ความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของพืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่าน

นางสาวกมลวรรณ โชติพฤฒิพงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

REACTIVE OXYGEN SPECIES SCAVENGING CAPACITY OF LOCAL EDIBLE PLANTS IN NAN PROVINCE

Miss Kamonwan Chotphuettipong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Botany
Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2011
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของพืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่าน
โดย	นางสาวกมลวรรณ โชติพฤฒิพงศ์
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร.ยุพิน จินตภากร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม(ถ้ามี)	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

…….. คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…… ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุมพล คุณวาสี)

…….. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ ดร.ยุพิน จินตภากร)

…… อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ)

…… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ต่อศักดิ์ สีลานันท์)

…… กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมภพ ประธานธุรารักษ์)

กมลวรรณ โชติพฤฒิพงศ์ : ความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของพืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่าน. (REACTIVE OXYGEN SPECIES SCAVENGING CAPACITY OF LOCAL EDIBLE PLANTS IN NAN PROVINCE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ดร.ยุพิน จินตภากร, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผศ. ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ, 128 หน้า.

ผักพื้นบ้านหลายชนิดในประเทศไทยพบว่ามีความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ได้สูง โดยจังหวัดน่านเป็นจังหวัดที่ยังคงมีการบริโภคผักพื้นบ้านอยู่มาก การวิจัยนี้จึงมุ่งประเมินความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของพืชอาหารพื้นบ้านบางชนิดที่พบในจังหวัดน่าน จากการตรวจสอบพืช 20 ชนิดด้วยวิธี DPPH scavenging assay สามารถคัดเลือกพืชที่มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงได้ 10 ชนิด และนำพืชทั้ง 10 ชนิดมาศึกษาความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ ปริมาณของ phenolic compounds, flavonoid, ascorbic acid, α-tocopherol และ antioxidant enzymes ผลจากการศึกษาพบว่าผักปู่ย่ามีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูง รองลงมาคือผลมะปรางอ่อน ทั้งนี้พบว่าผักปู่ย่ายังมีปริมาณ phenolic compounds สูงอีกด้วย ส่วนผลมะปรางอ่อนนอกจากจะมีปริมาณ phenolic compounds สูงแล้วยังมีความสามารถในการขจัด superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$) และ hydrogen peroxide (H_2O_2) สูง ส่วนผักก้านถงเป็นพืชที่พบ phenolic compounds และ flavonoid สูง ในขณะที่หอมด่วนหลวงมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ สูงและมีปริมาณ phenolic compounds, ascorbate peroxidase และ superoxide dismutase สูง สำหรับพืชที่มีปริมาณ ascorbic acid สูงที่สุดคือ ผักฮ้วนหมู ส่วนพืชที่พบปริมาณ α-tocopherol สูงที่สุดคือ ผักดีด รองลงมาคือ เม่า ซึ่งเม่ายังมี activity ของเอนไซม์ catalase, ascorbate peroxidase และ superoxide dismutase สูงอีกด้วย ในขณะที่ผักดีดมีความสามารถในการขจัด singlet oxygen ($^1O_2$) สูง ส่วนพืชที่พบเอนไซม์ glutathione reductase สูงที่สุด คือ ผักฮาก จากผลการศึกษาพบว่าพืชอาหารพื้นบ้านส่วนใหญ่มีความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่ทำการศึกษา ดังนั้นพืชพื้นบ้านในจังหวัดน่านจึงเป็นแหล่งอาหารสำคัญที่มีความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ได้สูง

ภาควิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา พฤกษศาสตร์ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2554 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

5172204023 : MAJOR BOTANY

KEYWORDS : REACTIVE OXYGEN SPECIES SCAVENGING/ LOCAL PLANT/ NAN

KAMONWA\N CHOTPHUETTIPONG : REACTIVE OXYGEN SPECIES SCAVENGING CAPACITY OF LOCAL EDIBLE PLANTS IN NAN PROVINCE. ADVISOR : YUPYN CHINTAPAKORN, Ph.D., CO-ADVISOR : ASST. PROF. KANOGWAN SERAYPHEAP, Ph.D., 128 pp.

