



การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ กะหล่ำปลี แครร์รอต
มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่สด เทียบกับการผ่านความร้อน
ด้วยการนึ่งและการต้ม

STUDY ON PHENOLIC AND FLAVONOID ANTIOXIDANT CONTENT AND
ACTIVITIES OF FRESH CABBAGE, CARROT, TOMATO, AND
ONION COMPARING TO STEAMING AND BOILING

จิตภา วิมุกตานนท์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ กะหล่ำปลี แครร์รอต
มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่สด เทียบกับการผ่านความร้อน
ด้วยการนึ่งและการต้ม

STUDY ON PHENOLIC AND FLAVONOID ANTIOXIDANT CONTENT AND
ACTIVITIES OF FRESH CABBAGE, CARROT, TOMATO, AND
ONION COMPARING TO STEAMING AND BOILING

จิตาภา วิมุกตานนท์

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ กะหล่ำปลี แคร้รอต
มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่สด เทียบกับการผ่านความร้อน
ด้วยการนึ่งและการต้ม

STUDY ON PHENOLIC AND FLAVONOID ANTIOXIDANT CONTENT AND
ACTIVITIES OF FRESH CABBAGE, CARROT, TOMATO, AND
ONION COMPARING TO STEAMING AND BOILING

จิตาภา วิมุกตานนท์

การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

2565

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ



.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภัทรวรรณ สิริธิประภาพร)



.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ดร.กานต์ วงศ์สุสวัสดิ์)



.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.วณรัตน์ บันต)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อาจารย์ ดร.กานต์ วงศ์ศุภสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และคณะกรรมการสอบทุกท่านเป็นอย่างสูง ที่เป็นผู้สร้างแรงบันดาลใจ และให้คำแนะนำในการทำงานวิจัยขึ้นนี้ให้สำเร็จบรรลุตามวัตถุประสงค์

ขอขอบคุณคณะกรรมการสุขภาพ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้บริการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างตาม มาตรฐาน และอีกทั้งยังให้การสนับสนุนการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ทำให้การวิจัยนี้ ดำเนินไปได้ด้วยดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัวอันเป็นที่รักของผู้วิจัย ที่คอยเป็น กำลังใจช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน และขอขอบคุณเพื่อนพี่น้องร่วมหลักสูตรที่คอยช่วยเหลือและ เป็นกำลังใจให้กันตลอดมา

จิตาภา วิมุกตานนท์

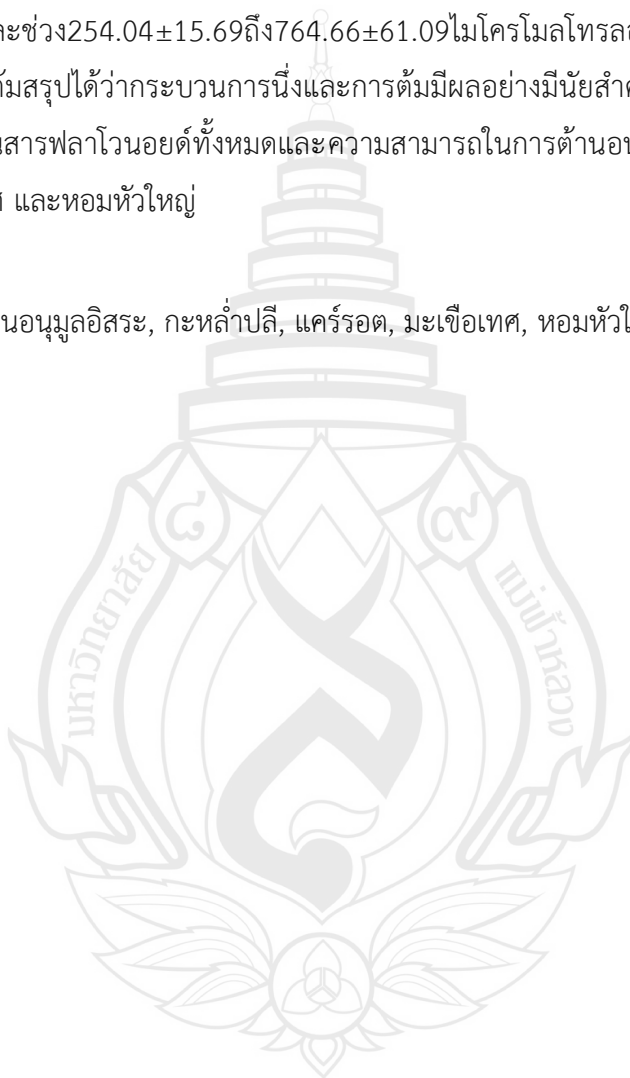
ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ กะหล่ำปลี แคร้รอต มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่สด เทียบกับการผ่านความร้อนด้วยการนึ่งและการต้ม
ชื่อผู้เขียน	จิตภา วิมุกตานนท์
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.กานต์ วงศ์ศุภสวัสดิ์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกระบวนการประกอบอาหารโดยกระบวนการนึ่งและการต้มต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกะหล่ำปลี แคร้รอต มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่ ผลการวิจัยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของผักสดอยู่ในช่วง 158.68 ± 2.90 ถึง 650.50 ± 7.99 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง หลังจากผ่านกระบวนการนึ่ง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของกะหล่ำปลี แคร้รอต และหอมหัวใหญ่มีปริมาณลดลงอยู่ในช่วงตั้งแต่ 149.37 ± 2.69 ถึง 610.93 ± 6.88 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง สำหรับผักที่ผ่านกระบวนการต้ม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดนั้นมีปริมาณลดลงอยู่ในช่วง 89.96 ± 2.46 ถึง 432.50 ± 10.36 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ในทางกลับกัน มะเขือเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 242.58 ± 3.84 เป็น 295.49 ± 2.22 และ 309.59 ± 4.97 ไมโครกรัมคาทีชินต่อกรัมตัวอย่าง หลังกระบวนการนึ่งและต้มตามลำดับ ผลการวิจัยปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของผักสดมีปริมาณตั้งแต่ 10.08 ± 0.53 ถึง 17.80 ± 0.69 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง และมีปริมาณลดลงเช่นกัน ทั้งหลังการนึ่ง (8.76 ± 0.47 ถึง 18.43 ± 0.48 ไมโครกรัมคาทีชินต่อกรัมตัวอย่าง) และหลังการต้ม (4.27 ± 0.53 ถึง 20.66 ± 0.55 ไมโครกรัมคาทีชินต่อกรัมตัวอย่าง) มะเขือเทศนั้นมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจาก 17.80 ± 0.69 ไมโครกรัมคาทีชินต่อกรัมตัวอย่าง

เป็น 18.43 ± 0.48 20.66 ± 0.55 ไมโครกรัมคาทีซินต่อกรัมตัวอย่าง หลังผ่านกระบวนการนึ่งและการต้มตามลำดับ อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักทุกชนิดลดลงอย่างมากหลังจากผ่านกระบวนการนึ่งและการต้ม จากช่วง 332.39 ± 7.49 ถึง $1,585.24 \pm 86.06$ ไมโครโมลโทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างลดลงถึงช่วง 330.16 ± 10.91 ถึง $1,425.12 \pm 47.06$ ไมโครโมลโทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างหลังผ่านกระบวนการนึ่งและช่วง 254.04 ± 15.69 ถึง 764.66 ± 61.09 ไมโครโมลโทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างหลังผ่านกระบวนการต้มสรุปได้ว่ากระบวนการนึ่งและการต้มมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของกะหล่ำปลี แครอท มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ, กะหล่ำปลี, แครอท, มะเขือเทศ, หอมหัวใหญ่



Independent Study Title	Study on Phenolic and Flavonoid Antioxidant Content and Activities of Fresh Cabbage, Carrot, Tomato, and Onion Comparing to Steaming and Boiling
Author	Jidapa Wimuktanon
Degree	Master of Science (Anti-Aging and Regenerative Science)
Advisor	Karnt Wongsuphasawat, Ph. D.

ABSTRACT

This study aimed to study the effects of steaming and boiling methods on total phenolics, total flavonoids and antioxidant activity of cabbage, tomato, onion, and carrot. The results showed that the total phenolic content of the fresh vegetables ranged from 158.68 ± 2.90 to 650.50 ± 7.99 $\mu\text{g GAE/g}$. After the steaming process, the total phenolic contents of cabbage, onion, and carrot were reduced ranging from 149.37 ± 2.69 to 610.93 ± 6.88 $\mu\text{g GAE/g}$. For after boiling, total phenolic contents were also reduced in the range of 89.96 ± 2.46 to 432.50 ± 10.36 $\mu\text{g GAE/g}$. In contrast, the total phenolic content of the tomato increased from 242.58 ± 3.84 to 295.49 ± 2.22 and 309.59 ± 4.97 $\mu\text{g GAE/g}$ after the steaming and boiling process, respectively. The total flavonoid content of fresh vegetables ranging from 10.08 ± 0.53 to 17.80 ± 0.69 $\mu\text{g CE/g}$ was also reduced. by both after steaming, (8.76 ± 0.47 to 18.43 ± 0.48 $\mu\text{g CE/g}$), and after boiling, (4.27 ± 0.53 to 20.66 ± 0.55 $\mu\text{g CE/g}$). An increase of total flavonoid content was obviously observed from 17.80 ± 0.69 $\mu\text{g CE/g}$ to 18.43 ± 0.48 20.66 ± 0.55 $\mu\text{g CE/g}$ after the steaming and boiling process, respectively. However, the antioxidant activity of all vegetables was significantly reduced after passing the process of steaming and boiling fresh 332.39 ± 7.49 to $1,585.24 \pm 86.06$ μM

Trolox/g compared to 330.16 ± 10.91 μM Trolox/g to $1,425.12 \pm 47.06$ μM Trolox/g after steaming and 254.04 ± 15.69 to 764.66 ± 61.09 μM Trolox/g after boiling. It can be concluded that the steaming and boiling process had significant influences on the phenolic content and antioxidant capacity of cabbage, tomato, onion, and carrot.

Keywords: Phenolic, Flavonoids, Antioxidant, Cabbage, Tomato, Onion, Carrot



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ภูมิหลัง	1
1.2 ความสำคัญของปัญหา	2
1.3 วัตถุประสงค์ของวิจัย (Research Objective)	3
1.4 สมมุติฐานของวิจัย (Research Hypothesis)	3
1.5 กรอบแนวคิด (Conceptual Framework)	3
1.6 นิยามศัพท์เชิงปฏิบัติการ	4
2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	7
2.1 สารอนุมูลอิสระ (Free Radical)	7
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	11
2.3 พืชผักและผลไม้	16
2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Compound; TPC)	19
2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid Content; TFC)	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
2.6 การตรวจวัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	20
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
3 ระเบียบวิธีวิจัย	25
3.1 รูปแบบของการวิจัย	25
3.2 การเตรียมตัวอย่าง	26
3.3 การสกัดตัวอย่าง	26
3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ	26
3.5 การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	27
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	28
4 ผลการวิจัย	29
4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC)	29
4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC)	31
4.3 การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	33
5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	35
5.1 สรุป	35
5.2 ข้อเสนอแนะ	37
รายการอ้างอิง	39
ภาคผนวก	47
ประวัติผู้เขียน	50

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 ลักษณะการเป็น radical ของโมเลกุล	8
4.1 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในแต่ละกระบวนการปรุงของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด	30
4.2 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด	30
4.3 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ในแต่ละกระบวนการปรุงของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด	32
4.4 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด	32
4.5 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในแต่ละกระบวนการปรุงของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด	33
4.6 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างผัก ทั้ง 4 ชนิด	34

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย	3
2.1 โรคที่สัมพันธ์กับอนุมูลอิสระ	10
2.2 แอสคอร์เบต และรีดิวซ์กลูตาไธโอน (GSH) ทำหน้าที่รักษาและคืนสภาพรีดอกซ์ของ วิตามินอี (Alpha-tocopherol) ที่ถูกออกซิไดซ์แล้วให้สามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้อีก	13
2.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของผักแต่ละชนิด ที่ผ่านกระบวนการความร้อนต่าง ๆ	22

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ภูมิหลัง

ในปัจจุบัน สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป มลพิษที่มากขึ้น เวลาที่จำกัด การทำงานที่เร่งรีบ ล้วนส่งผลต่อพฤติกรรมการบริโภคของคนในสังคมปัจจุบัน การเลือกรับประทานอาหารเป็นอีกหนึ่งสิ่งที่สำคัญสำหรับสังคมปัจจุบันในการเลือกใช้ชีวิต และอีกทั้งปัจจุบันสังคมประเทศไทยนั้นย่างเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ เป้าหมายในเรื่องการจะมีอายุยืนยาวอย่างมีคุณภาพได้นั้นล้วนเป็นเป้าหมายอันดับต้นๆ ของผู้คนในสังคม ดังนั้นผู้บริโภคจึงเลือกที่จะแสวงหาความรู้เรื่องการรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ ในเมนูต่างๆ เพื่อนำความรู้นั้นมาปฏิบัติเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อสุขภาพร่างกาย จึงจะนำมาซึ่งการมีชีวิตที่ยืนยาวอย่างมีคุณภาพต่อไป

ผักนั้นเป็นอาหารที่มีความสำคัญต่อร่างกาย เป็นทั้งแหล่งวิตามินและอุดมด้วยสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายอย่างมาก ผู้บริโภคบางท่านนั้นมีความรู้และให้ความสำคัญกับการชะลอวัย ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ามีหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง และหนึ่งในปัจจัยนั้นคือ การบริโภคผัก ทั้งผักสดและผักที่ผ่านความร้อนในการปรุงอาหาร จนบางครั้งมีคำถามจากผู้บริโภคเหล่านั้นว่าหากต้องการบริโภคผักให้ได้ประโยชน์สูงสุดในเชิงสารต้านอนุมูลอิสระที่จะรับเข้าสู่ร่างกายจากภายนอกนั้น ผักแบบใดที่ดีและกรรมวิธีการปรุงอาหารแบบใดน่าจะเหมาะสมที่สุด ทั้งปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง ๆ หรือ กรรมวิธีการปรุงอาหารโดยใช้ความร้อนหรือไม่ใช้ความร้อน จะทำให้ได้รับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงๆ หรือมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เท่าที่จะทำได้

