อนข้างที่จะขรุขระ ผลใหญ่ สายพันธุ์ลิบบอนจะมีลูกเล็ก ๆ ที่กันผล ผลเล็กกว่าสายพันธุ์ยูเรก้า สายพันธุ์เมเยอร์มีลักษณะผลกลม ผิวเรียบคล้ายส้ม มีต่อมน้ำมันเล็ก (Al-Qudah et al., 2018)

2.2.1 คุณค่าทางโภชนาการของเลมอนต่อ 100 กรัม (ไม่รวมเปลือก)

ตารางที่ 2.3 คุณค่าทางโภชนาการของเลมอนต่อ 100 กรัม (ไม่รวมเปลือก)

Name	Amount	Unit
Water	88.98	g
Energy	29	kcal
Protein	1.1	g
Total lipid (fat)	0.3	g
Carbohydrate, by difference	9.32	g
Fiber, total dietary	2.8	g
Sugars, total including NLEA	2.5	g
Calcium, Ca	26	mg
Iron, Fe	0.6	mg
Magnesium, Mg	8	mg
Phosphorus, P	16	mg
Potassium, K	138	mg
Sodium, Na	2	mg
Zinc, Zn	0.06	mg
Copper, Cu	0.037	mg
Selenium, Se	0.4	µg
Vitamin C, total ascorbic acid	53	mg
Thiamin	0.04	mg
Riboflavin	0.02	mg
Niacin	0.1	mg

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

Name	Amount	Unit
Vitamin B-6	0.08	mg
Folate, total	11	µg
Folate, food	11	µg
Folate, DFE	11	µg
Choline, total	5.1	mg
Vitamin A, RAE	1	µg
Carotene, beta	3	µg
Carotene, alpha	1	µg
Cryptoxanthin, beta	20	µg
Lutein + zeaxanthin	11	µg
Vitamin E (alpha-tocopherol)	0.15	mg
Fatty acids, total saturated	0.039	g
SFA 14:0	0.001	g
SFA 16:0	0.035	g
SFA 18:0	0.002	g
Fatty acids, total monounsaturated	0.011	g
MUFA 16:1	0.001	g
MUFA 18:1	0.01	g
Fatty acids, total polyunsaturated	0.089	g
PUFA 18:2	0.063	g
PUFA 18:3	0.026	g

ที่มา FoodData Central (2020)

2.3 น้ำอินฟิวส์ (Infused Water)

น้ำอินฟิวส์ หรือน้ำแช่ผักผลไม้ (infused water) คือ น้ำที่นำผลผลิตจากธรรมชาติ มาแช่ในน้ำ ซึ่งเปรียบเสมือนการสกัดสารพฤกษเคมี หรือที่เรียกว่าไฟโตเคมีคอล (phytochemical) จากพืชผักผลไม้ สารสกัดที่ได้จะถูกกรองด้วยน้ำ เนื่องจากสารสารพฤกษเคมีส่วนใหญ่ละลายด้วยน้ำ จึงสามารถกรองผ่านการแช่น้ำออกมาได้ น้ำอินฟิวส์มีปริมาณน้ำตาลที่ต่ำกว่าการบริโภคน้ำผลไม้อีกด้วย ผัก ผลไม้และสมุนไพร เป็นส่วนผสมทั่วไปที่มักนำมาทำน้ำอินฟิวส์ เนื่องจากมีหลากหลายรสชาติ และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะ วิตามินและแร่ธาตุ โดยทั่วไปแล้วจะใช้วัตถุดิบที่หาได้ง่าย และนิยมบริโภคกันอยู่แล้วในชีวิตประจำวัน เช่น ผลไม้ จำพวก เลมอนหรือมะนาวเหลือง ส้ม กล้วย หรือองุ่น และผักหรือสมุนไพร เช่น แตงกวา สารระเหย หรือใบโหระพา รวมถึงส่วนอื่น ๆ ของพืชที่สามารถรับประทานได้ไม่ว่าจะเป็น ใบ ราก หรือส่วนของลำต้นก็ตาม (Thiagarajah et al., 2019)