Many local vegetables in Thailand contain high capacity in scavenging of reactive oxygen species and the local people in Nan province still consume these local vegetables. This study was aimed to evaluate reactive oxygen species scavenging activities in some local edible plants in Nan province. The top ten high DPPH scavenging activity plants were selected from twenty local edible plants screened and further analyzed for other characters related to reactive oxygen species scavenging, including the contents of phenolic compounds, flavonoid, ascorbic acid, α-tocopherol and antioxidant enzymes. The results showed that the highest DPPH scavenging activity was found in *Caesalpinia mimosoides* and *Bouea macrophylla*, respectively. Furthermore, *Caesalpinia mimosoides* contained high phenolic compounds while *Bouea macrophylla* not only had high phenolic compounds but also high superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging activities. *Colubrina asiatica* also had high phenolic compounds and flavonoid content. *Coleus amboinicus* had high $O_2^{\bullet-}$ scavenging activity, phenolic compounds, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase activities. The highest amount of ascorbic acid was found in *Dregea volubilis*. In addition, the highest α-tocopherol was found in *Solanum spirale* and *Antidesma ghaesembilla,* respectively. Moreover, *Antidesma ghaesembilla* had high catalase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase activities. Furthermore, *Solanum spirale* had high singlet oxygen ($^1O_2$) scavenging activity. *Erythropalum scandens* contained the highest glutathione reductase among selected plants. The result showed that a most local plants had higher reactive oxygen species scavenging activity than economical plants. Therefore, the local plants in Nan province can be considered as a major food source with high capacity in reactive oxygen species scavenging.

Department : Botany Student's Signature .....

Field of Study : Botany Advisor's Signature .....

Academic Year : 2011 Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ยุพิน จินตภากร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำต่างๆ ตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย และตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์จนวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุมพล คุณวาสี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ต่อศักดิ์ สีลานันท์ และรองศาสตราจารย์ ดร.สมภพ ประธาน-ธุรารักษ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาสนับสนุนวัสดุและห้องปฏิบัติการวิจัยในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณทุนสนับสนุนโดยโครงการวิทยาเพื่อพื้นถิ่นในแผนพัฒนาวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2551-2555 ที่กรุณาสนับสนุนเงินทุนในการศึกษาและทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2554 ภายใต้แผนงานวิจัยอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพ และศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านความหลากหลายทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาสนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือตลอดจนให้กำลังใจที่ดีเสมอมาจนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัวและญาติพี่น้อง ที่สนับสนุนในด้านการศึกษา ตลอดจนเป็นกำลังใจ ให้คำปรึกษาและความห่วงใยเสมอมาจนวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จไปด้วยดี

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		จ
กิตติกรรมประกาศ		ฉ
สารบัญ		ช
สารบัญตาราง		ฌ
สารบัญภาพ		ญ
บทที่		
1	บทนำ	1
2	การตรวจเอกสาร	3
	อนุมูลอิสระ	3
	ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ	5
	สารต้านอนุมูลอิสระ	9
	ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระ	11
	สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์	17
	การศึกษา antioxidant ด้วยวิธีการต่างๆ	17
	การศึกษา antioxidant activity ของพืชผักในประเทศไทย	19
3	อุปกรณ์และวิธีการศึกษา	22
	วัสดุอุปกรณ์	22
	สารเคมี	23
	วิธีดำเนินการวิจัย	25
4	ผลการศึกษา	35
	ผลการระบุชนิดพืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่าน	35
	ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH	35
	ผลการวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compounds	45
	ผลการวิเคราะห์ปริมาณ flavonoid	46
	ผลการวิเคราะห์ปริมาณ ascorbic acid	47

บทที่ หน้า

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ tocopherol 48
ผลการวิเคราะห์ superoxide anion scavenging activity 49
ผลการวิเคราะห์ hydrogen peroxide scavenging activity 50
ผลการวิเคราะห์ hydroxyl radical scavenging activity 51
ผลการวิเคราะห์ singlet oxygen oxygen scavenging activity 52
ผลการวิเคราะห์ catalase (CAT) 53
ผลการวิเคราะห์ ascorbate peroxidase activity (APX) 54
ผลการวิเคราะห์ glutathione reductase (GR) 55
ผลการวิเคราะห์ superoxide dismutase (SOD) 56
5 อภิปรายผลการศึกษา 58
6 สรุปผลการศึกษา 68
รายการอ้างอิง 70
ภาคผนวก 77
ภาคผนวก ก 78
ภาคผนวก ข 89
ภาคผนวก ค 91
ภาคผนวก ง 104
ภาคผนวก จ 112
ภาคผนวก ฉ 120
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 128