พืชผักและผลไม้ที่นิยมรับประทานในชีวิตประจำวันนั้น ล้วนอุดมด้วยวิตามินและสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายต่างๆ ซึ่งเป็นผักนั้นเป็นแหล่งที่สามารถได้รับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดที่ได้รับจากภายนอกร่างกาย ชนิดต่าง ทั้งชนิดวิตามินต่างๆ เช่น วิตามินอี (Vitamin E), วิตามินซี (Vitamin C) เบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) (Buettner, 1993; Halliwell, 1999c) และยังรวมถึงที่ไม่ใช่วิตามินเช่น สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารกลุ่มแอลฟาไลโปอิกแอซิด (alpha-lipoic acid) สารกลุ่มไธออล (thiol compounds) สารกลุ่ม

เมลาโท닌 (melatonin) และสารกลุ่มโคเอนไซม์คิว 10 (Coenzyme Q10) เป็นต้น (สุพัตรา ปรศุพัฒนา และคณะ, 2555)

สารอนุมูลอิสระ (Free radical) คือ โมเลกุลของธาตุที่ไม่มั่นคงเนื่องจากขาดอิเล็กตรอนไป 1 ตัว จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรแต่จะว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ซึ่งพบว่าทำให้เกิด พยาธิสภาพต่าง ๆ กับร่างกาย ถ้าร่างกายมีการสะสมของอนุมูลอิสระมากขึ้นนั้น ก็จะเกิดสภาวะที่เรียกว่า Oxidative Stress (Rahman, 2007; Khavinson et al., 2003) ซึ่งส่งผล ทำให้ส่วนต่าง ๆ ของร่างกายเกิดสภาวะที่เรียกว่า การเสื่อมถอย (Degeneration) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ มากมาย เช่น การเกิดโรคมะเร็งชนิดต่างๆ (Shimazu et al., 2005; Wilson et al., 2011) การเกิดสภาวะอ้วน, โรคเบาหวาน, โรคหัวใจและหลอดเลือด หรือโรคทางสมอง เช่น ปัญหาด้านความจำ ความจำเสื่อม หรือ สมองเสื่อม (Eskelinen & Kivipelto, 2010)

1.2 ความสำคัญของปัญหา

เนื่องจากในปัจจุบัน พืชผักหลายชนิด นิยมนำมารับประทานในหลายรูปแบบทั้งรับประทานสด การต้ม การนึ่ง และอื่น ๆ พืชผักเหล่านี้มีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ต้านการเกิดOxidative stress ส่งผลให้สามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น โรคความเสื่อมทางด้านสมอง โรคระบบหัวใจ โรคที่เกี่ยวข้องกับระบบหลอดเลือด หรือแม้แต่โรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ เป็นต้น แต่การรับประทานผักสดหรือผักที่ผ่านกระบวนการประกอบอาหารโดยใช้ความร้อน เช่น การต้ม หรือการนึ่ง วิธีนี้จะทำให้ได้รับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด นำมาซึ่งความสนใจในการทำวิจัยเกี่ยวกับปริมาณและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระในผักที่สามารถเลือกบริโภคได้ทั้ง ผักสด และผักที่นำไปประกอบอาหารและปรุงสุกด้วยความร้อน จึงเลือกผักดังต่อไปนี้ มะเขือเทศ แคร้รอต หอมหัวใหญ่ และกะหล่ำปลี เพื่อหาคำตอบที่ว่าระหว่างการรับประทานผักสดและผักที่ผ่านกระบวนการปรุงอาหารโดยใช้ความร้อนเช่นการนึ่งและการต้ม นั้น ในการเลือกรับประทานผักดังกล่าว ผักแบบใดจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และอีกทั้งยังดูความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างไร ซึ่งอาจจะนำมาซึ่งข้อมูลแต่ผู้บริโภคในการเลือกชนิดและกระบวนการปรุงอาหารในการบริโภคผักเหล่านั้นต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์ของวิจัย (Research Objective)

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในผัก 4 ชนิด ได้แก่ กะหล่ำปลี แครร์รอต มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่ ก่อนและหลังการผ่านกระบวนการให้ความร้อนโดยการนึ่งและการต้ม

1.4 สมมุติฐานของวิจัย (Research Hypothesis)

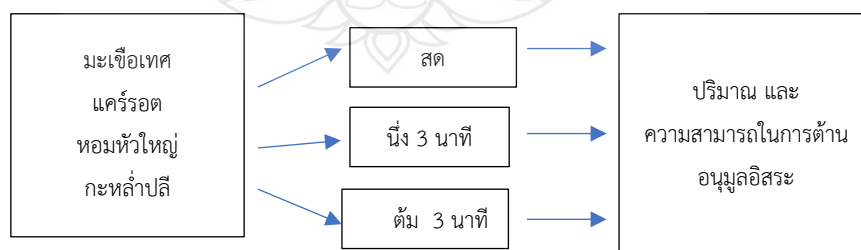
1.4.1 กะหล่ำปลี สด นึ่ง ต้ม มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระวัดจากปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แตกต่างกัน

1.4.2 มะเขือเทศ สด นึ่ง ต้ม มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระวัดจากปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แตกต่างกัน

1.4.3 แครร์รอต สด นึ่ง ต้ม มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระวัดจากปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แตกต่างกัน

1.4.4 หอมหัวใหญ่ สด นึ่ง ต้ม มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระวัดจากปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แตกต่างกัน

1.5 กรอบแนวคิด (Conceptual Framework)



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย

1.6 นิยามศัพท์เชิงปฏิบัติการ

1.6.1 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

เป็นสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอะตอม หรือโมเลกุลที่เป็นอนุมูลอิสระรวมถึงสารอื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ต้าน หรือยับยั้ง หรือควบคุมสารต้านอนุมูลอิสระไม่ให้เกิดกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งจะช่วยต้านหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการออกซิเดชันได้

1.6.1.1 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถวัดได้จาก

1. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compound; TPC) สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่สามารถพบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและใช้ในการป้องกันตัวเองจากผู้บุกรุก ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน เช่น จินเจอรอล (gingerol) ในขิง, ยูจีนอล (eugenol) ในกานพลู ตะไคร้ ใบกระเพรา, แคปไซซิน (capsaicin) ในพริก, เคอร์คิวมิน (curcumin) ในขมิ้น, แคทีชิน (catechin) ในชา รวมไปถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์อย่าง ลิกนิน (lignin) ซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของเบนซีน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสามารถใช้สาร Folin-Ciocalteu โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และรีดักชัน (reduction) (Bozin et al., 2008)

2. การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content; TFC) สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารเมตาบอไลต์ขั้นทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ต่าง ๆ โดยทำหน้าที่เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวโอเลต และการช่วยตรึงไนโตรเจน สารฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่จับอยู่กับน้ำตาลในรูปเบต้าไกลโคไซด์ (β -glycosides) โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C6 - C3 - C6) จัดเรียงเป็น 3 วง ประกอบด้วยวงเบนซีน (benzene ring) 2 วง และ Heterocyclic pyran ring ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง 1 วง การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถวัดจากการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้สารคาเทชิน (catechin) เทียบเป็นสารมาตรฐาน (Zhishen et al., 1999)

1.6.1.2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสามารถวัดได้จาก การวิเคราะห์ค่าความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ ทำได้จาก การตรวจวัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นการตรวจวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สะดวก ง่ายต่อการวิเคราะห์ และให้ความถูกต้องแม่นยำสูง จึงได้รับความนิยมสูงในการนำมาทดลองเพื่อตรวจสอบหรือวัดระดับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต่าง ๆ

คุณสมบัติของสาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นสารประกอบเคมีอินทรีย์ (organic chemical compound) ที่เป็นสารอนุมูลอิสระซึ่งมีความคงตัว (stable free radical) เมื่ออยู่ในรูปของสารละลายเอทานอลจะได้เป็นสารสีม่วง ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-520 nm เมื่อนำสารที่ต้องการทดสอบมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH สีของสารละลาย DPPH จะจางลงหรือไม่มีสี หรือสีเหลือง ตามค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายนั้นๆ ผลลัพธ์ที่ได้จะสามารถนำเสนอได้หลายรูปแบบ ซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้จะนำเสนอในหน่วยไมโครโมลาร์ไทรอลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ($\mu\text{M TE/g sample}$) โดยใช้ไทรอลอกซ์ (trolox) เป็นสารละลายมาตรฐาน (Loganayaki et al., 2013; สำราญ และคณะ, 2558)

1.6.2 แหล่งที่มาของผักที่นำมาทำงานวิจัยนี้

1.6.2.1 มูลนิธิโครงการหลวง

เป็นโครงการส่วนพระองค์ในพระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดช ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อวิจัยและพัฒนาองค์ความรู้ที่เหมาะสมต่อสภาพภูมิสังคมบนพื้นที่สูงเพื่อพัฒนาชุมชนบนพื้นที่สูงให้มีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้นและพึ่งพาตนเองได้เพื่อส่งเสริม ฟื้นฟู และอนุรักษ์สภาพแวดล้อมให้มีความสมบูรณ์เพื่อส่งเสริมและพัฒนา ผักที่จัดจำหน่าย โดยมูลนิธิโครงการหลวงนั้นจะเป็นผักปลอดสารพิษ ซึ่งผักผลไม้ที่จำหน่ายจะเป็น ผักผลไม้เมืองหนาว ซึ่งสามารถซื้อได้จากงานขายของโครงการหลวงทั้งกรุงเทพและเชียงใหม่

1.6.2.2 งานขายกรุงเทพ

50 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร. 02-579-4747

1.6.3 กระบวนการใช้ความร้อนในการประกอบอาหาร

1.6.3.1 การนึ่ง (steaming) คือ วิธีการทำอาหารให้สุกด้วยการใช้ความร้อนจากไอน้ำร้อน ที่ได้จากการต้มน้ำให้เดือดโดยการนำน้ำใส่ในภาชนะสำหรับนึ่ง หรือ หม้อนึ่งที่มี 2 ชั้น โดยจะใส่น้ำลงในภาชนะชั้นล่างสุด จากนั้น นำผักใส่ในภาชนะชั้นบน หรือชั้นบนของซึ่งนึ่ง ซึ่งฐานของซึ่งนึ่งจะมีรูให้ไอน้ำ สามารถขึ้นมาได้ จากนั้นก็ปิดฝา ให้ความร้อนจน อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส น้ำจะเริ่มเดือดน้ำจะระเหยกลายเป็น ไอน้ำ ความร้อนจากไอน้ำจะถูกถ่ายเท ไปยังผิวหน้าของผักหรืออาหาร ด้วยวิธีการพาความร้อน และเข้าสู่ภายในของชิ้นอาหารด้วยการนำความร้อน แล้วทิ้งอาหารไว้ตามเวลาที่กำหนด เช่น 3 นาที เป็นต้น

1.6.3.2 การต้ม (boiling) คือ วิธีการทำอาหารให้สุกด้วยการใช้ความร้อนจากการต้มน้ำให้เดือด โดยอุณหภูมิน้ำเดือด ที่ 100 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำอาหารหรือผักใส่ลงไปลงในน้ำเดือดแล้วทิ้งค้างไว้ตามเวลาที่กำหนด เช่น 3 นาที เป็นต้น



บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารอนุมูลอิสระ (Free Radical)

2.1.1 สารอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มี อิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ (unpaired electron) อย่างน้อย 1 electron จะเกิดขึ้นเมื่อเกิดการแตกออกของพันธะระหว่างอะตอม อนุมูลอิสระที่ไม่มีคู่นั้นจะไม่เสถียรและมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลหรืออะตอมที่อยู่ใกล้เคียง อะตอมนั้นจะพยายามทำให้อยู่ในภาวะสมดุลหรือเสถียร จึงไปดึงอิเล็กตรอนของอะตอมหรือโมเลกุลใกล้เคียงมา ส่งผลให้โมเลกุลที่อยู่ใกล้เคียงนั้น ขาดอิเล็กตรอน กลายเป็น unpair electron นั่นคือการกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ ซึ่งจะทำเช่นเดียวกับอนุมูลอิสระตัวเก่า นั่นคือการไปดึงอิเล็กตรอนจากอะตอมหรือโมเลกุลใกล้เคียงจนกลายเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) (Rahman, 2007)

ความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกาย เรียกว่า Reactive species (RS) มีทั้ง reactive oxygen species (ROS) , reactive chlorine species และ reactive nitrogen species มีทั้งที่เป็น free radical และ non-radical แต่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา oxidation เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ก็ถูกจัดเป็น RS เช่นเดียวกัน ตารางที่ 2.1 RS จะถูกแบ่งตามโมเลกุลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา Oxidation และ ลักษณะการเป็น Radical ของโมเลกุล

ตารางที่ 2.1 ลักษณะการเป็น radical ของโมเลกุล

Free radicals	Formula	Non-radicals	Formula
Reactive oxygen species			
Oxygen radical	O_2^*	Singlet oxygen	$^1O_2^*$
Superoxide radical	O_2^*	Hydrogen peroxide	H_2O_2
Hydroxy radical	HO^*	Ozone	O_3
Hydroperoxyl radical	HO_2^*	Organic peroxide	$ROOH$
Peroxy radical	RO_2^*		
Alkoxy radical	RO^*		
Carbonate radical	CO_3^*		
Reactive chlorine species			
Chlorine radical	Cl^*	Hypochloric acid	$HOCl$
		Nitryl chloride	NO_2Cl
		Chlorine gas	Cl_2
Reactive nitrogen species			
Nitric oxide radical	NO^*	Nitric oxide	HNO_2
Nitrogen dioxide radical	NO_2^*	Peroxynitrite	$ONOO$
		Peroxynitrous acid	$ONOOH$
		Nitryl chloride	$NOOCl$

ที่มา Lockwood (2007)

การเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่เกิดจากอะตอมที่ไม่เสถียรมีการดึงอิเล็กตรอนจากอะตอมหรือโมเลกุลอื่นใกล้เคียงมาเติมให้ตนนั้นสมดุล หรือครบคู่ เป็นกระบวนการทางเคมีซึ่งเรียกว่าออกซิเดชัน (oxidation) โดยปกติแล้วจะมีการออกซิเดชันในปริมาณที่เหมาะสม ตามกลไกปกติของร่างกาย แต่ในภาวะการปัจจุบันการดำรงชีวิตนั้นยากแก่การหลีกเลี่ยงต่อมลพิษหรือ สารพิษต่าง ๆ ดังนั้นจึงเป็นอีกหนึ่งสาเหตุของจำนวนอนุมูลอิสระที่มากเกินไป ส่งผลกระทบต่อความสมดุลของร่างกาย ภาวะความไม่สมดุลของระบบอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นส่งผลต่อส่วนประกอบของเซลล์ สร้างความเสียหายต่อเซลล์ ต่อเนื่องไปถึงอวัยวะต่างๆของร่างกาย เป็นสาเหตุของโรคมากมายหลากหลายชนิด