ในปัจจุบันมีบริโภคน้ำอินฟิวส์กันอย่างแพร่หลาย ในคนที่เริ่มรักษาสุขภาพ โดยมีคำแนะนำในการเตรียมน้ำอินฟิวส์คือ ควรแช่ผลไม้ทิ้งไว้อย่างน้อย 3 ชั่วโมง เพื่อรสชาติและกลิ่นที่เหมาะสมในการรับประทาน และควรใช้น้ำเย็น หรือแช่ในตู้เย็นเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียต่าง ๆ ในการเตรียมน้ำอินฟิวส์ในร้านอาหารทั่วไปส่วนใหญ่แล้ว เตรียมแช่ผลไม้ไว้เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง เนื่องจากทำเป็นปริมาณมากและสะดวกต่อการจัดเตรียม แต่อย่างไรก็ตาม น้ำอินฟิวส์ ยังไม่มีสูตรที่แน่นอนหรือตายตัว สามารถนำพืช ผัก ผลไม้ หรือสมุนไพร ชนิดใดมาแช่ ให้เกิดกลิ่น สี หรือแม้กระทั่งรสชาติ ที่แตกต่างจากน้ำเปล่าทั่วไป และยังไม่มีการกำหนดเวลาที่เหมาะสมในการแช่น้ำอินฟิวส์ เพื่อให้ได้สารอาหาร หรือสารพฤกษเคมีต่าง ๆ ออกมา จึงเป็นที่น่าสนใจ ที่จะทำการศึกษาถึงช่วงเวลาในการแช่น้ำอินฟิวส์ ว่าช่วงเวลาใดเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสม และน้ำอินฟิวส์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากน้อยเพียงใด โดยสมมติฐานของการศึกษานี้ คือ น้ำแช่เลมอนในช่วงเวลาที่ต่างกัน จะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ผลจากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์และเป็นแนวทางในการเลือกเครื่องดื่มทางเลือกในการดูแลสุขภาพของผู้บริโภคได้ในอนาคต นอกจากนี้ข้อมูลจากการศึกษานี้ยังเป็นประโยชน์ต่อการวิจัยในอนาคตเพื่อหาสูตร ส่วนผสม ให้ได้สารพฤกษเคมีต่าง ๆ รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระออกมามากที่สุด หรือเหมาะสมกับความต้องการของผู้บริโภคต่อไป

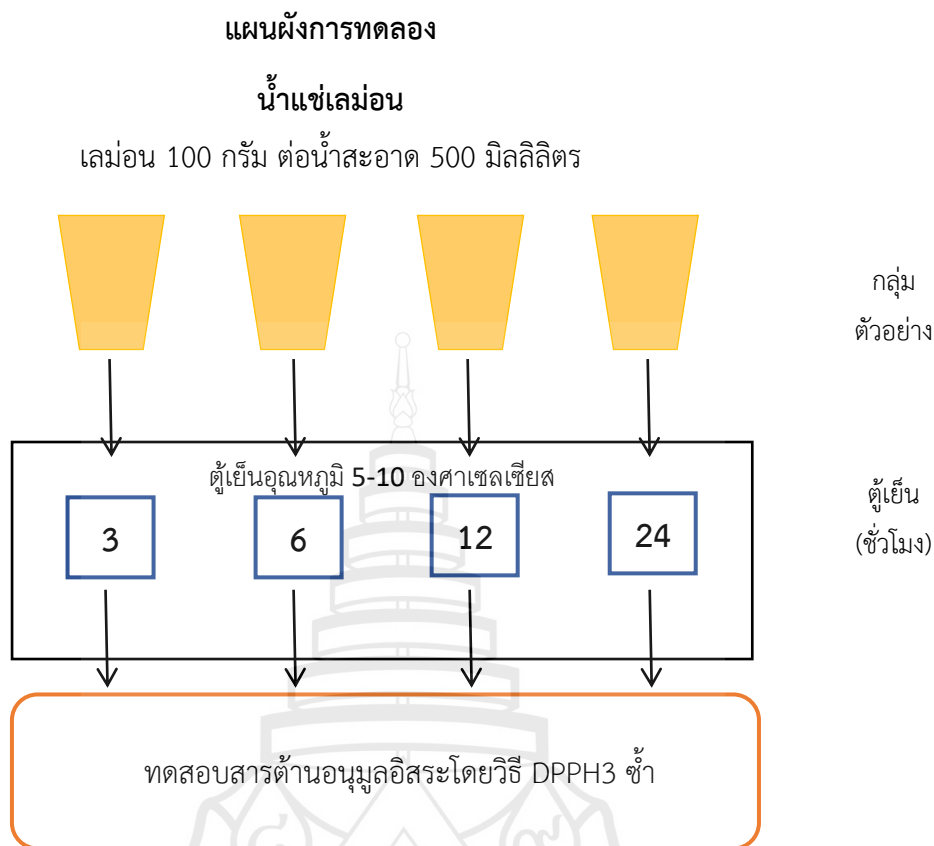
บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 รูปแบบของการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental research) ซึ่งเป็นการทดลองทางวิทยาศาสตร์ภายในห้องปฏิบัติการ โดยมีการศึกษาตัวแปร ดังนี้