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่าง reactive oxygen radicals และ stable radicals	3
2	Reactive oxygen species ชนิดต่างๆ	5
3	Non-radical decomposition ของ hydroperoxide และ hydrogen peroxide	9
4	Sequestration ของ metal โดย chelation	10
5	Quenching ของ reactive oxygen species	10
6	ตัวอย่าง Antioxidant ที่ละลายในน้ำและไขมัน	10
7	เอนไซม์ชนิดต่างๆ ที่มี ascorbic acid เป็น co-factor	12
8	ส่วนที่ใช้และวิธีการรับประทานพืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่าน	36
9	พืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่านที่ได้ศึกษาทางอนุกรมวิธาน	37
10	DPPH scavenging activity ของพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 20 ชนิด โดยแสดงอยู่ในค่า EC_{50}	38
11	DPPH scavenging activity (%) ของพืชอาหารพื้นบ้านชนิดต่างๆ	92
12	Superoxide anion scavenging activity (%) ของพืชอาหารพื้นบ้านชนิดต่างๆ	105
13	Hydrogen peroxide scavenging activity (%) ของพืชอาหารพื้นบ้านชนิดต่างๆ	113
14	Hydroxyl radical scavenging activity (%) ของพืชอาหารพื้นบ้านชนิดต่างๆ	121

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	พันธะของโมเลกุลออกซิเจน	4
2	ปฏิกิริยา Haber – Weiss cycle	6
3	Asada – Halliwell pathway	12
4	สูตรโครงสร้างหลักของ flavonoid	14
5	เม่า (*Antidesma ghaesembilla* Gaertn.)	39
6	ผลมะปรางอ่อน (*Bouea macrophylla* Griff.)	39
7	ผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides* Lamk.)	40
8	หอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus* Lour.)	40
9	ผักก้านถง (*Colubrina asiatica* Brongn.)	41
10	ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis* (L.f.) Hook.f.)	41
11	ผักฮาก (*Erythropalum scandens* Blume)	42
12	ผักเฮียก (*Ficus infectoria* Roxb.)	42
13	ดอกเพกา (*Oroxylum indicum* (L.) Kurz)	43
14	ผักดีด (*Solanum spirale* Roxb.)	43
15	ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	44
16	ปริมาณ phenolic compounds ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	45
17	ปริมาณ flavonoid ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	46
18	ปริมาณ ascorbic acid ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	47
19	ปริมาณ α-tocopherol ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	48
20	ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัด superoxide anion ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	49
21	ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัด hydrogen peroxide ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	50
22	ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัด hydroxyl radical ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	51
23	ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัด singlet oxygen ของพืชอาหารพื้นบ้านและ	

ภาพที่		หน้า
	ผักเศรษฐกิจ	52
24	Catalse activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	53
25	Ascorbate peroxidase activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	54
26	Glutathione reductase activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	55
27	Superoxide dismutase activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ	56
28	chromatogram ของผักดีดเมื่อวิเคราะห์ปริมาณ α -tocopherol ด้วยเทคนิค HPLC	90
29	chromatogram ของเม่าเมื่อวิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol ด้วยเทคนิค HPLC	90