เช่น โรคในระบบหัวใจ โรคหลอดเลือดสมอง หรือ แม้แต่โรคมะเร็ง เป็นต้น (Halliwell, 1999a; รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย, 2555)

2.1.2 ภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress)

ภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากเกินไปหรือมีปริมาณของอนุมูลอิสระมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ จนเกิดกระบวนการออกซิเดชันที่มากเกินไป ซึ่งเรียกว่าภาวะเครียดออกซิเดชัน สร้างความเสียหายกับโมเลกุลของสารองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ (Halliwell, 1999b; Menshchikova et al., 2008; วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, 2555)

การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลไขมัน หรือ ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation) สามารถเกิดขึ้นได้ภายในเซลล์ หรือส่วนประกอบต่างๆของเซลล์ ซึ่งมักพบความเสียหายในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ โดยมักก่อให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลของคอเลสเตอรอลและไขมันที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ จึงส่งผลทำให้ส่วนเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีคุณสมบัติคล้ายของเหลว และมักสร้างความเสียหายต่อเยื่อเลือกผ่านเอนไซม์ทรานส์เมมเบรน ตัวรับ ตัวขนส่ง และโปรตีนอื่น ๆ บนเยื่อหุ้มเซลล์ นั้นให้สูญเสียไป เป็นสาเหตุของการสูญเสียความสามารถในการรักษาความสมดุลของเซลล์ และสูญเสียความสามารถในการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ (Rubbo et al., 1994; Meral et al., 2000; วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, 2555)

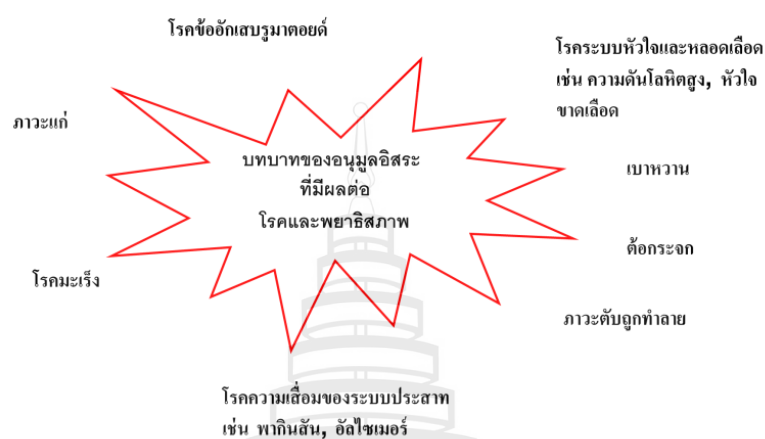
การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลโปรตีน โปรตีนเป็นส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ เอนไซม์และโครงสร้างต่าง ๆ ภายในเซลล์ ถึงขั้นเพิ่มการแตกหักของโครงสร้าง หรือสลายโครงสร้างของโปรตีนในทุกอวัยวะหรือเนื้อเยื่อ

การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลดีเอ็นเอ สร้างความเสียหายให้กับดีเอ็นเอโดยตรง ทำลายสมดุลการปรับเปลี่ยนเบสของดีเอ็นเอ ทั้งที่เป็นสายเดี่ยวและสายคู่จะเกิดการแตกหัก เช่น การสูญเสียพิวรีน ก่อให้เกิดความเสียหายต่อน้ำตาลดีออกซีไรโบส ทำลายระบบซ่อมแซมตัวเองของดีเอ็นเอ เป็นต้น

ในภาวะปกติของเซลล์ จะมีความสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน และสารต้านอนุมูลอิสระ แต่หากเกิดภาวะไม่สมดุลแล้ว จะเกิดภาวะ Oxidative stress ขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เซลล์เกิดความเสียหายและส่งผลต่อการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (apoptosis) และสุดท้ายอาจจะทำให้เกิดการตายของเนื้อ (necrosis) ตามมาได้

ภาวะ Oxidative Stress เป็นสาเหตุของโรคความเสื่อมต่าง ๆ เช่น โรคระบบหัวใจและหลอดเลือดเช่น ภาวะความดันโลหิตผิดปกติ, ภาวะหัวใจขาดเลือด, ภาวะความดันโลหิตผิดปกติ หรือแม้แต่โรคทางระบบประสาทเสื่อมถดถอย เช่น โรคพาร์กินสัน, โรคอัลไซเมอร์, โรคทางด้านการควบคุมกล้ามเนื้อของร่างกายผิดปกติ เช่นกลุ่มโรคคอโธอิซึมมูท ทั้งหลาย ได้แก่ โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ และ

โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคมะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ มะเร็งเต้านมและอื่น ๆ โรคเบาหวาน, โรคตับที่มีสาเหตุจากการดื่มสุรา และโรคตับที่เกิดจากไวรัสตับอักเสบ ซี เป็นต้น (Halliwell et al., 1999c; วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, 2555) ดังภาพที่ 2.1



ที่มา Phaniendra et al. (2015)

ภาพที่ 2.1 โรคที่สัมพันธ์กับอนุมูลอิสระ

2.1.3 แหล่งที่มาของอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระเกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย รวมถึงจากมลพิษต่าง ๆ จากสภาพแวดล้อมรอบตัวเรา ส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปสารประกอบออกซิเจน เช่น อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide) อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) อนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์ (peroxide radical) อนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (peroxyl radical) และซิงเกิลทออกซิเจน (singlet oxygen) เป็นต้น นอกจากนี้คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (carbon tetrachloride) ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงเป็นคาร์บอนไตรคลอไรด์ (carbon trichloride) มีผลทำลายเซลล์ตับ การได้รับยาเคมีบำบัด ในการรักษาโรคมะเร็งนั้นอาจมีผลเป็นพิษต่อหัวใจเช่นการได้รับยา อะเดรียมายซินในการรักษามะเร็ง การสัมผัสยาฆ่าวัชพืช เช่นการได้รับพาราควอตจะทำให้เกิดภาวะการไขว่กันของโปรตีนในปอดหรือที่เรียกว่า โปรตีนครอสลิงค์ (cross-link protein) ทำให้เกิดพังผืดในเนื้อเยื่อปอดทำให้ปอดเสียหายส่งผลต่อการทำงานของปอดนั้นลดต่ำลง เป็นต้น (รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย, 2555)

แหล่งที่มาอื่นๆ ของสารอนุมูลอิสระ ในสภาพแวดล้อมรอบตัวเราเช่น คาร์บอนหรี แอลกอฮอล์ อาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูป (process food) เช่น ไขมันทอด อาหารหมัก อาหารปิ้งย่าง น้ำมันที่ผ่านกระบวนการทอด ซ้ำหลายครั้ง นอกจากนี้ แสงแดดและรังสี ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลต่อผิวหนังของเรา อันเนื่องมาจาก โปรตีนใต้ชั้นผิวหนังที่ถูกกระตุ้นจากแสงแดด และรังสี ก่อให้เกิด collagen cross link และส่งผลให้เกิดริ้วรอย เหี่ยวย่น ความหยวบกร้านของผิว (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2555)

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

2.2.1 การกำจัดอนุมูลอิสระ

การกำจัดอนุมูลอิสระเกิดได้จากกระบวนการของร่างกายและจากสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอก เช่น การรับประทานอาหาร หรือ การรับทางหลอดเลือดดำ มีการศึกษาในอดีต พบว่า พันธุกรรม ของแต่ละบุคคล มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ในขณะที่การดำรงชีวิตของมนุษย์ในปัจจุบันต้องประสบกับ สารพิษ มลพิษ มลภาวะ ต่าง ๆ ส่งผลให้กระบวนการของร่างกายในการต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างในร่างกายนั้นไม่เพียงพอ (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2555)

2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระนั้นคือ อะตอมหรือโมเลกุลที่ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ อะตอมหรือโมเลกุลที่เป็นอนุมูลอิสระ รวมถึงสารอื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ต้านหรือยับยั้ง อนุมูลอิสระไม่ให้เกิดกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งจะช่วยให้ต้านหรือป้องกัน หรือหยุดยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกระบวนการออกซิเดชันได้ สามารถพบได้ทั้งจากการสร้างขึ้นเองของร่างกายและจากภายนอก ร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นเองในร่างกายมักจะเป็นการต้านอนุมูลอิสระประเภทเอนไซม์ต่างๆ ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้จากภายนอกร่างกาย ซึ่งเป็นสารจากธรรมชาติ เช่น กรดอะมิโน (amino acid) กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) แทนนิน (tannin) และ โทโคฟีรอล (tocopherol) เป็นต้น (Menshchikova et al., 2008; วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, 2555; ศุภชัย เจริญสิน และไมตรี สุทธิจิตต์, 2555; สุพัตรา ปรศุพัฒนา และคณะ, 2555)

2.2.2.1 สารต้านอนุมูลอิสระประเภทเอนไซม์ที่พบในร่างกาย

ทำหน้าที่ทำลายอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างภายในเซลล์ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญมี 3 ชนิด ใหญ่ ๆ ได้แก่ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase, SOD)

เอนไซม์คาตาเลส (Catalase, CAT) และเอนไซม์กลูตาไรโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase, GPX) (Sies, 1993; Kruidenier & Verspaget, 2002)

1. เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase, SOD)

ทำหน้าที่ยับยั้งกระบวนการของสารตั้งต้นในการสร้างอนุมูลอิสระ โดยการเปลี่ยนอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide) ให้ไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ด้านพิษจากออกซิเจน (oxygen toxicity) ช่วยลดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ หากเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส บกพร่องในการทำหน้าที่นี้จะทำให้เกิดการออกซิเดชันของอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (cellular oxidative toxicity) (Kruidenier & Verspaget, 2002; Matés & Sánchez-Jiménez, 1999; วรพล เองวานิช, 2555)

2. เอนไซม์คาตาเลส (Catalase, CAT)

เป็นอีกหนึ่งเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ยับยั้งสารอนุมูลอิสระ โดยทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ด้วยการคาตาลิสต์ (catalyst) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ให้ไปอยู่ในรูปของน้ำและออกซิเจน (Wu & Cederbaum, 2003; Malés และ Matés & Sánchez-Jiménez, 1999; วรพล เองวานิช, 2555) เอนไซม์คาตาเลสมีประสิทธิภาพในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในภาวะเฉียบพลัน (Acute) หรือในสภาวะที่ร่างกายเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันอย่างรุนแรง (severe oxidative stress) (Matés & Sánchez-Jiménez, 1999)

3. เอนไซม์กลูตาไรโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase, GPX)

เป็นศูนย์กลางที่กำจัดพิษซึ่งเกิดจากเปอร์ออกไซด์ (peroxide) (Malés & Sánchez-Jiménez 1999) เอนไซม์กลูตาไรโอนเปอร์ออกซิเดสสามารถป้องกันการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยการทำลายลิปิดเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (วรพล เองวานิช, 2555) และยังพบว่าเอนไซม์กลูตาไรโอนเปอร์ออกซิเดสทำหน้าที่เป็นด่านแรกที่กำลังจัดไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ โดยจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ และต่อเนื่อง ซึ่งแตกต่างจากเอนไซม์คาตาเลส (Kruidenier & Verspaget, 2002)

2.2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มวิตามินที่มักพบในอาหาร

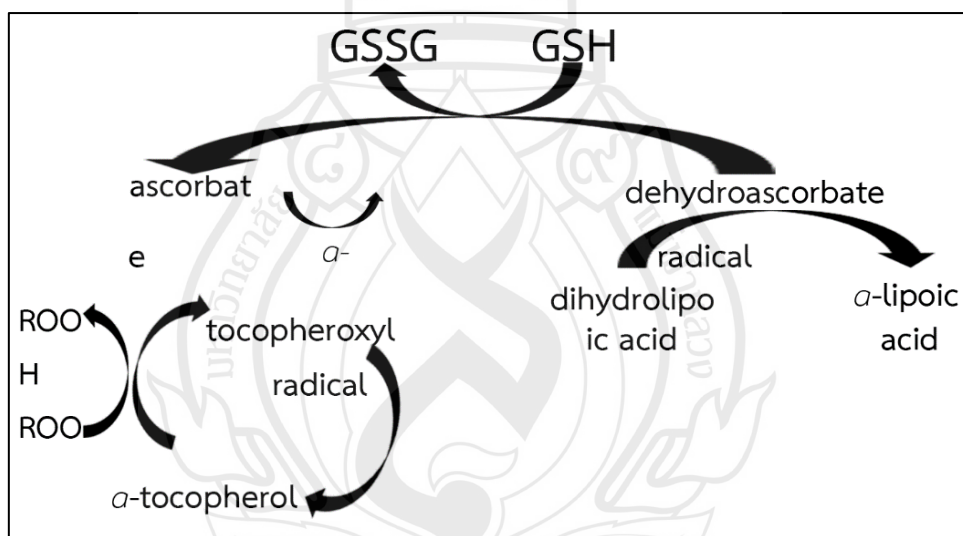
พืชผักและผลไม้ที่นิยมรับประทานในชีวิตประจำวันนั้นเป็นแหล่งสารอาหารที่ประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ ได้แก่ โกลโคปีน วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน โดยการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวิตามินนั้นจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox reaction) ซึ่งคือการถ่ายโอนอิเล็กตรอนให้แก่อนุมูลอิสระ เพื่อหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

1. วิตามินซี (Ascorbic Acid)

เป็นสารที่อยู่ในรูปของแอสคอร์เบต (ascorbate) หรือกรดแอสคอร์บิก มีความสามารถในการละลายน้ำได้เป็นอย่างดี เป็นสารอนุมูลอิสระที่ออกฤทธิ์ต้านการออกซิเดชันในส่วนที่อยู่ระหว่าง

เซลล์ (intercellular fluid) และภายในเซลล์ (cytosol) (Buettner & Jurkiewicz, 1996; England & Secifiter, 1986) สามารถทำปฏิกิริยาโดยให้อิเล็กตรอนกับสารออกซิแดนท์ (oxidants) ที่เป็นอนุมูลอิสระ เช่น ซิงเกิลทออกซิเจน (singlet oxygen) อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) และอนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์ (peroxide radical) เป็นต้น (Buettner, 1993; Halliwell, 1999c)