1. ตัวแปรต้น ได้แก่ การแช่น้ำเลมอนที่ระยะเวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง
2. ตัวแปรตาม ได้แก่ ปริมาณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แสดงผลเป็นเปอร์เซ็นต์ DPPH
3. ตัวแปรควบคุม ได้แก่ การควบคุมอุณหภูมิในตู้เย็นและชนิดของผลไม้ ได้แก่ มะนาว เหลือง (เลมอน) สายพันธุ์ยูเรก้า
4. โครงการนี้เป็นการทดลองเพื่อวิเคราะห์จากตัวอย่างของน้ำแช่เลมอน ซึ่งสั่งซื้อเลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า จากพสุธาราฟาร์ม จังหวัดราชบุรี เพื่อให้ได้สายพันธุ์ตรงตามที่ต้องการ นำไปแช่ในน้ำดื่มและแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียสตามระยะเวลาที่กำหนด และตรวจวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระต่อ 1 หน่วยปริมาตรที่เท่ากันในห้องทดลองทางวิทยาศาสตร์ โดยมีแผนการทดลองดังภาพที่ 3.1 ซึ่งจะอธิบายอย่างละเอียด ในข้อที่ 3.1.1 การเตรียมตัวอย่าง และ ข้อที่ 3.1.2 วิธีการตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 3.1 แผนผังการทดลอง

3.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างคือน้ำแช่เลม่อน โดยใช้เลม่อนสายพันธุ์ยูเรก้าที่มีอายุประมาณ 6 เดือน จากพสุธารา ฟาร์ม จังหวัดราชบุรี ระยะเวลาหลังจากเก็บเกี่ยวจนถึงวันทดลองคือ 3 วัน โดยมีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

3.1.1.1 นำมะนาวเหลือง (เลม่อน) ล้างให้สะอาด โดยใส่ในซามและเปิดน้ำให้ไหลผ่าน โดยใช้มือถูที่ผิวของเลม่อนแต่ละลูกเป็นเวลาอย่างน้อย 2 นาที และนำขึ้นพักไว้ในตะกร้าให้แห้ง เป็นเวลา 10 นาที

3.1.1.2 หั่นตามแนวขวาง (horizontal cross-section) เป็นแว่นบางๆ โดยไม่ต้องปอกเปลือก นำส่วนหัวและส่วนท้ายแยกทิ้ง และนำใส่โหลแก้วแบบมีฝาปิดขนาด 1,000 มิลลิลิตร โหลละ 100 กรัม ซึ่งโดยเครื่อง Analytical balance ทศนิยม 4 ตำแหน่ง เป็นจำนวน 4 โหล

3.1.1.3 นำน้ำดื่มที่มีค่า pH 6.8 – 8.5 และมีค่าสารละลายทั้งหมดที่เหลือจากการระเหย (Total Dissolve Solid, TDS) ไม่เกิน 500 ppm ตามประกาศหลักเกณฑ์มาตรฐานน้ำดื่มกระทรวงสาธารณสุข ปี 2560 ใส่ลงไปในทุกโหล โหลละ 500 มิลลิลิตร

3.1.1.4 นำไปแช่ในตู้เย็นในห้องปฏิบัติการ โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 5-10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

3.1.1.5 เมื่อถึงกำหนดตามระยะเวลา นำออกมาเตรียมเพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ต่อไป

3.1.2 วิธีการตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

การตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) คือการใช้สาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ในการทำปฏิกิริยากับน้ำแช่ผลไม้ ที่ผ่านการแช่มาในระยะเวลาที่แตกต่างกัน เพื่อวัดหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่ผลไม้ โดยสามารถวัดได้จากปริมาณของ DPPH ที่เปลี่ยนไป เนื่องจากสาร DPPH เป็นสารอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง เมื่อทำปฏิกิริยาเข้ากับน้ำแช่ผลไม้ที่มีองค์ประกอบเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จะส่งผลให้ปริมาณของสาร DPPH เปลี่ยนแปลงไปตามความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่ผลไม้ โดยการใช้เครื่อง Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แบบ 3 ซ้ำ ซึ่งจะแสดงผลออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ DPPH การทดลองนี้ทำในห้องทดลองทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ตามขั้นตอนการดำเนินงาน ดังนี้

3.1.2.1 การเตรียมสารละลายจากตัวอย่าง

เนื่องจากตัวอย่างอยู่ในรูปของสารละลายที่สามารถนำไปทดสอบตามกระบวนการได้ เมื่อถึงระยะเวลาที่กำหนดนำโหลน้ำแช่ผลไม้ออกจากตู้เย็น และทำการกรองผลไม้และเศษตะกอนออกโดยผ้าขาวบาง จึงได้เป็นสารละลายตัวอย่าง เพื่อนำไปทดสอบตามกระบวนการต่อไป

3.1.2.2 การเตรียมสาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

ละลายสาร DPPH ด้วยเอทานอลเข้มข้น 95% ให้ได้สารละลาย DPPH ค่าความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 40 ml. แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer

3.1.2.3 การทดสอบสารละลายด้วยวิธี DPPH

เป็นการผสมสารละลายตัวอย่างและสารละลาย DPPH เข้าด้วยกันเพื่อวัดค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm. โดยใช้ BHT (butylated hydroxytoluene) เป็นสารละลายมาตรฐาน ซึ่งมีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