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กระบวนการออกซิเดชันเป็นกระบวนการที่สำคัญในร่างกายมนุษย์ เช่น การเผาผลาญของเซลล์โดยใช้ออกซิเจน ซึ่งจากกระบวนการดังกล่าวอาจส่งผลให้เกิด reactive oxygen species (ROSs) เช่น superoxide anion ($O_2^{\bullet -}$), hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) เป็นต้น ROSs ที่เกิดขึ้นมีความว่องไวสูงสามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ จึงเป็นการทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์ รบกวนกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ ทำให้สารชีวโมเลกุลดังกล่าวไม่สามารถทำหน้าที่ได้อย่างปกติ เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา เช่น โรคหัวใจ มะเร็ง เบาหวาน ไขมันอุดตันเส้นเลือด ต้อกระจก และการแก่ก่อนวัย นอกจาก ROSs ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการต่าง ๆ ภายในร่างกายแล้ว ROSs อาจถูกชักนำให้เกิดขึ้นจากปัจจัยภายนอกอีกด้วย ปัจจัยเหล่านั้นได้แก่ รังสี ควันสูบบุหรี่ และมลภาวะ เป็นต้น ถึงแม้ว่าในร่างกายของคนเราจะมีการผลิต ROSs ออกมาตลอดเวลาแต่ร่างกายของเราก็จะมีกลไกในการป้องกันตัวจากสารเหล่านี้ โดยการสร้างเอนไซม์หลายชนิดออกมาต่อต้าน ทั้งนี้การบริโภคสาร antioxidant จากธรรมชาติก็สามารถส่งเสริมความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ (Halliwell and Gutteridge, 1985)

สาร antioxidant เป็นสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงสามารถยับยั้งและควบคุมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ ซึ่งในปัจจุบันสาร antioxidant มีทั้งสารสังเคราะห์และสารจากธรรมชาติ แต่การใช้สารสังเคราะห์มากเกินไปอาจส่งผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค เนื่องจากอาจเป็นสารที่ทำให้เกิดมะเร็งหรือเป็นอันตรายต่อตับ (Velioglu และคณะ, 1998)

สาร antioxidant จากธรรมชาติส่วนใหญ่ได้มาจากพืชอาหารโดยเฉพาะพืชผักพื้นบ้าน เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) สารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และวิตามินซี (ascorbic acid) เป็นต้น ซึ่งพืชผักพื้นบ้านสามารถหาได้ง่ายและมีราคาถูก แต่ยังไม่เป็นที่นิยมในการบริโภคเท่ากับพืชผักเศรษฐกิจและมีวงจำกัดในการบริโภคเฉพาะพื้นถิ่นเท่านั้น

น่านเป็นจังหวัดหนึ่งทางภาคเหนือของประเทศไทย ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง ในอดีตจังหวัดน่านเคยเป็นส่วนหนึ่งของอาณาจักรล้านนา ยังคงซึ่งศิลปวัฒนธรรมดั้งเดิมของท้องถิ่นและมีความหลากหลายของชนกลุ่มต่าง ๆ แต่ในปัจจุบันความก้าวหน้าทางด้าน

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกำลังดูดกลืนวัฒนธรรมดั้งเดิมไปทีละน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์พืชพื้นบ้านที่นับวันจะเหลือน้อยลงไปทุกที เนื่องจากประชาชนได้หันมาสนใจทำการเพาะปลูกและบริโภคพืชเศรษฐกิจมากกว่าพืชพื้นบ้าน (โครงการวิจัยความหลากหลายและการนำสมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดน่านมาใช้ในกิจการปศุสัตว์, 2549)

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อประเมินความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชพื้นบ้านบางชนิดที่มีการบริโภคในจังหวัดน่าน ซึ่งจะเป็นข้อมูลส่งเสริมการบริโภคและการปลูกพืชผักพื้นบ้าน และช่วยส่งเสริมพืชพื้นบ้านให้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ในขณะเดียวกันก็ถือเป็นการอนุรักษ์พืชอาหารพื้นถิ่นอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อประเมินความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของพืชอาหารพื้นบ้านบางชนิดที่มีการบริโภคในจังหวัดน่าน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบความสามารถในการขจัด reactive oxygen species ในพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่าน เพื่อเป็นแนวทางในการส่งเสริมการเพาะปลูกและบริโภคพืชอาหารพื้นบ้านที่มีตามฤดูกาลและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ และยังเป็นแรงกระตุ้นให้ประชาชนใส่ใจในการอนุรักษ์พันธุ์พืชอาหารพื้นบ้านมากขึ้น

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

1. **อนุมูลอิสระ** (Free radical)