นอกจากนี้วิตามินซียังเป็นสารสำคัญที่สามารถช่วยคืนสภาพให้แก่วิตามินอีได้ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่า Vitamin E recycling ดังแสดงในภาพที่ 2.3 หลังจากทีวิตามินอี ได้ทำปฏิกิริยาโดยรีดิวซ์ (Reduce) กับอนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์จะเกิดเป็น Alpha-tocopheroxyl radical จากนั้นวิตามินซีที่อยู่ในรูปของแอสคอร์เบตจะรีดิวซ์ Alpha-tocopheroxyl radical ให้กลายเป็น Alpha-tocopherol ซึ่งเป็นวิตามินอีประเภทหนึ่ง ทำให้สามารถนำวิตามินอีกลับมาใช้งานได้อีกครั้งหนึ่ง (Neuzil et al., 1997) ส่วน Dehydroascorbate ที่เป็นตัวแอสคอร์เบตที่ผ่านการรีดิวซ์ไปแล้วนั้นก็สามารถเปลี่ยนกลับมาเป็นแอสคอร์เบตได้อีกครั้ง



ที่มา วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์ (2555)

ภาพที่ 2.2 แอสคอร์เบต และรีดิวซ์กลูตาไธโอน (GSH) ทำหน้าที่รักษาและคืนสภาพรีดอกซ์ของวิตามินอี (Alpha-tocopherol) ที่ถูกออกซิไดซ์แล้วให้สามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้อีก

2. วิตามินอี (Tocopherol)

เป็นชื่อเรียกกลุ่มสารโทโคเฟอรอล (tocopherol) และ โทโคไตรเอนอล (tocotrienol) วิตามินอีมีคุณสมบัติละลายในไขมัน มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวเคมีของร่างกายโดยเฉพาะคุณสมบัติด้านการต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์ และป้องกันการออกซิไดซ์ไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (Low-density lipoprotein (LDL) oxidation) โดยสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้หลากหลายชนิด เช่น Singlet oxygen, Alkoxyl radical, Peroxynitrite, Nitrogen dioxide radical และ Ozone เป็นต้น

พบว่าวิตามินอีสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระชนิด Superoxide ได้ (Bielski & Cabelli, 1991) และเกี่ยวข้องกับการจับกับ Lipid peroxy radical เพื่อป้องกันลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยการทำหน้าที่เป็น Chain-breaking antioxidant นอกจากนี้ Alpha-tocopherol ที่เป็นองค์ประกอบของ LDL สามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันภายใน LDL ได้ ซึ่งช่วยลดสาเหตุการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งและตีบตัน

3. เบต้า-แคโรทีน (Beta-carotene)

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในพืชผักผลไม้ชนิดที่มีสีส้ม-แดง ได้แก่ แคโรทีนอยด์ (carotenoids) โดยจำแนกแคโรทีนอยด์ได้สองชนิด คือ แคโรทีนอยด์ที่เป็นสายไฮโดรคาร์บอน (carotenoid hydrocarbons) และแคโรทีนอยด์ที่มีอะตอมของออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (oxygenated carotenoids) กลไกการต้านอนุมูลอิสระของแคโรทีนอยด์นั้นเกี่ยวข้องกับการกำจัด Singlet oxygen และรองลงมาคือความสามารถในการจับกับ Peroxyl radical (Stahl & Sies, 1996)

4. ไลโคปีน (Lycopene)

เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารสำคัญที่พบได้ในมะเขือเทศ มะละกอ แตงโม ฝรั่ง ชมพู

2.2.2.3 สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่ไม่ใช่วิตามินที่มักพบในอาหาร

สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้มีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันออกไป และอาจนับเป็นสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่ใหญ่ที่สุด สามารถจำแนกสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้ตามลักษณะ โครงสร้าง และคุณสมบัติเฉพาะ ได้แก่ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) สารกลุ่มไธออล (thiol compounds) แอลฟาไลโปอิกแอซิด (alpha-lipoic acid) เมลาโทนิน (melatonin) และโคเอนไซม์คิว 10 (coenzyme Q10) เป็นต้น (สุพัตรา ปรศุพัฒนา และคณะ, 2555)

1. สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

เป็นสารรงควัตถุ ที่มีอยู่ในพืช (phyto pigments) ถูกสร้างขึ้นโดยเมแทบอลิซึมของพืช ส่วนใหญ่อยู่ในรูปพอลิฟีนอล (polyphenols) หรือสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) (Manach et al., 2004) มักพบในโครงสร้างที่มีน้ำตาลเกาะเรียก Glycosides ส่งผลให้สารกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ดี พบได้ทั่วไปในอาหารและเครื่องดื่มที่มีจากพืชในธรรมชาติ เช่น พืชผัก ผลไม้ ชา กาแฟ โกโก้ และไวน์ สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อย (sub-group) ได้หลายกลุ่ม ได้แก่ Flavones, Flavonones, Isoflavones, Flavanols และ Anthocyanins (สุพัตรา ปรศุพัฒนา และคณะ, 2555)

Flavones พบในแหล่งอาหารประเภทพืชผักและผลไม้ เช่น ขึ้นฉ่าย (celery) ข้าวสาลี (wheat) และในเปลือกส้ม เป็นต้น

Flavonones พบได้ในมะเขือเทศ สาระแน มะนาว และส้ม โดยเฉพาะในเยื่อขาวที่หุ้มผลส้ม และเยื่อส่วนที่หุ้มกลีบส้มที่มีปริมาณ Flavonone สูงมาก

Isoflavones เป็นฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนสามารถจับกับเอสโตรเจนรีเซพเตอร์ได้ จึงจัดเป็นสารประเภท Phytoestrogens พบมากในพืชจำพวกถั่ว (leguminous plants) โดยเฉพาะในถั่วเหลือง

Flavanols พบได้ในรูปของ Monomer เช่น Catechin ซึ่งพบได้จากผลไม้ต่าง ๆ ไวน์แดง ชาเขียว และช็อคโกแลต ส่วน Flavanols ที่พบได้ในรูปของ Polymer เช่น Proanthocyanidins เป็นต้น

Anthocyanins หรือ Anthocyanin เป็นสารเม็ดสี (pigments) ละลายในน้ำได้ดี และสลายตัวได้ด้วยความร้อน ที่พบในกระเปาะภายในเนื้อเยื่อส่วนดอกและผล อาจมีสีชมพูแดง น้ำเงิน น้ำเงินหรือสีม่วง พบได้ในไวน์แดง ธัญพืช รวมถึงพืชประเภทที่บริโภคเป็นใบหรือราก เช่น ข้าวสาลี ถั่วฝัก พักกาด หัวไชเท้า หัวหอม ในผลไม้ต่างๆ เช่น ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ (สุพัตรา ปรศุพัฒนา และคณะ, 2555)

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี เป็นสารที่กระจายตัวได้ดีทั้งในน้ำ และในไขมัน ทำให้สามารถป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการไปจับกับ Chain- initiating radicals ที่บริเวณผิวเมมเบรนได้ดีทำให้มีฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยอนุมูลอิสระได้ ช่วยยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระโดยการจับกับสารโลหะไอออน เช่น เหล็กและทองแดง โลหะทั้งสองตัวนี้เป็นธาตุที่สัมพันธ์โดยตรงกับการสร้างอนุมูลอิสระ เมื่อสารกลุ่มฟลาโวนอยด์จับกับสารโลหะ ไอออนจึงช่วยยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระได้ และยังช่วยในการยับยั้งปฏิกิริยาที่ก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันกับโมเลกุลดีเอ็นเอได้ดี เนื่องจากสารกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความเป็นไปได้ในการป้องกันมะเร็ง โดยป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นต่อดีเอ็นเอจากสารเคมีต่างๆ (Frei & Higdon, 2003)

นอกจากนี้ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ยังช่วยเพิ่มการทำงานของสารต่าง ๆ ที่ต้านสารอนุมูลอิสระ เช่น Glutathione-S-transferase (GST) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เพิ่มความต้านทานของเซลล์ต่อการทำลายโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็ง โดยเพิ่มการเร่งการทำลายสารอนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย และสามารถกระตุ้นการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับโปรตีน Nrf-2 ทำให้เร่งการออกฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระมากขึ้น (Rushworth et al., 2006)

2. สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids)

เป็นกลุ่มของสารที่มีสีเหลือง สีส้ม หรือสีแดง ซึ่งพบได้ในพืชทั่วไป รวมทั้งในสัตว์หรือแบคทีเรียบางชนิดแต่ไม่พบการสร้างในสัตว์ พืชมีการสร้างแคโรทีนอยด์ เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงสาร และป้องกันเซลล์พืชจากการถูกทำลายของแสง สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ถูกค้นพบว่ามีกว่า 600 ชนิด แต่มีเพียง 40 ชนิดเท่านั้นที่พบในพืชที่เป็นอาหารของมนุษย์ และมีประมาณ 20 ชนิด ที่พบได้ในเซลล์ในเนื้อเยื่อ และในเลือด ซึ่งกว่าร้อยละ 90 ของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่พบในอาหารและในร่างกายนั้น มักจะอยู่ในรูปของเบตาแคโรทีน ไลโคปีน ลูทีน และคริปโตแซนทิน (สุพัตรา ปรศุพัฒนา และคณะ, 2555)

แคโรทีนอยด์มีโครงสร้างขนาดใหญ่และประกอบขึ้นด้วยพันธะคู่จำนวนมาก มีคุณสมบัติเป็นไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) และละลายน้ำได้น้อยมาก เป็นสารที่มีความสำคัญต่อการเจริญและการเปลี่ยนรูปของเซลล์ สารแคโรทีนอยด์กว่า 50 ชนิด สามารถเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสร้างวิตามินเอในร่างกายได้ และสารแคโรทีนอยด์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้โดยตรง จึงเป็นอีกสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ

3. สารในกลุ่มไธออล (Thiol-containing compounds)

หมายถึงสารใด ๆ ที่มีธาตุ กำมะถัน (sulfur) เป็นสารที่มีบทบาทเป็นสารต้านการออกซิเดชัน สารกลุ่มไธออลที่สำคัญได้แก่ กลูตาไธโอน ไรโอรีดอกซิน เมทไธโอนีน ทอรีน เอ็น-อะเซทิลซิสเตอีน และเมอแคปโทไพรูโวนิลไกลลีน เป็นต้น

2.3 พืชผักและผลไม้

พืชผักและผลไม้ที่นิยมรับประทานในชีวิตประจำวันนั้น เป็นแหล่งสารอาหารที่ประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ ได้แก่ วิตามินซี (Vitamin C) วิตามินอี (Vitamin E) เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) (Buettner, 1993; Halliwell, 1999c) รวมถึง สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) สารกลุ่มไธออล (thiol compounds) แอลฟาไลโปอิกแอซิด (alpha-lipoic

acid) เมลาโทนิน (melatonin) และโคเอนไซม์คิว 10 (coenzyme Q10) เป็นต้น (สุพัตรา ปรศุพัฒนา และคณะ, 2555)

2.3.1 มะเขือเทศ (Tomato)

มะเขือเทศ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mil. อยู่ในวงศ์ Solanaceae ลักษณะทางพฤกษศาสตร์คือ เป็นไม้ล้มลุกฤดูเดียว สูงได้ถึง 2 เมตร ใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปไข่ถึงรูปขอบขนาน ขอบใบเว้าลึกดูคล้ายเป็นใบประกอบแบบขนนก ดอกช่อออกที่ซอกใบ กลีบดอกสีเหลือง เชื่อมติดกันเป็นรูปกรวย ผลสดรูปทรงกลมหรือรูปทรงกระบอก ผิวเรียบหรือเป็นร่องตามยาว เมื่อยังอ่อนอยู่มีสีเขียว และเปลี่ยนเป็นสีแดง ชมพูส้มหรือเหลือง เมื่อสุกในมะเขือเทศมีกรดอินทรีย์ น้ำตาล วิตามิน A, B, C และสารสำคัญในกลุ่มแคโรทีนอยด์อย่างไลโคปีน (lycopene) ที่ทำให้มะเขือเทศมีความโดดเด่นเหนือพืชผักอื่น ๆ การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาระบุว่า มะเขือเทศและสารสำคัญต่าง ๆ โดยเฉพาะสารไลโคปีน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ชะลอความแก่ ด้านการอักเสบ ช่วยลดไขมัน และน้ำตาลในเลือด และมีฤทธิ์ต้านมะเร็งหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งต่อมลูกหมาก

2.3.2 แครรอต (Carrot)

แครรอต มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Daucus carota* var. *sativus* ชื่อไทย คือ หัวผักกาดแดง อยู่ในตระกูลพาสเลย์ (parsley) หรือ อัลเบลลิเฟอร์ (umbelliferae) เช่นเดียวกับ ขึ้นฉ่าย บัวบก ผักชี และผักชีฝรั่ง เป็นต้น ส่วนของรากที่นำไปประกอบอาหาร มีเนื้อค่อนข้างแข็ง มีรสหวาน และมีหลายสี ตั้งแต่สีส้ม สีแดง ไปจนถึงสีเหลือง ทั้งนี้เนื่องจากมีรงควัตถุพวกแคโรทีนอยด์ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอปริมาณมาก

Baloch et al. (1977) กล่าวว่า เบต้าแคโรทีน เป็นรงควัตถุหลักที่ให้สีในแครรอตมี ปริมาณร้อยละ 85 - 95 เปอร์เซ็นต์ และยังมีอัลฟาแคโรทีนร้อยละ 20 ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมด รวมทั้งรงควัตถุพวก แกมมาแคโรทีน แซนโทฟิล และไลโคปีนอีกปริมาณเล็กน้อย โดยมีรายงานในประเทศอังกฤษว่า ผู้บริโภคส่วนใหญ่ได้รับเบต้าแคโรทีนจากแครรอตคิดเป็นร้อยละ 60 เทียบกับผักและผลไม้อื่น และสารเบต้าแคโรทีนไม่สลายตัวเมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนแต่จะทำให้ร่างกายสามารถดูดซึมสารเบต้าแคโรทีนได้ดีขึ้น ซึ่งมีบทบาทเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระ (antioxidant) เมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายแล้วจะเข้าสู่กระแสเลือดและสะสมที่ไขมันและเนื้อเยื่อของอวัยวะต่าง ๆ เช่น เยื่อตา เยื่อจมูก เยื่อหุ้มหัวใจและหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำในน้ำนม สำหรับส่วนที่เปลี่ยนเป็นวิตามินเอจะสะสมที่ตับและขับออกทางน้ำดี ซึ่งนอกจากสารเบต้าแคโรทีนแล้ว วิตามินเอและวิตามินซีก็จัดเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระเช่นกัน (พงศธร สังขเผือก และเอมอร อุดมเกษมาลี, 2536)