1. แบ่งสารละลายตัวอย่าง ด้วย Micropipette ตัวอย่างละ 1 ml.
2. เติมสารละลาย DPPH ที่ค่าความเข้มข้น 0.1 mM ให้ได้ปริมาตรรวม 4 ml.
3. นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer
4. ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืด (ตู้มืดที่แสงไม่สามารถส่องผ่านได้) ที่อุณหภูมิห้อง

เป็นเวลา 30 นาที

5. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm. ด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ BHT (butylated hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐาน ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$(\% \text{ Inhibition}) = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{extract or standard}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และ Ethanol ซึ่งวัดจากเครื่อง Spectrophotometer

$A_{\text{extract or standard}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่เหลือ หลังจากการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน หรือสารละลายตัวอย่าง ซึ่งวัดจากเครื่อง Spectrophotometer

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่าความแตกต่างของ % Inhibition ของน้ำน้ำแช่ผลไม้ซึ่งผ่านการแช่ในตู้เย็น ในระยะเวลาแตกต่างกัน (3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง) โดยการใช้การวิเคราะห์การแปรปรวนทางเดียว (one way ANOVA) และ วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ Turkey's post hoc test โดยกำหนดค่าความเชื่อมั่น 95% (p-value < 0.05)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะทั่วไปของเลมอน สายพันธุ์ยูเรก้า

การศึกษานี้ใช้เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำแช่ผลไม้ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันด้วยวิธี DPPH โดยเลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า ที่ใช้ผลสีเหลือง ผิวไม่เรียบ มีเปลือกหนา ลักษณะกลมรีมีติ่งแหลมปลายผล ดังแสดงในภาพที่ 4.1 ขนาดน้ำหนัก 200-250 กรัม



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของเลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า

4.2 ลักษณะทั่วไปของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า

น้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ซึ่งน้ำแช่เลมอนในทุกเวลาที่ใช้ในการศึกษา มีลักษณะใส ไม่ขุ่น ไม่มีสี ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทั่วไปของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

	3 ชั่วโมง	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
สี	ไม่มีสี	ไม่มีสี	ไม่มีสี	ไม่มีสี
ความขุ่น	ใส	ใส	ใส	ใส



ภาพที่ 4.2 ลักษณะทั่วไปของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

4.3 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน เทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ของการศึกษาครั้งนี้แสดงผลออกมาเป็นค่า % inhibition DPPH (เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ) ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐาน และน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

วัดครั้งที่	BHT	ระยะเวลาที่ผ่านการแช่ (ชั่วโมง)			
		3	6	12	24
วัดครั้งที่ 1	68.54	59.27	62.08	63.21	60.40
	68.26	58.99	61.80	63.04	60.23
	67.70	58.43	60.11	62.20	59.08
วัดครั้งที่ 2	69.17	58.99	61.24	60.77	58.99
	68.33	58.71	60.39	60.11	60.39
	68.06	60.11	61.24	59.55	59.08
วัดครั้งที่ 3	69.08	59.27	61.24	60.96	58.99
	67.41	59.55	60.39	60.39	59.27
	67.41	58.43	61.24	59.55	59.08
Mean	68.22	59.08	61.08	61.09	59.50
SD	0.65	0.54	0.66	1.41	0.64

ผลการศึกษาพบว่าน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ คือ 59.08 ± 0.54 , 61.08 ± 0.66 , 61.09 ± 1.07 และ 59.50 ± 0.64 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน BHT คือ 68.22 ± 0.65 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*p < 0.05)

4.4 เปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ เมื่อนำมาคำนวณด้วยสถิติ จะได้ค่าดังตารางที่ 4.3 ดังนี้

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ

ระยะเวลาที่แช่ (ชั่วโมง)		Mean	SD	P-value
น้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า	3	59.08	0.54	0.0001*
	6	61.08	0.66	
	12	61.09	1.41	
	24	59.50	0.64	
p-value from ANOVA and <i>Post Hoc Turkey's Multiple Comparisons</i>				
3 ชั่วโมง (59.08)	24 ชั่วโมง (59.50)	6 ชั่วโมง (61.08)	12 ชั่วโมง (61.09)	

หมายเหตุ *เส้นตรงที่ไม่เชื่อมต่อกันหมายถึงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อทำการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ 61.08 ± 0.66 และ 61.09 ± 1.07 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่ามากกว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 3 ชั่วโมง (59.08 ± 0.54) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($*p < 0.05$) แต่ทั้งนี้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 3 และ 24 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (59.08 ± 0.54 และ 59.50 ± 0.64 ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังมีความแตกต่างของความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับ 24 ชั่วโมง

ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบลำดับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลาต่าง ๆ พบว่า น้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมงมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเทียบกับเวลา 3 และ 24 ชั่วโมง



บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกันด้วยวิธี DPPH Assay พบว่าน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเทียบกับเวลา 3 และ 24 ชั่วโมง ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และยังพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 24 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเทียบกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 3 ชั่วโมง เนื่องจากความคงตัวของวิตามินซี ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นแนวทางในการเลือกระยะเวลาในการแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในน้ำเพื่อประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระในอนาคต ซึ่งสรุปได้ว่าควรแช่ในระยะเวลาขั้นต่ำ 6 ชั่วโมง และไม่เกิน 12 ชั่วโมง เพื่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมของน้ำแช่เลมอน

5.2 อภิปรายผล

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน คือ 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ด้วยวิธี DPPH Assay

ด้วยวิถีชีวิตในสังคมปัจจุบันที่มนุษย์ต้องเผชิญกับสิ่งแวดล้อมที่เต็มไปด้วยมลพิษ เผชิญกับความเครียดทั้งจากกาย และสภาพจิตใจ ส่งผลให้มีการสะสมของอนุมูลอิสระในร่างกายมากขึ้น เมื่อสะสมมากขึ้นเกินปริมาณขีดจำกัดของร่างกายที่จะสามารถกำจัดอนุมูลอิสระผ่านกระบวนการทำงานของปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมนุษย์ (Phaniendra et al., 2014) จะก่อให้เกิดการเสียหายตั้งแต่ระดับเซลล์ไปจนถึงอวัยวะ และก่อให้เกิดการเจ็บป่วยและเกิดโรคในที่สุด (รัตนابرจิตพงศ์ชัย, 2555) ด้วยสาเหตุเหล่านี้ทำให้ผู้คนหันมาดูแลสุขภาพมากขึ้น โดยทางหนึ่งของวิถี

การดูแลสุขภาพเพื่อลดการสะสมของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ การเลือกรับประทานอาหารที่มีสารอาหารที่มีความสามารถในการกำจัด หรือ ต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย

น้ำอินฟิวส์ หรือน้ำแช่ผักผลไม้ (infused water) ก็เป็นอีกหนึ่งทางเลือกของการดูแลสุขภาพเพื่อลดการสะสมของสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากน้ำอินฟิวส์จะอุดมไปด้วยสารสารพฤกษเคมีที่ส่วนใหญ่มีความสามารถในการละลายด้วยน้ำ ซึ่งสารที่พบในน้ำอินฟิวส์ส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มของวิตามิน (Thiagarajah et al., 2019)

เลมอน หรือมะนาวเหลือง โดยเฉพาะสายพันธุ์ยูเรก้า เป็นผลไม้ที่นิยมนำมาทำน้ำอินฟิวส์ เนื่องจากกลิ่นที่หอมสดชื่นจากองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย (Ali, 2020; Al-Qudah et al., 2018) แต่ทั้งนี้จากการศึกษาที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาใดที่ทำการศึกษาคือทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน จึงเป็นที่มาของการศึกษาครั้งนี้ ที่พบว่าน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมงมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเทียบกับเวลา 3 และ 24 ชั่วโมง

การศึกษานี้พบว่าน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากเลมอน อุดมไปด้วยวิตามินซีที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาได้รายงานว่าเลมอน มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี (Pereira et al., 2012)

ทั้งนี้ในการศึกษานี้ได้เลือกใช้เวลาในการแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า เริ่มต้นที่เวลา 3 ชั่วโมง เนื่องจากมีการศึกษาก่อนหน้าที่ได้รายงานว่าการแช่เลมอนในน้ำอินฟิวส์ต้องใช้เวลาน้อยกว่า 87 นาที จึงจะสามารถตรวจพบกรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซีในน้ำได้ แต่ทั้งนี้ในทางปฏิบัติแล้วผู้ประกอบการร้านอาหาร หรือในครัวเรือนเองมักจะเตรียมน้ำอินฟิวส์ในปริมาณมาก แต่ยังไม่มีการศึกษาใดที่ทำการศึกษาคือทำการศึกษาว่าหากแช่ผลไม้ในน้ำอินฟิวส์เป็นระยะเวลาเวลานานมากขึ้น จะมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอย่างไร การศึกษานี้จึงได้ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง เทียบกับ 3 ชั่วโมง ซึ่งผลการศึกษาพบว่าแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่า 3 ชั่วโมง ซึ่งผลการศึกษาที่พบดังกล่าว สามารถอธิบายได้จากรายงานการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่าการแช่เลมอนในน้ำเป็นระยะเวลาที่นานขึ้นจะพบปริมาณวิตามินซีในน้ำที่มากขึ้น และยังสามารถตรวจพบวิตามินและแร่ธาตุอื่นได้ เช่น วิตามิน บี 6 และ สังกะสี ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน จึงทำให้น้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 6 และ 12 ชั่วโมง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่า 3 ชั่วโมง แต่เป็นที่น่าสนใจว่าน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 24 ชั่วโมง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ต่างจาก 3 ชั่วโมง ซึ่งผลการศึกษาที่พบนี้อาจเนื่องมาจากความคงตัวของวิตามินซี ซึ่งเป็นวิตามินหลักที่พบในเลมอน โดยการศึกษาครั้งนี้ได้รายงานถึงผลของระยะเวลาในการแช่ และอุณหภูมิของน้ำที่มีผลต่อ