ในร่างกายมนุษย์อนุมูลอิสระเป็นผลจากกระบวนการเมทาบอลิซึมซึ่งจะถูกผลิตขึ้นตลอดเวลาและถูกควบคุมโดยสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย อนุมูลอิสระเป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลชั้นนอกสุด อิเล็กตรอนเดี่ยวนี้ทำให้อนุมูลอิสระมีเสถียรภาพต่ำและว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาสูง จะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบ ๆ โดยดึงหรือให้อิเล็กตรอนแก่โมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียรและเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (โอภา วัชระ-คุปต์ และคณะ, 2549) นอกจากนี้ยังพบว่ามีอนุมูลอิสระบางตัวที่ไม่ว่องไวเนื่องจากมีความเสถียรสูง ดังแสดงในตารางที่ 1 (Papas, 1999)

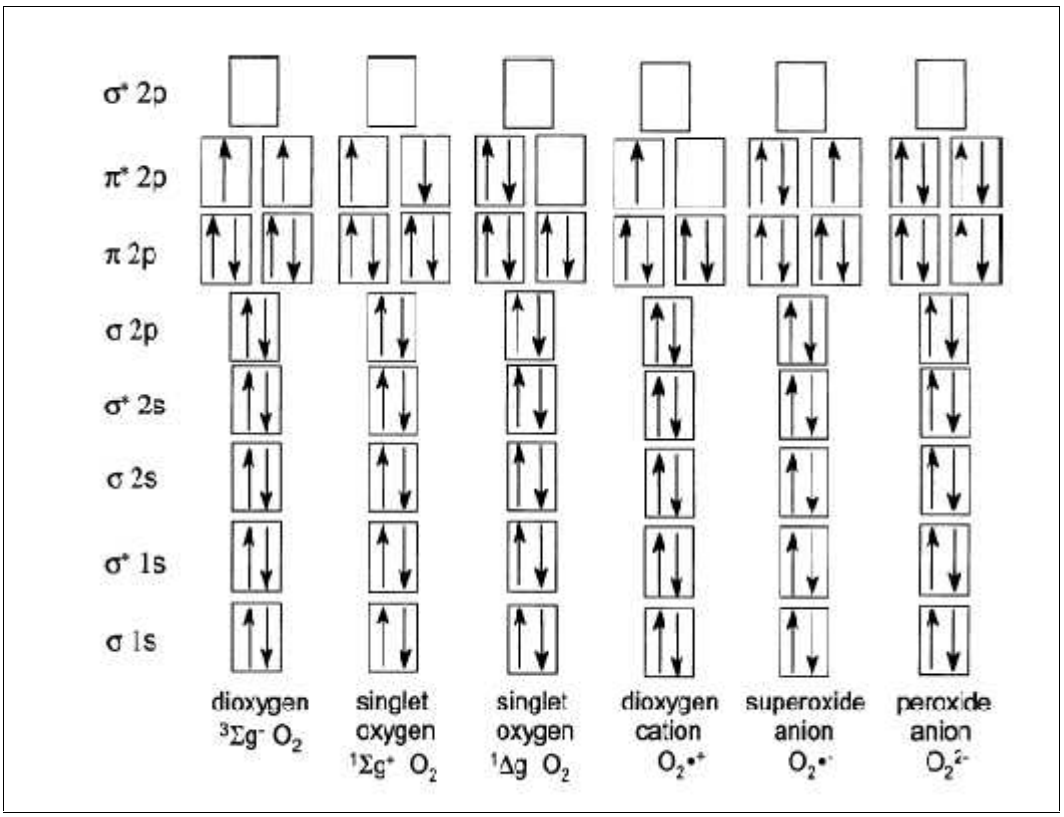
ตารางที่ 1 ตัวอย่าง reactive radicals และ stable radicals

Reactive radicals		Stable radicals	
hydroxyl radical	($HO^{\bullet}$)	nitric oxide	($NO^{\bullet}$)
alkoxyl radical	($LO^{\bullet}$)	vitamin E (tocopheroxyl)	
		vitamin C (dehydroascorbate)	

1.1 Reactive oxygen species (ROS)

โมเลกุลของออกซิเจนมีอิเล็กตรอนเดี่ยวจำนวน 2 อิเล็กตรอน อิเล็กตรอนทั้งสองมีเลขสปินควอนตัมเดียวกันแต่แยกกันอยู่เป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวในแต่ละออร์บิทัล สถานะที่มีพลังงานต่ำสุดและเสถียรที่สุดคือสถานะพื้น (ground state) เมื่อออกซิเจนที่อยู่ในสถานะพื้นได้รับพลังงานเพิ่มขึ้นจะกลายเป็น singlet oxygen มี 2 สถานะ คือ singlet oxygen พลังงานต่ำ ($^1\Delta_g O_2$) และ singlet oxygen พลังงานสูง ($^1\Sigma_g{}^+ O_2$) ซึ่งมีพลังงานสูงกว่าออกซิเจนสถานะพื้นถึง 23.4 และ 37.5 kcal/mol ตามลำดับ singlet oxygen พลังงานสูงจะคงตัวอยู่ได้ในระยะเวลาสั้น ๆ และจะเปลี่ยนเป็น singlet oxygen พลังงานต่ำ

ถ้าให้อิเล็กตรอน 1 อิเล็กตรอนกับออกซิเจนในสถานพื้น อิเล็กตรอนนั้นจะเข้าไปอยู่ใน π^* orbitals ทำให้ singlet oxygen เปลี่ยนเป็น superoxide anion และถ้าเพิ่มอีก 1 อิเล็กตรอนให้แก่ superoxide anion จะได้เป็น peroxide anion (Valko *et al.,* 2004) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 พันธะของโมเลกุลออกซิเจน (Valko *et al.,* 2004)

ROSs มีความสำคัญต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาต่าง ๆ แต่ในทางกลับกัน ROSs ที่มีจำนวนมากเกินสมดุลอาจเข้าไปทำลายสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ เช่น ไขมัน น้ำตาล โปรตีน และ DNA ผลลัพธ์ที่ได้คือสารชีวโมเลกุลเหล่านี้จะเกิด oxidative damage เช่น การเหม็นหืนของอาหาร เอนไซม์ไม่ทำงานตามปกติ สาย DNA ขาดหรือลำดับเบสเปลี่ยนไป เป็นต้น ROSs สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มที่เป็น radical และกลุ่มที่เป็น non-radical ดังตารางที่ 2 (Papas, 1999)

ตารางที่ 2 Reactive oxygen species ชนิดต่าง ๆ

Radicals		Non-radicals	
$O_2^{\bullet -}$	superoxide	H_2O_2	hydrogen peroxide
$HO^{\bullet}$	hydroxyl radical	$^1O_2$	singlet oxygen
$HO_2^{\bullet}$	hydroperoxyl radical	LOOH	lipid hydroperoxide
$L^{\bullet}$	lipid radical	HOCl	hypochlorite
$LO_2^{\bullet}$	lipid peroxyl radical		
$LO^{\bullet}$	lipid alkoxyl radical		
$^{\bullet}NO$	nitric oxide		

2. ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (free radical chain reaction) ซึ่ง Roberfroid และ Calderon (1995) แบ่งกลไกในการเกิดปฏิกิริยาเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. Initiation step
2. Propagation step
3. Termination step

2.1 Initiation step

เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งในเซลล์สิ่งมีชีวิตอนุมูลอิสระอาจมีสาเหตุการเกิดได้หลายแบบ เช่น