2.3.3 หอมหัวใหญ่ (Onion)

หอมหัวใหญ่ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Allium cepa* Linn ถิ่นกำเนิดอยู่ในเอเชียกลางและเอเชียตะวันตกเฉียงใต้ โดยมีหลักฐานการปลูกและบริโภคตั้งแต่สมัย Hippocrates ชาวกรีกได้บันทึกเรื่องราวเกี่ยวกับหอมหัวใหญ่ เมื่อ 430 ปี ก่อนคริสต์ศักราช หอมหัวใหญ่จัดเป็นผักที่นิยมนำมาใช้ในการปรุงอาหารเพื่อบริโภค โดยประเทศทางตะวันตกยกย่องให้เป็นราชินีของพืชผักเลยทีเดียว ส่วนสรรพคุณทางยาของหอมหัวใหญ่นั้น ตามตำราไทยระบุว่า หอมหัวใหญ่มีสรรพคุณเช่นเดียวกับกระเทียม แต่มีฤทธิ์อ่อนกว่า เมื่อรับประทานเป็นประจำจะช่วยลดความดันโลหิต ลดน้ำตาลในเลือด ในปัจจุบันมีการศึกษาพบว่าหอมหัวใหญ่มีบทบาทต่อการรักษาสุขภาพของหลอดเลือดในหลาย ๆ ด้าน เช่น ฤทธิ์ในการลดความดันโลหิต เนื่องจากบทบาทของ พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin) ป้องกันการแข็งตัวของโลหิต ป้องกันโรคหัวใจและสมอง มีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น เควอเซทิน (quercetin), อัลลิลโพรพิลไดซัลไฟด์ (allyl propyl disulfide), อัลลิซิน (allicin) และ เบต้าแคโรทีน (beta carotene) รวมถึงแร่ธาตุต่างๆ เช่น กำมะถัน แมกนีเซียม และซีลีเนียม ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้ช่วยลดการเกิดความเครียด ออกซิเดชัน (oxidation stress) และลดการอักเสบ

2.3.4 กะหล่ำปลี (Cabbage)

กะหล่ำปลี เป็นพืชในวงศ์เดียวกับผักกาด (brassicaceae หรือ cruciferae) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* L. var. capitata L. มีถิ่นกำเนิดอยู่แถบเมดิเตอร์เรเนียน การรับประทานกะหล่ำปลีดิบในปริมาณมาก อาจทำให้ได้รับสารพิษกอยโตรเจน (goitrogen) ที่สามารถขัดขวางการดูดซึมของไอโอดีน ทำให้ร่างกายขาดไอโอดีนเป็นที่มาของโรคคอหอยพอกได้ การประกอบอาหารที่ถูกต้อง เช่น หั่นหรือตัด เพื่อกระตุ้นเอนไซม์ Tyrosinase ก่อนนำไปต้มหรือนึ่ง จะได้สารอาหารที่มีประโยชน์เช่น Sulforaphane, Indole-3-carbinol และเป็นการกำจัดสาร Goitrogen ไปด้วย กะหล่ำปลีมีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ แร่ธาตุ และวิตามิน รวมถึงสารต้านการเกิดมะเร็งเต้านมในผู้หญิง และมะเร็งต่อมลูกหมากในผู้ชายยกตัวอย่างเช่น Sulforaphane, Indole-3-carbinol, กรดทาร์ทาริก (tartaric acid), วิตามินซี (Vitamin C), กรดโฟลิก (folic acid), กำมะถัน และวิตามินบี 5 แต่มีข้อควรระวังในการรับประทานกะหล่ำปลีดิบ และต้องล้างสารเคมี ยาฆ่าแมลงให้เหมาะสม

2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Compound; TPC)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่สามารถพบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและใช้ในการป้องกันตัวเองจากผู้บุกรุก ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน เช่น จินเจอร์อล (gingerol) ในขิง, ยูจีนอล (eugenol) ในกานพลู ตะไคร้ ใบกระเพรา, แคปไซซิน (capsaicin) ในพริก, เคอร์คิวมิน (Curcumin) ในขมิ้น, แคทีชิน (catechin) ในชา รวมไปถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์อย่าง ลิกนิน (lignin) ซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของเบนซีน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสามารถใช้สาร Folin-Ciocalteu โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) และรีดักชัน (Reduction) (Bozin et al., 2008)

2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid Content; TFC)

สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารเมตาบอไลต์ขั้นทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ต่าง ๆ โดยทำหน้าที่เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวโอเล็ต และการช่วยตรึงไนโตรเจน สารฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่จับอยู่กับน้ำตาลในรูปเบต้าไกลโคไซด์ (β -glycosides) โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (Phenylbenzopyrones) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว ($C_6 - C_3 - C_6$) จัดเรียงเป็น 3 วง ประกอบด้วยวงเบนซีน (Benzene ring) 2 วง และ Heterocyclic pyran ring ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง 1 วง การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถวัดจากการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้สารคาเทชิน (catechin) เทียบเป็นสารมาตรฐาน (Zhishen et al., 1999)

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

เป็นการตรวจวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สะดวกง่ายต่อการวิเคราะห์ และให้ความถูกต้องแม่นยำสูง จึงได้รับความนิยมสูงในการนำมาทดลองเพื่อตรวจสอบหรือวัดระดับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต่าง ๆ

คุณสมบัติของสาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นสารประกอบเคมีอินทรีย์ (Organic chemical compound) ที่เป็นสารอนุมูลอิสระซึ่งมีความคงตัว (Stable free radicle) เมื่ออยู่ในรูปของสารละลายเอทานอลจะได้เป็นสารสีม่วง ดูดกลืนแสงได้ดีที่มีความยาวคลื่น 515-520 nm เมื่อนำสารที่ต้องการทดสอบมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH สีของสารละลาย DPPH จะจางลงหรือไม่มีสี หรือสีเหลือง ตามค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายนั้น ๆ ผลลัพธ์ที่ได้จะสามารถนำเสนอได้หลายรูปแบบ ซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้จะนำเสนอในหน่วยไมโครโมลาร์โทรลอกซ์ ต่อกรัมตัวอย่าง ($\mu\text{M TE/g sample}$) โดยใช้โทรลอกซ์ (trolox) เป็นสารละลายมาตรฐาน (Loganayaki et al., 2013; สำราญ พิมพ์ราช และคณะ, 2558)

นอกจากนี้การวิเคราะห์ค่าความสามารถในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ สามารถทำได้หลายวิธี (Huang et al., 2005; ทศนีย์ เลิศอดุทธสกุล, 2558) เช่น วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) วิธี Total radical – trapping antioxidant parameter (TRAP) วิธี The ferric reducing ability of plasma assay (FRAP) วิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ซึ่งการวัดค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อเสียต่างกัน ดังนี้

1. วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) เป็นวิธีที่สามารถวัดได้อย่างรวดเร็ว ใช้สารตัวอย่างน้อย แต่วัดได้เพียงอนุมูลอิสระชนิดที่ละลายในน้ำเท่านั้น และสารที่ใช้ สำหรับการทดสอบมีราคาแพง

2. วิธี Total radical – trapping antioxidant parameter (TRAP) เป็นวิธีสำหรับการวัดสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด มีความน่าเชื่อถือสูง ค่าที่วัดได้มีความแม่นยำที่สุด แต่ต้องใช้เครื่องมือหลายชนิดในการทดลองเพื่อทดสอบสาร รวมทั้งใช้เวลานานในการวัดผล การคำนวณมีความยุ่งยาก และราคาแพง

3. วิธี The ferric reducing ability of plasma assay (FRAP) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่วัดได้ง่าย และรวดเร็ว ราคาไม่แพง แต่ขาดความแม่นยำ และไม่เกี่ยวข้องกับกลไกในร่างกาย หากเลือกใช้วิธีนี้ควรใช้วิธีอื่น ๆ ควบคู่ไปด้วย

4. วิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) คล้ายวิธีของ FRAP แต่มีการใช้สาร ABTS (2, 2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) ซึ่งไม่พบในร่างกายมนุษย์ จึงไม่ค่อยมีความเกี่ยวข้องกับกลไกในร่างกาย

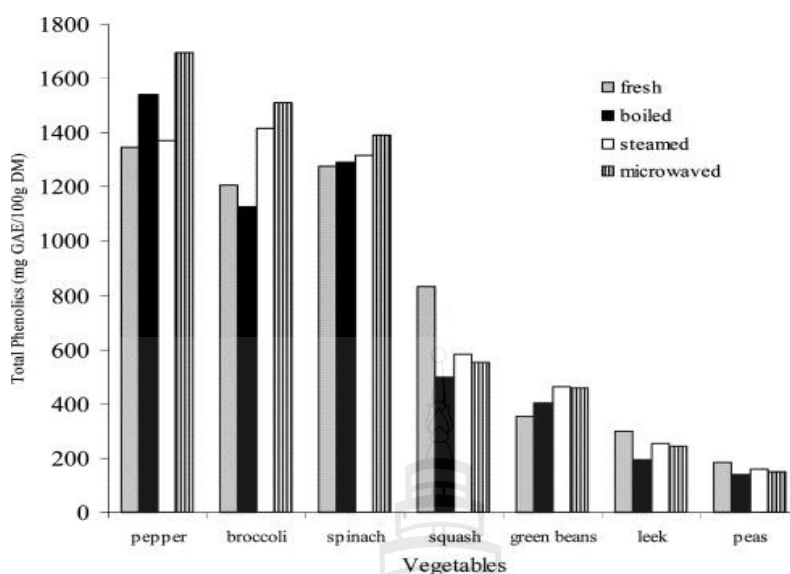
5. วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็นการตรวจวัดอนุมูลอิสระที่สามารถทำได้อย่างรวดเร็ว สะดวก ง่ายต่อการวิเคราะห์ และให้ความถูกต้องแม่นยำสูง ข้อจำกัดของวิธีนี้คือ ไม่สามารถตรวจวัดอนุมูลอิสระในเลือดได้ แต่เนื่องจากการศึกษานี้ไม่ได้ใช้สารประกอบที่เกี่ยวข้องกับเลือด เป็นเพียงการทดลองภายในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นการใช้วิธี DPPH จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการเปรียบเทียบสารอาหารต่าง ๆ ก่อนและหลังผ่านการประกอบอาหาร รวมถึงการตรวจวัดค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารอาหารชนิดต่าง ๆ ได้แก่

2.7.1 การเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

Turkmen et al. (2005) ได้ทำการศึกษาถึงผลของวิธีการประกอบอาหารต่อปริมาณฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักสีเขียวที่ทำการคัดเลือกไว้ ได้แก่ ถั่วเขียว (green beans) ถั่วลันเตา (peas) พริกไทย (pepper) สควอช (squash) บรอกโคลี (broccoli) กระเทียมต้น (leek) และ ปวยเล้ง (spinach) ซึ่งทำการตรวจวัดค่าความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และตรวจวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagents ทั้งก่อนและหลังการประกอบอาหาร ซึ่งจากภาพที่ 2.3 พบว่าสารฟีนอลิกทั้งหมดในพริกไทย บรอกโคลี และปวยเล้ง มีปริมาณสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผ่านการอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟ ถั่วเขียวมีปริมาณสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผ่านการนึ่งซึ่งอยู่ในระดับใกล้เคียงกับการอุ่นด้วยเตา ไมโครเวฟ ส่วนในถั่วลันเตา กระเทียมต้น และสควอช จะมีปริมาณฟีนอลิกลดลงตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วเขียว มีระดับเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผ่านการอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟ รองลงมาคือพริกไทย ปวยเล้ง และบรอกโคลี เมื่อผ่านการประกอบอาหารทั้ง 3 วิธี จะมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นในระดับที่ใกล้เคียงกัน โดย เพิ่มขึ้นในปริมาณมากและน้อยลงตามลำดับ และที่เพิ่มขึ้นในระดับน้อยมากจนถึงน้อยที่สุดคือ กระเทียมต้น และสควอช ตามลำดับ ส่วนในถั่วลันเตาจะมีค่าลดลงจากการประกอบอาหารทั้ง 3 วิธี



ที่มา Turkmen et al. (2005)

ภาพที่ 2.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของผักแต่ละชนิด ที่ผ่านกระบวนการความร้อนต่าง ๆ

Tian et al. (2016) ได้ศึกษาถึงการประกอบอาหารด้วยกรรมวิธีพื้นบ้านต่อปริมาณสารพฤกษเคมี และการต้านอนุมูลอิสระของมันเทศสีม่วง (purple-fleshed potatoes) ซึ่งนำมาประกอบอาหาร ได้แก่ การต้ม (boiling) การนึ่ง (steaming) การอบ (baking) การอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟ (microwaving) การทอด (frying) การทอดด้วยลมร้อน (air-frying) และการผัด (stir-frying) โดยวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วย Folin-Ciocalteu method วัดการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay วัดปริมาณสารแอนโทไซยานินด้วยการวัด pH differential และวัดปริมาณสารแคโรทีนอยด์ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้สาร BHT (butylated hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐาน พบว่าปริมาณฟีนอลิกของมันเทศม่วงสูญเสียไปน้อยที่สุดเมื่อผ่านการอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟ รองลงมาคือการต้ม และสูญเสียมากที่สุดจากการผัด ปริมาณของสารแอนโทไซยานินสูญเสียไปน้อยที่สุดด้วยการอบ รองลงมาคือการอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟ และการต้ม สูญเสียมากที่สุดจากการผัด ปริมาณของสารแคโรทีนอยด์สูญเสียไปน้อยที่สุดจากการต้ม รองลงมาคือการนึ่ง มากที่สุดคือจากการทอดและการผัด ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผ่านการทอดด้วยลมร้อน และมีค่าเท่าเดิมจากการทอด มีค่าน้อยลงไม่มากจากการอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟและการต้ม มีค่าลดลงต่ำสุดจากการผัด