การคงตัวของวิตามินซี ซึ่งพบว่าหากวิตามินซีละลายอยู่ในน้ำและโดนแสงนานมากกว่า 18 ชั่วโมงจะทำให้ปริมาณวิตามินซีในน้ำลดลงเหลือเพียงร้อยละ 50 ส่วนอุณหภูมิที่มากกว่า 40 องศา ก็สามารถทำให้ปริมาณวิตามินซีในน้ำลดลงได้เช่นกัน (Abderrahim et al., 2011, Kumari S et al., 2016, Oboh et al., 2010, Ye et al., 2013) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ได้ควบคุมอุณหภูมิของน้ำให้อยู่ในช่วง 4 องศาเซลเซียส โดยแช่ในตู้เย็นเดียวกันในช่วงเวลาเดียวกัน ดังนั้นปัจจัยที่ส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ คือ ระยะเวลาของการแช่ที่สัมพันธ์กับความคงตัวของวิตามินซี ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวทำให้สามารถกล่าวได้ว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมในการแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า คือ 6-12 ชั่วโมง จึงจะเกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นแนวทางในการเลือกเวลาในการแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าเพื่อประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระในอนาคต

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 เป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอน สายพันธุ์อื่น เช่น สายพันธุ์ลิสบอน (lisbon) สายพันธุ์เมเยอร์ (meyer) หรือสายพันธุ์เยดิเวเรน (yediveren)

5.3.2 เป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนที่อุณหภูมิปกติ กล่าวคือ อุณหภูมิห้อง (room temperature) ซึ่งมีค่าระหว่าง 20 – 25 องศาเซลเซียส

5.3.3 เป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ (microbial) เมื่อแช่น้ำเลมอนในเวลาที่เพิ่มขึ้น

รายการอ้างอิง



รายการอ้างอิง

- กนกวรรณ จารุกัจฉา, วิไลดา สินทร์ และชรีญา พิมพ์สอน. (2557). ความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชันและภาวะไขมันในเลือดสูง. *วารสารพิษวิทยาไทย*, 29(1-2), 57-69.
- ไชยวัฒน์ ไชยสุต. (2555). สารต้านอนุมูลอิสระสำหรับป้องกัน ภาวะเครียดออกซิเดชันของผิวหนัง. ใน วรพล เองวานิช, *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*. นวัตกรรมสุขภาพ.
- รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย. (2555). เรื่องราวของอนุมูลอิสระ. ใน สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย (วรพล เองวานิช), *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ* (หน้า 15-40). นวัตกรรมสุขภาพ.
- วรพล เองวานิช. (2555). สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มเอนไซม์. ใน สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย (วรพล เองวานิช), *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ* (หน้า 193-204). นวัตกรรมสุขภาพ.
- วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์. (2555). การตอบสนองต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน และการปรับตัวของเซลล์. ใน สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย (วรพล เองวานิช), *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*. (หน้า 61-85). เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพ.
- ศุภชัย เจริญสิน และไมตรี สุทธจิตต์. (2555). สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มวิตามิน. ใน สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย (วรพล เองวานิช), *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ* (หน้า 205-244). เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพ.
- Abderrahim, F., Estrella, S., Susin, C., Arribas, S. M., González, M. C., & Condezo-Hoyos, L. (2011). The antioxidant activity and thermal stability of lemon verbena (*Aloysia triphylla*) infusion. *Journal of Medicinal Food*, 14(5), 517–527.
<https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0102>

- Ali, S. (2020). Lemon juice antioxidant activity against oxidative stress. *Baghdad Science Journal*, 17(1 Suppl), 0207.
[https://doi.org/10.21123/bsj.2020.17.1\(suppl.\).0207](https://doi.org/10.21123/bsj.2020.17.1(suppl.).0207)
- Al-Qudah, T. S., Zahra, U., Rehman, R., Muhammad, M. I., Sadique, S., Nisar, S., . . . Tahtamouni, R. W. (2018). Lemon as a source of functional and medicinal ingredient: A review. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 14(2018), 55–61.
- Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 199–212.
<https://doi.org/10.1007/s11746-998-0032-9>
- Atta, E. M., Mohamed, N. H., & Abdelgawad, A. A. M. (2017). Antioxidants: An overview on the natural and synthetic types. *European Chemical Bulletin*, 6(8), 365. <https://doi.org/10.17628/ecb.2017.6.365-375>
- Carlsen, M. H., Halvorsen, B. L., Holte, K., Bøhn, S. K., Dragland, S., Sampson, L., . . . Blomhoff, R. (2010). The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutrition Journal*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1475-2891-9-3>
- FoodData Central. (2020). *USDA*. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1102594/nutrients>
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Research*, 31(4), 261–272.
<https://doi.org/10.1080/10715769900300841>
- Han, Y., Sun, Z., & Chen, W. (2019). Antimicrobial susceptibility and antibacterial mechanism of limonene against *listeria monocytogenes*. *Molecules*, 25(1), 33.
<https://doi.org/10.3390/molecules25010033>

- Kregel, K. C., & Zhang, H. J. (2007). An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(1), R18–R36. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00327.2006>
- Kumari, S., Deori, M., Ramakrishnan, E., Kotoky, J., & Devi, R. (2016). In vitro and in vivo antioxidant, anti-hyperlipidemic properties and chemical characterization of *Centella asiatica* (L.) extract. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 400.
- Lee, J., Koo, N., & Min, D. B. (2004). Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3(1), 21–33. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00058.x>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Mates, J. M. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience*, 4(4), d339-345. <https://doi.org/10.2741/a432>
- Meral, A., Tuncel, P., Sürmen-Gür, E., Özbek, R., Öztürk, E., & Günay, N. (2000). Lipid peroxidation and antioxidant status in β -thalassemia. *Pediatric Hematology and Oncology*, 17(8), 687–693. <https://doi.org/10.1080/08880010050211402>
- Oboh, H., & Omoregie, I. P. (2011). Total phenolics and antioxidant capacity of some nigerian beverages. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*, 19(1), 87-75.
- Penta, S. (2015). Antioxidant Agents. In V. R. Rao (Ed.), *Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives* (1st ed., pp. 137–138). Academic Press.

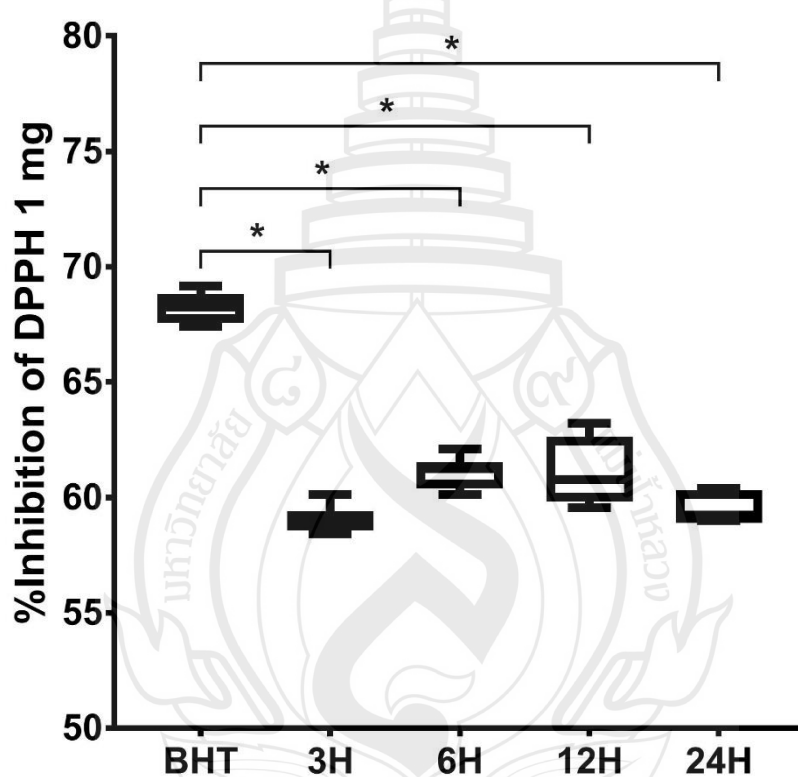
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2014). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Ratnam, D. V., Ankola, D., Bhardwaj, V., Sahana, D., & Kumar, M. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113(3), 189–207. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.04.015>
- Rubbo, H., Radi, R., Trujillo, M., Telleri, R., Kalyanaraman, B., Barnes, S., Kirk, M., & Freeman, B. A. (1994). Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *Journal of Biological Chemistry*, 269(42), 26066–26075. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)47160-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)47160-8)
- Surai, P., & Dvorska, J. (2002). Effect of selenium and vitamin E content of the breeder diet on lipid peroxidation in breast muscles during storage. *Proc.Aust.Poult. Sci.Sym*, 14, 187-192.
- Thiagarajah, K., Ong, M. K., Teh, L. K., & Lye, H. S. (2019). Plants Infused Water as Preferred Healthy Drinks. *Bottled and Packaged Water*, 4, 367–402. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815272-0.00013-1>
- Ye, C. L., Dai, H. D., & Hu, W. L. (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa* L.). *Food Control*, 30(1), 48-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.033>
- Zhou, S., Zou, H., Huang, G., & Chen, G. (2021). Preparations and antioxidant activities of sesamol and its derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 31, 127716. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127716>