2.7.2 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ศุขยา เบญจพงษ์วิมล (2556) ได้ทำการศึกษาถึงปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มธัญพืชชนิดต่างๆ โดยมีกลุ่มตัวอย่างเป็นเครื่องดื่มธัญพืช 6 ชนิด ได้แก่ น้ำถั่วเขียว น้ำลูกเดือย น้ำข้าวโอ๊ต นำนมข้าว นำนมข้าวโพด และนํานมถั่วเหลือง นำมาทำการตรวจวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ORAC จากวิธี DPPH พบว่าน้ำลูกเดือยมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุดตามด้วยน้ำถั่วเขียว นำนมข้าว นำนมข้าวโพด นำนมถั่วเหลือง และน้ำข้าวโอ๊ตตามลำดับ และการทดสอบด้วยวิธี ORAC พบว่าน้ำถั่วเขียวมีปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือนำนมถั่วเหลือง น้ำข้าวโอ๊ต นำนมข้าวโพด น้ำลูกเดือย และนํานมข้าวตามลำดับ เมื่อทำการวิเคราะห์ผลจึงพบว่าจากการตรวจวัดด้วยวิธี DPPH นั้น ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำธัญพืชมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 และ .05 ส่วนการตรวจวัดด้วยวิธี ORAC ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำธัญพืชทั้ง 6 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01

เมษัน พันธุ์อุดม (2556) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในส้มตำไทยเปรียบเทียบกับส้มตำปูปลาร้า ชนิดที่สามารถพบได้ทั่วไปตามท้องตลาด โดยมีการกำหนดสูตรให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน ซึ่งเลือกกลุ่มตัวอย่างมาจากการสุ่มตัวอย่างร้านอาหารประเภทส้มตำภายใน เขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 10 ร้าน และนำไปวัดค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC พบว่าในส้มตำไทย มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าในส้มตำปลาร้า เนื่องจากมีความแตกต่างกันทั้งในด้าน ชนิดของส่วนประกอบ ปริมาณของส่วนประกอบ เช่น กุ้งแห้งและถั่วลิสงในส้มตำไทยที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง ในขณะที่ปูเค็มกับน้ำปลาร้าต้มสุกในส้มตำปลาร้ามีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย (2557) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้ด้วยวิธี Folin-Clocalteu วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) และวิธี 1,10-Phenanthroline (Phen) โดยตัวอย่าง เครื่องดื่มมีทั้งหมด 10 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำมัจฉุดผสมน้ำเสาวรส น้ำเสาวรสเข้มข้น น้ำสมอผสมน้ำมะขาม น้ำสับปะรดผสมน้ำใบโหระพา น้ำสละเข้มข้น น้ำมัลเบอร์รี่ น้ำทับทิม น้ำมะตูมกลั่นตะไคร้ และใบเตย น้ำองุ่นแดง และน้ำสมอไทย พบว่าน้ำผลไม้ที่มีปริมาณสารฟีนอลิกมากที่สุดคือน้ำสมอ ไทย รองลงมาคือน้ำมะตูมกลั่นตะไคร้และใบเตย และน้ำองุ่นแดง ตามลำดับ เครื่องดื่มน้ำผลไม้ที่มีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากที่สุดคือน้ำสมอไทย รองลงมาคือน้ำองุ่นแดง และน้ำมะตูมกลั่นตะไคร้และใบเตย ตามลำดับ

ทัศนีย์ เลิศอุตสาหกุล (2558) ได้ทำการศึกษาโดยการเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในกาแฟเอสเปรสโซ่ และ คอฟฟिलाเต้ (เอสเปรสโซ่ผสมนม) โดยใช้กลุ่มตัวอย่างเป็นกาแฟที่จำหน่ายในร้านสตาร์บัคส์ 4 สาขา และนำมาวัดค่าด้วยวิธี DPPH พบว่าในปริมาณที่เท่ากันของ

กาแฟทั้งสองชนิดนั้น กาแฟชนิดเอสเพรสโซ่มีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงกว่ากาแฟชนิดลาเต้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01

กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์กุลชาญ (2560) ได้ศึกษาถึงการสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร พบว่าวิธีการสกัดสารที่เป็นที่นิยมได้แก่ การแช่ในตัวทำละลาย การสกัดด้วยการให้ตัวทำละลายไหลผ่าน วิธีการย่อย การสกัดด้วยวิธีการขง การสกัดด้วยวิธีการต้มในน้ำเดือด และการวัดค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการ ดูดกลืนแสงได้แก่ DPPH (2,2-diphenyl-picrylhydrazyl) และ ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)] การวัดค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการวัดความสามารถในการรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อน เช่น วิธี FRAP (Ferric reducing antioxidant power) วิธี PFRAP (Potassium ferricyanide reducing power) และ วิธี Cupric reducing antioxidant power การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ในเชิงปริมาณ จะมีการเปรียบเทียบปฏิกิริยาของสารสกัดที่เราสนใจกับสารมาตรฐานเพื่อหาค่าความเข้มข้นที่แน่นอน โดยสารมาตรฐาน ได้แก่ สาร BHT (Butylate hydroxytoluene) สาร BHA (Butylate hydroxyanisole) วิตามินซี (Ascorbic acid) วิตามินอี (α -tocopherol) และอนุพันธ์ วิตามินอี (Trolox, vitamin E derivative) การหาปริมาณรวมของสารโพลีฟีนอล โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน และการหาปริมาณรวมของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ใช้เคอซีติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 รูปแบบของการวิจัย

เป็นการวิจัยเชิงปฏิบัติการ (laboratory research) ซึ่งเป็นการทดลองภายในห้องปฏิบัติการ โดยมีการศึกษาตัวแปร ดังนี้

3.1.1 ตัวแปรต้น

ได้แก่ วิธีการประกอบอาหารผ่านกระบวนการต่าง ๆ รูปแบบสด การนึ่ง และการต้ม

3.1.1.1 การผ่านกระบวนการนึ่ง นึ่งผ่านไอน้ำเดือดเป็นระยะเวลา 3 นาที

3.1.1.2 การผ่านกระบวนการต้ม ต้มในน้ำเดือดเป็นระยะเวลา 3 นาที

3.1.2 ตัวแปรตาม

ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

3.1.3 ตัวแปรควบคุม

ได้แก่ ชนิดของตัวอย่าง การหั่นขนาดชิ้นของตัวอย่าง

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยเพื่อวิเคราะห์จากตัวอย่างของ มะเขือเทศ แครร์รอต หอมหัวใหญ่ และกะหล่ำปลี จากผักของโครงการหลวง นำไปตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ต่อหนึ่งหน่วยน้ำหนักที่เท่ากัน ในตัวอย่างผักสดและผักที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนโดยกระบวนการนึ่งด้วยไอน้ำเดือดเป็นระยะเวลา 3 นาที และกระบวนการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 นาที

3.2 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างผักทั้งหมดมี 4 ชนิด ได้แก่ กะหล่ำปลี แครร์รอต มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่ กะหล่ำปลี ซึ่งเป็นผักจากโครงการหลวง หาซื้อได้จากโครงการหลวง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ดังนี้

3.2.1 นำกะหล่ำปลี แครร์รอต มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่กะหล่ำปลี หั่นเป็นชิ้นลูกเต๋า ขนาดประมาณ 1x1 เซนติเมตร แบ่งผักแต่ละชนิดออกเป็น 3 ส่วน ส่วนที่หนึ่งเป็นตัวอย่างผักสด ส่วนที่สองเป็นตัวอย่างผักนึ่ง และส่วนที่สามเป็นตัวอย่างผักต้ม

3.2.2 ตัวอย่างส่วนที่สองนำมาผ่านกระบวนการนึ่งด้วยไอน้ำเดือด นำตัวอย่างที่ถูกหั่นแล้วมานึ่งในหม้อนึ่ง (หม้อหุง) เป็นระยะเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปใส่ถุงร้อนและจุ่มลงในถังน้ำแข็งเพื่อหยุดการสุก นำมาพักไว้ให้สะเด็ดน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 10 นาที

3.2.3 ตัวอย่างส่วนที่สามนำมาผ่านกระบวนการต้มด้วยน้ำเดือด นำตัวอย่างที่ถูกหั่นแล้วมาต้มในหม้อ เป็นระยะเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปใส่ถุงร้อนและจุ่มลงในถังน้ำแข็งเพื่อหยุดการสุก นำมาพักไว้ให้สะเด็ดน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 10 นาที

3.3 การสกัดตัวอย่าง

ซึ่งตัวอย่างจากข้อ 3.2 ผักทั้ง 4 ชนิด ที่เป็นผักสด นึ่ง และต้ม ตัวอย่างละ 5 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงพลาสติก (centrifuge tube) ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำทำละลาย Absolute 99.9% ethanol ปริมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นผสมด้วยเครื่อง Homogenizer ยี่ห้อ IKA รุ่น T 25 digital ที่ความเร็ว 15000 rpm เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วย Refrigerated Centrifuge รุ่น Universal 320R ที่ความเร็ว 5000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำมารองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บตัวอย่างส่วนใส นำมาวิเคราะห์ต่อไป

3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

3.4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Compound; TPC)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ใช้วิธีตาม Bozin et al. (2008) ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างส่วนใส 25 ไมโครลิตรใส่ในหลุม 96 well plate เติม 0.2 M Folin-Ciocalteu reagent

125 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นเติม 20% (w/v) โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 100 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer Biotek รุ่น synergy HT ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับสารมาตรฐาน กรดแกลลิก (Gallic acid; GAE) แสดงในหน่วยไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง (μg GAE/g sample) แต่ละตัวอย่างถูกวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

3.4.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid Content; TFC)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ใช้วิธีตาม Zhishen et al. (1999) ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างส่วนใส 150 ไมโครลิตรใส่ในหลุม 96 well plate เติม 5% (w/v) โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) 5 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติม 10% (w/v) อะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3) 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 6 นาที หลังจากนั้น เติม 1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 70 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเทียบกับสารมาตรฐาน คาเทชิน (Catechin; CE) แสดงในหน่วยไมโครกรัมคาเทชินต่อกรัมตัวอย่าง (μg CE/g sample) แต่ละตัวอย่างถูกวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

3.5 การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ใช้วิธีตาม van Amsterdam et al. (1992) ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างส่วนใส 100 ไมโครลิตรใส่ในหลุม 96 well plate เติม 100 μM DPPH ที่ละลายในเอทานอล 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่มืดในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐาน โทรลอคซ์ (Trolox; TE) แสดงในหน่วยไมโครโมลาร์ โทรลอคซ์ต่อกรัมตัวอย่าง (μM TE/g sample) แต่ละตัวอย่างถูกวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

3.6.1 วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว One-way ANOVA

เพื่อวิเคราะห์การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในผักแต่ละชนิดในวิธีการประกอบอาหารเดียวกัน อันได้แก่ ผักสด เทียบกับ ผักที่ผ่านกระบวนการประกอบอาหารโดยการนึ่งและเทียบกับผักที่ผ่านกระบวนการประกอบอาหารโดยการต้มโดยใช้โปรแกรม SPSS 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) วิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) ที่ความแตกต่าง 95% หรือระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

3.6.2 วิธีการทดสอบความแปรปรวนแบบเกี่ยวข้องกัน (Repeated Measure ANOVA)

เพื่อวิเคราะห์การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแตกต่างของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในผักชนิดเดียวกันที่ผ่านกระบวนการความร้อนแต่ละวิธี ได้แก่ เปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในกะหล่ำปลี แครร์รอต มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่ กะหล่ำปลีผักสด เปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในกะหล่ำปลี แครร์รอต มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่กะหล่ำปลีผักที่ผ่านกระบวนการนึ่ง และเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ในกะหล่ำปลี แครร์รอต มะเขือเทศ และหอมหัวใหญ่กะหล่ำปลีผักที่ผ่านกระบวนการต้ม โดยเปรียบเทียบระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC)

ผลการวิจัยแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงตามรูปแบบกระบวนการประกอบอาหาร ซึ่งตัวอย่างสดของหอมหัวใหญ่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ตามมาด้วย กะหล่ำปลี มะเขือเทศ และแครร์รอต ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างผักทุกชนิดยกเว้นมะเขือเทศมีแนวโน้มลดลงเมื่อผ่านกระบวนการนี้ และต้ม ตามลำดับ จะเห็นว่าความร้อนมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกเกิดการสลายตัว

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของผักแต่ละชนิด เมื่อผักผ่านกระบวนการต้มและการนี้ พบว่า ผักทุกชนิด ยกเว้นมะเขือเทศ กระบวนการต้ม จะมีการลดลง ของสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด ตามมาด้วยกระบวนการนี้ ในขณะที่มะเขือเทศ จะให้ผลตรงข้ามโดยพบว่า กระบวนการต้ม จะมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกเพิ่มขึ้นมากที่สุด ตามด้วย กระบวนการนี้ และมะเขือเทศสด แสดงผลตาม ตารางที่ 4.1

นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผักแต่ละชนิด แสดงผลตามตารางที่ 4.2 พบว่าหอมหัวใหญ่สดมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุด 650.50 ± 7.99 ไมโครกรัมกรด แกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ตามด้วยกะหล่ำปลี มะเขือเทศ และ แครร์รอต ตามลำดับ สำหรับกระบวนการนี้ หอมหัวใหญ่มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุด 610.93 ± 6.88 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ตามด้วยกะหล่ำปลีและมะเขือเทศในปริมาณสารฟีนอลิกที่ไม่ต่างกัน และตามด้วยแครร์รอต ในขณะที่ผลจากกระบวนการต้มพบว่าหอมหัวใหญ่ต้มมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุด 432.50 ± 10.36 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง

ตารางที่ 4.1 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในแต่ละกระบวนการปรุงของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด

ชนิดตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด						ค่า นัยสำคัญ ทางสถิติ (<i>p</i> -value)
	TPC (μg GAE/g Sample)						
	สด		นึ่ง		ต้ม		
	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	
กะหล่ำปลี	340.78	4.17	297.85	1.48	140.42	0.98	< 0.001
มะเขือเทศ	242.58	3.84	295.49	2.22	309.59	4.97	< 0.001
แครร์รอต	158.68	2.90	149.37	2.69	89.96	2.46	< 0.001
หัวหอมใหญ่	650.50	7.99	610.93	6.88	432.50	10.36	< 0.001

หมายเหตุ การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีการทดสอบความแปรปรวนแบบเกี่ยวข้อกัน (Repeated measure ANOVA) ที่ระดับความสำคัญทางสถิติ 0.05 ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด

กระบวนการ ปรุง	ชนิดตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด		ค่านัยสำคัญทางสถิติ (<i>p</i> -value)
		TPC (μg GAE/g Sample)		
		ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
สด	กะหล่ำปลี	340.78	4.17	< 0.001
	มะเขือเทศ	242.58	3.84	
	แครร์รอต	158.68	2.90	
	หัวหอมใหญ่	650.50	7.99	
นึ่ง	กะหล่ำปลี	297.85	1.48	< 0.001
	มะเขือเทศ	295.49	2.22	
	แครร์รอต	149.37	2.69	
	หัวหอมใหญ่	610.93	6.88	
ต้ม	กะหล่ำปลี	140.42	0.98	< 0.001
	มะเขือเทศ	309.59	4.97	
	แครร์รอต	89.96	2.46	
	หัวหอมใหญ่	432.50	10.36	

หมายเหตุ การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One Way ANOVA) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงคู่ที่แตกต่างกันที่ระดับความสำคัญทางสถิติ 0.05 ($p < 0.05$)

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC)

ผลการวิจัยปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าการเปลี่ยนแปลงตามรูปแบบกระบวนการประกอบอาหารเช่นเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด นั่นคือกะหล่ำปลี แครร์รอต และหอมหัวใหญ่เมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อนโดยการต้มและการนึ่งแล้วมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงโดยมีการเปลี่ยนแปลงลดลงมากที่สุดในตัวอย่งที่ผ่านกระบวนการต้ม คือ กะหล่ำปลีและหอมหัวใหญ่ลดลง 58 เปอร์เซ็นต์ และแครร์รอตลดลง 47 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่าความร้อนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของผักแต่ละชนิด เมื่อผ่านกระบวนการนึ่งและต้ม พบว่าผักที่ผ่านกระบวนการต้มจะมีการลดลงของสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด ตามมาด้วยกระบวนการนึ่ง ยกเว้น มะเขือเทศ ที่ผลการวิจัยพบว่ามะเขือเทศที่ผ่านกระบวนการต้ม จะพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงขึ้น ในขณะที่ มะเขือเทศที่ผ่านกระบวนการนึ่งจะมีปริมาณสารไม่แตกต่างจากมะเขือเทศสด แสดงผลตามตารางที่ 4.3

เมื่อเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของผักแต่ละชนิด ในผักสดทั้ง 4 ชนิด พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุดในมะเขือเทศ แครร์รอต กะหล่ำปลีและหอมหัวใหญ่ ตามลำดับ หลังจากผ่านกระบวนการนึ่งและกระบวนการต้มแล้ว พบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบมากที่สุดในมะเขือเทศ ตามด้วย แครร์รอต และตามด้วยปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในระดับที่ไม่แตกต่างกันในกะหล่ำปลีและหอมหัวใหญ่ แสดงผลตามตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ในแต่ละกระบวนการปรุงของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด

ชนิดตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด						ค่า นัยสำคัญ ทางสถิติ (<i>p</i> -value)
	TFC (μg CE/g Sample)						
	สด		นึ่ง		ต้ม		
	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	
กะหล่ำปลี	11.40	0.59	8.85	0.29	4.86	0.26	< 0.001
มะเขือเทศ	17.80	0.69	18.43	0.48	20.66	0.55	< 0.001
แครร์รอต	14.55	0.47	12.53	0.53	6.83	0.47	< 0.001
หัวหอมใหญ่	10.08	0.53	8.76	0.47	4.27	0.53	< 0.001

หมายเหตุ การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีการทดสอบความแปรปรวนแบบเกี่ยวข้อกัน (Repeated measure ANOVA) ที่ระดับความสำคัญทางสถิติ 0.05 ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด

กระบวนการปรุง	ชนิดตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด		ค่านัยสำคัญทางสถิติ (<i>p</i> -value)
		TFC (μg CE/g Sample)		
		ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
สด	กะหล่ำปลี	11.40	0.59	< 0.001
	มะเขือเทศ	17.80	0.69	< 0.001
	แครร์รอต	14.55	0.47	< 0.001
	หัวหอมใหญ่	10.08	0.53	< 0.001
นึ่ง	กะหล่ำปลี	8.85	0.29	< 0.001
	มะเขือเทศ	18.43	0.48	< 0.001
	แครร์รอต	12.53	0.53	< 0.001
	หัวหอมใหญ่	8.76	0.47	< 0.001
ต้ม	กะหล่ำปลี	4.86	0.26	< 0.001
	มะเขือเทศ	20.66	0.55	< 0.001
	แครร์รอต	6.83	0.47	< 0.001
	หัวหอมใหญ่	4.27	0.53	< 0.001

หมายเหตุ การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One Way ANOVA) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงคู่ที่แตกต่างกันที่ระดับความสำคัญทางสถิติ 0.05 ($p < 0.05$)

4.3 การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จะแสดงในหน่วย ไมโครโมลาร์โทลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ($\mu\text{M Trolox/g FW}$) ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.5, 4.6 พบว่าตัวอย่าง ผักทั้ง 4 ชนิดที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนโดยการนึ่งและการต้มมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ลดลง ซึ่งตัวอย่างกะหล่ำปลีสดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด $1,585.24 \pm 86.06$ ไมโครโมลาร์โทลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง รองลงมาคือ มะเขือเทศสด $1,092.17 \pm 69.36$ ไมโครโมลาร์โทลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง หอมหัวใหญ่สด 685.05 ± 47.28 ไมโครโมลาร์โทลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง และ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่ำสุด คือ แคร้รอตสด 332.39 ± 7.49 ไมโครโมลาร์โทลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ส่วนตัวอย่างผักที่ผ่านกระบวนการต้มในตัวอย่างกะหล่ำปลีต้มและมะเขือเทศต้มมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 764.66 ± 61.09 และ 755.77 ± 54.68 ไมโครโมลาร์โทลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่างตามลำดับ และแคร้รอตต้มมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด 254.04 ± 15.69 ไมโครโมลาร์โทลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง เช่นเดียวกับสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ความร้อนสูงจากการต้ม มีผลในการลดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าการนึ่ง

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในแต่ละกระบวนการปรุงของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด

ชนิดตัวอย่าง	DPPH (μM Trolox/g FW)						ค่านัยสำคัญ
	สด		นึ่ง		ต้ม		
	ค่า		ค่า		ค่า		ทางสถิติ (p-value)
	ค่าเฉลี่ย	เบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย	เบี่ยงเบน มาตรฐาน	
กะหล่ำปลี	1,585.24	86.06	1,425.12	47.06	764.66	61.09	< 0.001
มะเขือเทศ	1,092.17	69.36	906.61	10.88	755.77	54.68	< 0.001
แครร์อต	332.39	7.49	330.16	10.91	254.04	15.69	< 0.001
หัวหอมใหญ่	685.05	47.28	541.15	31.89	484.46	12.58	< 0.001

หมายเหตุ การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีการทดสอบความแปรปรวนแบบเกี่ยวข้องกัน (Repeated measure ANOVA) ที่ระดับความสำคัญทางสถิติ 0.05 ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างผักทั้ง 4 ชนิด

กระบวนการปรุง	ชนิดตัวอย่าง	DPPH ($\mu\text{M Trolox/g FW}$)		ค่านัยสำคัญทางสถิติ (p -value)
		ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
สด	กะหล่ำปลี	1,585.24	86.06	< 0.001
	มะเขือเทศ	1,092.17	69.36	< 0.001
	แครร์รอต	332.39	7.49	< 0.001
	หัวหอมใหญ่	685.05	47.28	< 0.001
นึ่ง	กะหล่ำปลี	1,425.12	47.06	< 0.001
	มะเขือเทศ	906.61	10.88	< 0.001
	แครร์รอต	330.16	10.91	< 0.001
	หัวหอมใหญ่	541.15	31.89	< 0.001
ต้ม	กะหล่ำปลี	764.66	61.09	< 0.001
	มะเขือเทศ	755.77	54.68	< 0.001
	แครร์รอต	254.04	15.69	< 0.001
	หัวหอมใหญ่	484.46	12.58	< 0.001

หมายเหตุ การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One Way ANOVA) ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงคู่ที่แตกต่างกันที่ระดับความสำคัญทางสถิติ 0.05 ($p < 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

จากการศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในผักทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ กะหล่ำปลี แคร้รอต มะเขือเทศ และ หอมหัวใหญ่ ที่ผ่านกระบวนการนึ่ง 3 นาที และการต้ม 3 นาที สรุปได้ว่า กะหล่ำปลี แคร้รอต และหอมหัวใหญ่ ที่ผ่านกระบวนการนึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลง และจะลดลงมากที่สุดเมื่อผ่านกระบวนการต้ม ส่วนมะเขือเทศที่ผ่านการนึ่งจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น และจะสูงที่สุดเมื่อผ่านกระบวนการต้ม แต่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในมะเขือเทศนั้นลดลงเช่นเดียวกับ กะหล่ำปลี แคร้รอต และหอมหัวใหญ่

ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับการวิจัยของ Chipurura et al. (2010) แต่มีความน่าสนใจในตัวอย่างมะเขือเทศที่มีแนวโน้มของปริมาณสารฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น ซึ่งมะเขือเทศที่ผ่านกระบวนการต้มมีปริมาณสารฟีนอลิกมากกว่ามะเขือเทศสด เพิ่มขึ้น 28 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dewanto et al. (2002) ที่ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมะเขือเทศที่ผ่านความร้อนในเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างที่ผ่านความร้อนมีปริมาณมากกว่าในตัวอย่างสด และมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ผ่านความร้อน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Rivero et al. (2022) แสดงให้เห็นว่ากระบวนการแปรรูปเป็นซอสมะเขือเทศจะทำให้ปริมาณสารฟีนอลิกสูงขึ้นได้เช่นกัน แต่งานวิจัยของ Shi and Maguer (2000) พบว่ามะเขือเทศที่ผ่านความร้อนสูงเกินไปมากกว่า 100 องศาเซลเซียส และใช้เวลานานมากกว่า 3 นาที จะทำให้สารไลโคปีนเกิดการสลายตัวได้แสดงว่า ความร้อนสูงน่าจะ มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลงในผักอื่น แต่เพิ่มขึ้นในมะเขือเทศ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Yang et al. (2004)

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีการเปลี่ยนแปลงลดลงมากที่สุดผักที่ผ่านการต้ม จะเห็นว่าความร้อนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งผลการศึกษา

เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Ioannou et al. (2020) ที่ศึกษาผลของความร้อนต่อปริมาณลูทีน (Rutin), นารินจิน (Naringin), โอติคทีออล (Eriodictyol) และ ลูทีอีโอลิน (Luteolin) ที่เป็นสารฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่ที่พบได้ในพืช นอกจากนี้ผลการทดลองของ Chaaban et al. (2017) ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน การที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้นในตัวอย่างมะเขือเทศที่ผ่านความร้อน Gartner et al. (1997) อธิบายว่า ความร้อนจะทำลายโครงสร้างภายในผนังเซลล์ทำให้สารไลโคปีนหลุดออกมาอยู่ในรูป free-lycopene ซึ่งร่างกายสามารถดูดซึมนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีกว่ามะเขือเทศสด

ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าตัวอย่างทั้ง 4 ชนิดที่ผ่านกระบวนการความร้อนมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลง ทั้งในกะหล่ำปลี มะเขือเทศ แครร์รอต และ หอมหัวใหญ่ ในตัวอย่างมะเขือเทศมีผลการทดลองในทิศทางตรงกันข้ามกับตัวอย่างอื่นๆ จะสังเกตว่าเมื่อมะเขือเทศที่ผ่านกระบวนการความร้อนจะทำให้สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่กลับทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยลง อาจจะเป็นเนื่องจากองค์ประกอบสารต้านอนุมูลอิสระในมะเขือเทศมีความหลากหลาย ไม่ว่าจะเป็น ไลโคปีน ลูทีน เบต้าแคโรทีน วิตามินอี และวิตามินซี ซึ่งวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากที่สุด 13.70 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมผลสด รองลงมาเป็นสารไลโคปีน 10.63 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมผลสด (Frusciante et al., 2007) เมื่อผ่านความร้อนจะทำให้วิตามินซีสามารถสลายตัวได้ง่ายมาก จึงทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงด้วย จากงานวิจัยของ Dewanto et al. (2002) ชี้ให้เห็นว่า มะเขือเทศที่ผ่านความร้อนที่ 88 องศาเซลเซียส จะทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อใช้เวลาต้มที่นานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าผลการวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sengul et al. (2014) ที่ศึกษาผลของวิธีการประกอบอาหาร ได้แก่ การต้ม การนึ่ง การผัด และ ไมโครเวฟ ที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในผักแต่ละชนิด ซึ่งพบว่าเมื่อใช้ความร้อนในการประกอบอาหารจะทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงเช่นเดียวกัน แต่ผลการวิจัยในครั้งนี้กลับให้ผลในทางตรงกันข้ามกับงานวิจัยของ Turkmen et al. (2005) ที่ทำการทำการศึกษถึงผลของวิธีการประกอบอาหารต่อปริมาณฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักสีเขียวที่ทำการคัดเลือกไว้ ได้แก่ ถั่วเขียว (green beans) ถั่วลันเตา (peas) พริกไทย (pepper) สควอช (squash) บรอกโคลี (broccoli) กระเทียมต้น (leek) และ ปวยเล้ง (spinach) โดยศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า ผักบางชนิดเมื่อผ่านกระบวนการปรุงอาหารโดยใช้ความร้อนปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นและในผักบางชนิดลดลงดังนี้สารฟีนอลิกทั้งหมดในพริกไทย บรอกโคลี และปวยเล้ง มีปริมาณสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผ่านการอุ่นด้วยเตาไมโครเวฟ ถั่วเขียวมีปริมาณ

สารฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผ่านการนึ่งซึ่งอยู่ในระดับใกล้เคียงกับการอุ่นด้วยเตา ไมโครเวฟ ส่วนใน ถั่วลันเตา กระเทียมต้น และสควอช จะมีปริมาณฟีนอลิก ลดลงตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของถั่วเขียว มีระดับเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อผ่านการอุ่นด้วย เตาไมโครเวฟ รองลงมาคือพริกไทย ปวยเล้ง และบรอกโคลี เมื่อผ่านการประกอบอาหารทั้ง 3 วิธีจะมี ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นในระดับที่ใกล้เคียงกัน โดย เพิ่มขึ้นในปริมาณมากและ น้อยลงตามลำดับ และที่เพิ่มขึ้นในระดับน้อยมากจนถึงน้อยที่สุดคือ กระเทียมต้น และสควอช ตามลำดับ ส่วนในถั่วลันเตาจะมีค่าลดลงจากการประกอบอาหารทั้ง 3 วิธี ดังนั้นชนิดของผักที่ แตกต่างกันอาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้ผลการวิจัยนั้นแตกต่างกันได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัยนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการมาใช้ในการชีวิตประจำวันได้หลายประการ กระบวนการประกอบอาหารมีผลต่อปริมาณสารอาหารในผัก พบว่าความร้อนสูง เช่นการต้มมีผลต่อ การลดลงของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก และสารพลาโวนอยด์ รวมทั้งลด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แนะนำให้พิจารณา ประกอบอาหารด้วยวิธีอื่น เช่นการ การนึ่ง หรือการรับประทานสด ยกเว้นใน มะเขือเทศ การต้มทำให้มีสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบ พลาโวนอยด์สูงขึ้น แต่ไม่ควรต้มนานเกินไป เนื่องจากความร้อนสูงที่นานเกิน 3 นาทีจะเริ่มทำลาย สารไลโคปีนในมะเขือเทศได้ และความร้อนสูงนาน ๆ จะทำลาย สารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นที่มีอยู่มาก ในมะเขือเทศ เช่น วิตามินซีได้ ในกรณีที่ต้องการเลือกผักที่มีสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด แนะนำให้ เลือกรับประทานหอมหัวใหญ่สดหรือหนึ่ง ถ้าต้องการเลือกผักที่มีปริมาณสารประกอบพลาโวนอยด์ สูงสุด แนะนำให้เลือกรับประทานมะเขือเทศโดยเฉพาะมะเขือเทศที่ผ่านกระบวนการนึ่งและต้ม ที่ไม่ ผ่านความร้อนนานมากจนเกินไป ถ้าต้องการทานผักที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ควรเลือกรับประทาน กะหล่ำปลีสด แต่ไม่ควรรับประทานต่อเนื่อง เพราะว่ามีงานวิจัยที่พบว่าใน กะหล่ำปลีสดมีสาร Goitrogen ซึ่งอาจจะส่งผลให้เกิดภาวะไทรอยด์ต่ำและอาจส่งผลไม่ดีต่อสุขภาพ ได้ (Jagminder et al., 2016) จึงแนะนำให้เลือกทานกะหล่ำปลีหนึ่ง หากจะเลือกรับประทานแครรอต การเลือกรับประทานแครรอตชนิดสดจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า และผักแต่ละชนิดก็ ราคาที่แตกต่างกันตามฤดูกาล ดังนั้นข้อมูลจากงานวิจัยนี้ จึงเป็นส่วนประกอบในการเลือกซื้อและ รับประทานผักเพื่อวัตถุประสงค์ในเรื่องการเสริมสร้างปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่รับจากภายนอก เพื่อเป็นปัจจัยช่วยให้อวัยวะในการยับยั้งความเสื่อมของร่างกายและชะลอวัยแก่ผู้บริโภค

ในการศึกษาครั้งต่อไป อาจจะมีการเพิ่มการศึกษาผักที่ผ่านความร้อนในแต่ละช่วงเวลาและช่วงอุณหภูมิ ของการนึ่งและการต้ม เพราะผักแต่ละชนิดอาจจะใช้เวลาในการประกอบอาหารเพื่อให้ผักสุกที่แตกต่างกันและอาจจะมีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน รวมทั้งชนิดของผักที่แตกต่างกันอาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลให้ผลการวิจัยแตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งต่อไปหากมีการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมโดยใช้ผักหลากหลายชนิดมากขึ้น ซึ่งน่าจะเป็นประโยชน์ในทางวิชาการมากยิ่งขึ้น





รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

- กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. (2560). การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*, 3(1). 86-94.
- ไชยวัฒน์ ไชยสุต. (2555). สารต้านอนุมูลอิสระสำหรับป้องกัน ภาวะเครียดออกซิเดชันของผิวหนัง. ใน *วรพล เองวานิช, อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*. (หน้า 333-354) เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพ.
- ดุขยา เบญจพงษ์วิมล. (2556). *การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มธัญพืชชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี DPPH และ ORAC* (การค้นคว้าอิสระวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ทัศนีย์ เลิศอุตสาหกุล. (2558). *การตรวจวัดและเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในกาแฟเอสเปรสโซ่ และ คอฟฟี่ลาเต้ (เอสเปรสโซ่ผสมนม) ด้วยวิธี DPPH* (การค้นคว้าอิสระวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต) มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. (2557). การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. *วารสารวิจัย มข. (ฉบับบัณฑิตศึกษา)*, 14(4), 69-79.
- พงศธร สังข์เผือก และเอมอร อุดมเกษมาลี. (2536). *เบตาแคโรทีน*. สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เมษัน พันธ์อุดม. (2556). การตรวจวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในส้มตำไทย และส้มตำปูปลาร้า ด้วยวิธี ORAC (การค้นคว้าอิสระวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย. (2555). *เรื่องราวของอนุมูลอิสระ ใน วรพล เองวานิช. (ม.ป.ป), สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ* (หน้า 15-40). นวัตกรรมสุขภาพ.

วรพล เองวานิช. (2555). *อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ*. นวัตกรรมสุขภาพ.

วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์. (2555). การตอบสนองต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน และการปรับตัวของเซลล์ ใน วรพล เองวานิช, *สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ* (หน้า 61-85). นวัตกรรมสุขภาพ.

ศุภชัย เจริญสิน และไมตรี สุทธจิตต์. (2555). สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มวิตามิน, ใน วรพล เองวานิช, *สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ* (หน้า 205-244). นวัตกรรมสุขภาพ.

สำราญ พิมราช, สุนันท์ บุตรศาสตร์, อีระรัตน์ ชินแสน และถวัลย์ เกตมาลา. (2558). ปริมาณกาบา และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอกพันธุ์พื้นเมือง 5 สายพันธุ์. *วารสารเกษตรพระวรุณ*, 12(1), 35-40.

สุพัตรา ปรศุพัฒนา, ชลธิดา เทพหินลักข์ และไมตรี สุทธจิตต์. (2555). สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่ไม่ใช่วิตามิน, ใน วรพล เองวานิช, *สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ* (หน้า 231-294). นวัตกรรมสุขภาพ.

Baloch, A. K., Buckle, K. A., & Edwards, R. A. (1977). Separation of carrot carotenoids on hyflo super-cel-magnesium oxide-calcium sulfate thin layers. *Journal of Chromatography A*, 139(1), 149-155.

Bielski, B. H. J., & Cabelli, D. E. (1991). Highlights of current research involving superoxide and perhydroxyl radicals in aqueous solutions. *International Journal Of Radiation Biology*, 59(2), 291-319.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igic, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*, 111(4), 925-929.

Buettner, G. R. (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol, and ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 300(2), 535-543.

- Buettner, G. R., & Jurkiewicz, B. A. (1996). Catalytic metals, ascorbate and free radicals: Combinations to avoid. *Radiation Research*, 145(5), 532-541.
- Chaaban, H., Ioannou, I., Chebil, L., Slimane, M., Gerardin, C., Paris, C., . . . & Ghoul, M. (2017). Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13203.
- Chipurura, B., Muchuweti, M., & Manditseraa, F. (2010). Effects of thermal treatment on the phenolic content and antioxidant activity of some vegetables. *Asian Journal of Clinical Nutrition*, 2(3), 93-100.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- England, S., & Seifter, S. (1986). The biochemical functions of ascorbic acid. *Annual Review of Nutrition*, 6(1), 365-406.
- Eskelinen, M. H., & Kivipelto, M. (2010). Caffeine as a protective factor in dementia and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(Suppl. 1), S167-S174.
- Frei, B., & Higdon, J. V. (2003). Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *The Journal of Nutrition*, 133(10), 3275S-3284S.
- Frusciante, L., Carli, P., Ercolano, M. R., Pernice, R., Di Matteo, A., Fogliano, V., & Pellegrini, N. (2007). Antioxidant nutritional quality of tomato. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(5), 609-617.
- Gärtner, C., Stahl, W., & Sies, H. (1997). Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66(1), 116-122.

- Halliwell, B. (1999a). Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). *Free Radical Research*, 31(4), 261-272.
- Halliwell, B. (1999b). Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: Measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 443(1-2), 37-52.
- Halliwell, B. (1999c). Vitamin C: Poison, prophylactic or panacea?. *Trends in biochemical sciences*, 24(7), 255-259.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Ioannou, I., Chekir, L., & Ghoul, M. (2020). Effect of heat treatment and light exposure on the antioxidant activity of flavonoids. *Processes*, 8(9), 1078.
- Jagminder, K. B., Salwan, P., & Salwan, S. (2016). Various possible toxicants involved in thyroid dysfunction: A review. *J Clin Diagn Res*, 10(1), FE01-FE03.
- Khavinson, V. Kh., Lezhava, T. A., Monaselidze, J. R., Jokhadze, T. A., Dvalishvili, N. A., Bablishvili, N. K., . . . Trofimova, S. V. (2003). Peptide Epitalon activates chromatin at the old age. *Neuro Endocrinol Lett*, 24(5), 329-333.
- Kruidenier, L., & Verspaget, H. W. (2002). Review article: Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease-radicals or ridiculous?. *Aliment Pharmacol Ther*, 16(12), 1997-2015.
- Lockwood, B. (2007). *Nutraceuticals: A Guide for Healthcare Professionals* (2nd Eds.). Pharmaceutical Press.
- Loganayaki, N., Siddhuraju, P., & Manian, S. (2013). Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba pentandra* L. *Journal of Food Science and Technology*, 50(4), 687-695.

- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- Matés, J. M., & Sánchez-Jiménez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 4(4), 339-345.
- Menshchikova, E. B., Zenkov, N. K., Kandalintseva, N. V., & Prosenko, A. E. (2008). Combination of methods for in vitro study of antioxidant properties of chemical compounds. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 146(6), 741-743.
- Meral, A., Tuncel, P., Sürmen-Gür, E., Ozbek, R., ... Günay, U. (2000). Lipid peroxidation and antioxidant status in beta-thalassemia. *Pediatric Hematology and Oncology*, 17(8), 687-693.
- Neuzil, J., Thomas, S. R., & Stocker, R. (1997). Requirement for, promotion, or inhibition by alpha-tocopherol of radical-induced initiation of plasma lipoprotein lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*, 22(1-2), 57-71.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 1, 11.
- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2), 219.
- Rivero, A. G., Keutgen, A. J., & Pawelzik, E. (2022). Antioxidant properties of tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as Affected by cultivar and processing method. *Horticulturae*, 8(6), 547.

- Rubbo, H., Radi, R., Trujillo, M., Telleri, R., Kalyanaraman, B., Barnes, S., . . . & 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.
- Rushworth, S. A., Ogborne, R. M., Charalambos, C. A., & O'Connell, M. A. (2006). Role of protein kinase C δ in curcumin-induced antioxidant response element-mediated gene expression in human monocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 341(4), 1007-1016.
- Şengül, M., Yildiz, H., & Kavaz, A. (2014). The effect of cooking on total polyphenolic content and antioxidant activity of selected vegetables. *International Journal of Food Properties*, 17(3), 481-490.
- Shi, J., & Maguer, M. L. (2000). Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(1), 1-42.
- Shimizu, T., Bae, Y. K., Muraoka, O., & Hibi, M. (2005). Interaction of Wnt and caudal-related genes in zebrafish posterior body formation. *Developmental Biology*, 279(1), 125-141.
- Sies, H. (1993). Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry*, 215(2), 213-219.
- Stahl, W., & Sies, H. (1996). Lycopene: A biologically important carotenoid for humans?. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 336(1), 1-9.
- Tian, J., Chen, J., Lv, F., Chen, S., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. (2016). Domestic cooking methods affect the phytochemical composition and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes. *Food Chemistry*, 197, 1264-1270.

- Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2005). Analytical, nutritional and clinical methods: The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected *green vegetables*. *Food Chemistry*, 93, 713-718.
- van Amsterdam, F. T. M., Roveri, A., Maiorino, M., Ratti, E., & Ursini, F. (1992). Lacidipine: a dihydropyridine calcium antagonist with antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 12(3), 183-187.
- Wilson, K., Ruch, G., Lymbery, M., & Cooper, A. (2011). *Social work: An introduction to contemporary practice*. Longman Pub Group
- Wu, D., & Cederbaum, A. I. (2003). Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *AlcoholRes Health*, 27(4), 277-284.
- Yang, J., Meyers, K. J., van der Heide, J., & Liu, R. H. (2004). Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22), 6787-6793.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.



ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยชั่งกรดแกลลิก 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานคาทีชิน (Catechin)

เตรียมสารละลายมาตรฐานคาทีชินความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งคาทีชินอย่างละเอียด 0.0010 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน 1 มิลลิลิตร ผสมจนละลาย เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานโพลีฟีนอล

เตรียมสารละลายมาตรฐานโพลีฟีนอล โดยชั่งสารโพลีฟีนอล 0.025 กรัม ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 99.9 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เพื่อใช้ในการ วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH

4. การเตรียมสารละลาย Folin-ciocalteu reagent

เตรียมโดยนำสารละลาย Folin-ciocalteu reagent มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ใน อัตราส่วน 1 : 1 โดยก่อนใช้ต้องทำการเจือจางสารละลาย Folin-ciocalteu reagent ด้วยน้ำกลั่น ปราศจากไอออน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.9 - 1.0 เพื่อใช้ในการ วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

5. การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ที่มีความเข้มข้น 0.15 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งโซเดียม คาร์บอเนตมา 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร ผสมจนละลาย เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

6. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เพื่อใช้ในการ วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

7. การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรต์

เตรียมโซเดียมไนไตรต์ร้อยละ 3 โดยชั่งโซเดียมไนไตรต์อย่างละเอียด 0.7500 กรัม ละลายด้วยน้ำ กลั่นปราศจากไอออน และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หา ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

8. การเตรียมสารละลาย DPPH

เตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl อย่าง ละเอียด 0.0390 กรัม ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 99.9 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยก่อนใช้ ต้องทำการเจือ จางสารละลาย DPPH ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.9 - 1.0 เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH