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

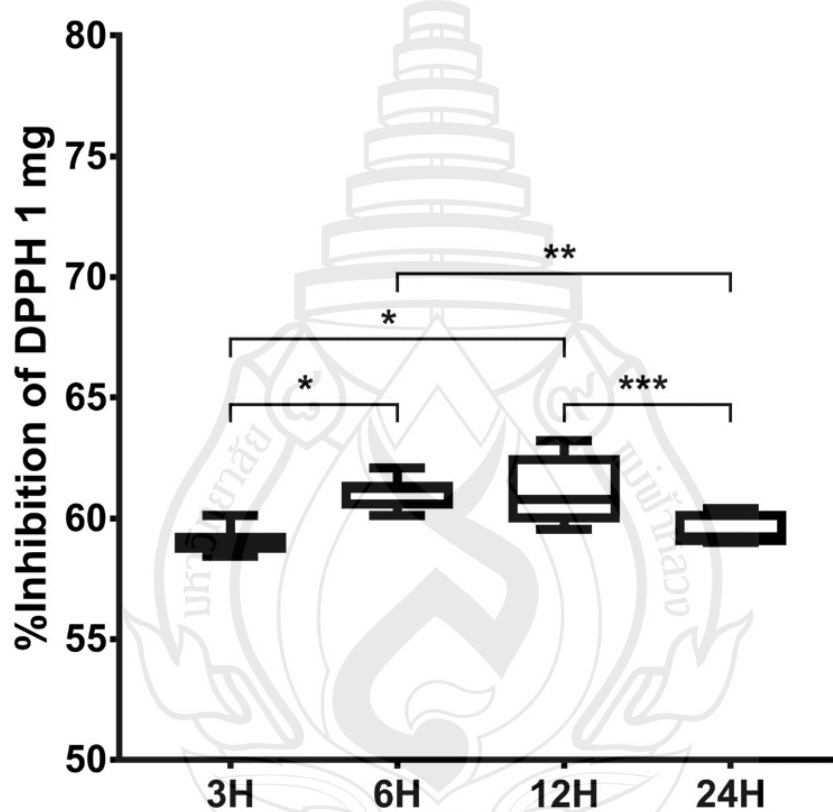
เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า
ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT



ภาพที่ ก1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกันเทียบกับสารละลายมาตรฐาน BHT (* $p < 0.05$ vs BHT)

ภาคผนวก ข

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า
ที่เวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ ข1 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าที่เวลา 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง (* $p < 0.05$ vs 3H, ** $p < 0.05$ vs 6H, *** $p < 0.05$ vs 12H)

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้า
ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ด้วยวิธี ANOVA

ตารางที่ ค1 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าใน
ช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ด้วยวิธี ANOVA

ANOVA summary	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
F	174.4				
P value	<0.0001				
P value summary	****				
Significant diff. among means ($P < 0.05$)?	Yes				
R squared	0.9458				
ANOVA table	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
Treatment (between columns)	493.8	4	123.4	F (4, 40) = 174.4	P<0.0001
Residual (within columns)	28.31	40	0.7078		
Total	522.1	44			

ตารางที่ ค2 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำแช่เลมอนสายพันธุ์ยูเรก้าในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ด้วย Turkey's post hoc test

Alpha	0.05							
Tukey's multiple								
comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Sum				
BHT vs. 3H	9.134	8.001 to 10.27	Yes	****	A-B			
BHT vs. 6H	7.137	6.004 to 8.269	Yes	****	A-C			
BHT vs. 12H	7.130	5.997 to 8.262	Yes	****	A-D			
BHT vs. 24H	8.714	7.581 to 9.847	Yes	****	A-E			
3H vs. 6H	-1.997	-3.130 to -0.8646	Yes	****	B-C			
3H vs. 12H	-2.004	-3.137 to -0.8716	Yes	****	B-D			
3H vs. 24H	-0.4198	-1.553 to 0.7130	No	ns	B-E			
6H vs. 12H	-0.007000	-1.140 to 1.126	No	ns	C-D			
6H vs. 24H	1.578	0.4448 to 2.710	Yes	**	C-E			
12H vs. 24H	1.585	0.4518 to 2.717	Yes	**	D-E			
Test details	Mean 1	Mean 2	Mean Diff.	SE of diff.	n1	n2	q	DF
BHT vs. 3H	68.22	59.08	9.134	0.3966	9	9	32.57	40
BHT vs. 6H	68.22	61.08	7.137	0.3966	9	9	25.45	40
BHT vs. 12H	68.22	61.09	7.130	0.3966	9	9	25.42	40
BHT vs. 24H	68.22	59.50	8.714	0.3966	9	9	31.07	40
3H vs. 6H	59.08	61.08	-1.997	0.3966	9	9	7.122	40
3H vs. 12H	59.08	61.09	-2.004	0.3966	9	9	7.147	40
3H vs. 24H	59.08	59.50	-0.4198	0.3966	9	9	1.497	40
6H vs. 12H	61.08	61.09	-0.007000	0.3966	9	9	0.0249	40
6H vs. 24H	61.08	59.50	1.578	0.3966	9	9	5.625	40
12H vs. 24H	61.09	59.50	1.585	0.3966	9	9	5.650	40