2.1.1 Bond homolysis

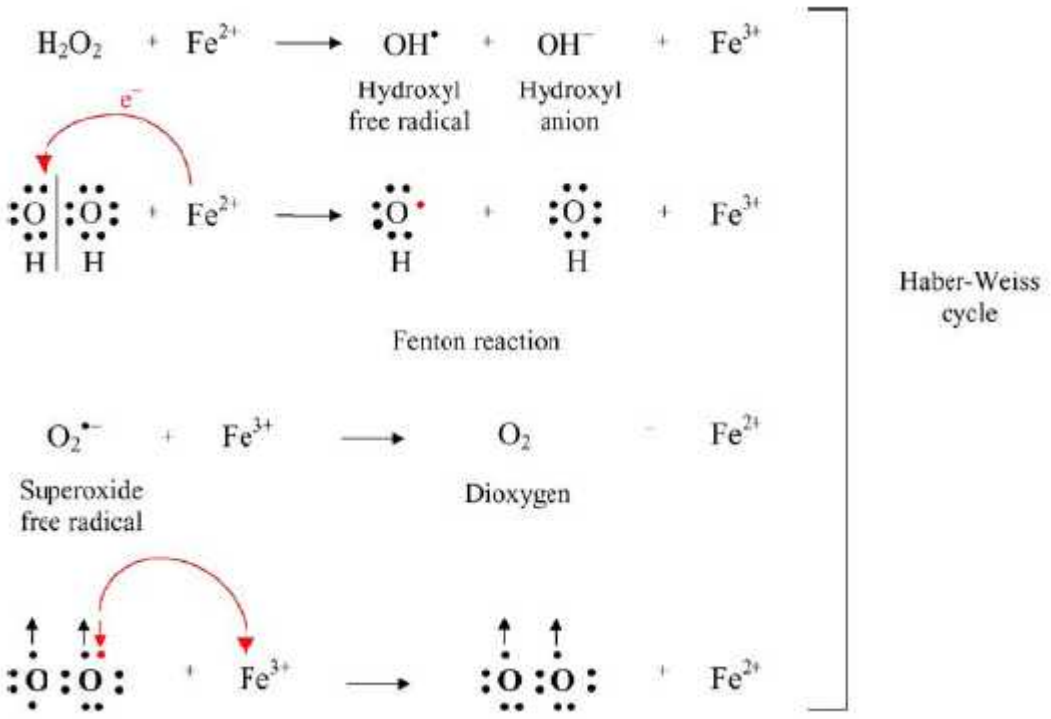
โมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มี valence electrons เป็นจำนวนคู่ ในทางทฤษฎีสามารถเกิดเป็นอนุมูลอิสระได้ 2 โมเลกุล เช่น พันธะโควาเลนท์ในโมเลกุลสามารถแตกออกเป็น 2 โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว ทั้งสองโมเลกุลนี้จะกลายเป็นอนุมูลอิสระ ทั้งนี้ต้องเป็นโมเลกุลที่มีพลังงานระหว่างพันธะที่อ่อนมาก

2.1.2 Photolysis, radiolysis และ sonolysis

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากปัจจัยของแสง รังสี และคลื่นเสียง ซึ่งปัจจัยเหล่านี้เป็นสสารที่มีพลังงานในตัวเอง เมื่อตกกระทบกับโมเลกุลของสารจะทำให้อิเล็กตรอนภายในโมเลกุลอยู่ในสถานะตื่นตัว (excited state) โมเลกุลเหล่านี้ก็จะพยายามทำให้ตัวเองเสถียรโดยการแตกพันธะออกมาจึงเกิดเป็นอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเช่น การแตกพันธะของโมเลกุลเนื่องจากปัจจัยของแสง เช่น แสง ultraviolet ทำให้เกิดการแตกพันธะของ hydrogen peroxide (H_2O_2) กลายเป็น hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$)

2.1.3 Redox reactions

ปฏิกิริยารีดอกซ์ของโลหะทรานซิชัน เช่น Fe และ Cu จัดเป็นสาเหตุที่สำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยาระหว่าง H_2O_2 และไอออนเหล็ก (Fe^{2+}) ผลผลิตที่ได้คือ $HO^{\bullet}$ และ Fe^{3+} โดยไอออนของโลหะเปรียบเสมือนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์ หรือเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Haber-Weiss cycle ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ปฏิกิริยา Haber – Weiss cycle (Carney *et al*., 2008)

2.2 Propagation step

เป็นขั้นตอนเกิดต่อจากขั้น initiation step โดยอนุมูลอิสระที่เกิดจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นและเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่และดำเนินต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ เกิดอนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลา กลไกการเกิดปฏิกิริยาในขั้นตอนนี้มี 4 แบบ คือ

2.2.1 Atom or group transfer

จัดเป็นกลไกที่พบมากที่สุดใน propagation step โดยอนุมูลอิสระจะไปดึงอะตอมของหมู่ function ของสารอีกโมเลกุลหนึ่งมา ทำให้ตัวเองเสถียรแล้วโมเลกุลที่ถูกดึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระแทน ดังสมการ

$$X^{\bullet} + RH \longrightarrow XH + R^{\bullet}$$

2.2.2 Electron transfer

เป็นกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจาก ($R^{\bullet}$) หรือ ($R^{\bullet-}$) ไปให้สารอื่นที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (non-radical substrate) แล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระ

2.2.3 Addition of radicals

อนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลปกติ ทำให้เกิดเป็นสารโมเลกุลใหม่ที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระ ดังสมการ

$$- (R^{\bullet}) + O_2 \longrightarrow (ROO^{\bullet})$$

2.2.4 **β**-scission

เป็นปฏิกิริยาที่อนุมูลอิสระ 1 โมเลกุลแตกพันธะภายในโมเลกุลออกได้สารใหม่ 2 โมเลกุล ซึ่งมีหนึ่งโมเลกุลเป็นอนุมูลอิสระ ดังสมการ

$$X^{\bullet} \longrightarrow Y^{\bullet} + \text{product}$$

2.3 Termination step

เป็นขั้นตอนที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น มีกลไก 3 ขั้นตอนคือ

2.3.1 Homo-linking and cross-link of radicals

เป็นกลไกที่อนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวมารวมกันเป็นโมเลกุลใหม่ที่มีความเสถียร ถ้าอนุมูลอิสระชนิดเดียวกัน 2 โมเลกุลมารวมตัวกันเรียกว่า homodimer หรืออนุมูลอิสระต่างชนิดกัน 2 โมเลกุลมารวมกันเรียกว่า heterodimer ซึ่งกลไกนี้เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการสร้างสารชีวโมเลกุลที่มีความเสถียรขึ้นมาใหม่ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ไขมัน โปรตีน และ nucleic acid ดังสมการ

$$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow ROOR$$

$$2\ ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOOOR$$

2.3.2 Radical scavenging

เป็นการขจัดอนุมูลอิสระออกไปโดยการทำงานของสาร antioxidant เช่น phenolic compounds ซึ่งให้ hydrogen atom แก่ peroxyl radical $(ROO)^{\bullet}$ ทำให้โมเลกุลของสาร phenolic compounds ถูกเปลี่ยนเป็น phenoxyl radical ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ ต่อมา glutathione (GSH) จะทำหน้าที่เปลี่ยน phenoxyl radical กลับไปเป็น phenolic compounds ดังเดิม

2.3.3 Electron transfer

เป็นการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนระหว่างอนุมูลอิสระชนิดเดียวกัน เช่น $O_2^{\bullet -}$ หรือ $(HO_2)^{\bullet}$ และ $(alkOO)^{\bullet}$ ผลที่ได้รับคือ O_2, H_2O_2 และ alkOOalk ตามลำดับ

3. สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย สามารถจำแนกหน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระได้ 3 ประการ (Papas, 1999) ดังนี้

1. Preventive antioxidants
2. Radical scavenging antioxidants
3. Repair และ *de novo* enzymes

3.1 Preventive antioxidants

จัดได้ว่าเป็นกลไกที่ทำหน้าที่ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ แบ่งออกเป็น 3 ประเภท (ตารางที่ 3-5) ดังนี้

1. Non-radical decomposition ของ hydroperoxide และ hydrogen peroxide
2. Sequestration ของ metal โดย chelation
3. Quenching ของ reactive oxygen species

ตารางที่ 3 Non-radical decomposition ของ hydroperoxide และ hydrogen peroxide

Antioxidants	**หน้าที่**
Catalase	ขจัด hydrogen peroxide $2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$
Glutathione peroxidase	ขจัด hydrogen peroxide และ fatty acid hydroperoxide $H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow 2H_2O + GSSH$ $LOOH + 2GSH \longrightarrow LOH + H_2O + GSSH$
Peroxidase	ขจัด hydrogen peroxide และ lipid hydroperoxide $LOOH + AH_2 \longrightarrow LOH + H_2O + A$ $H_2O_2 + AH \longrightarrow 2H_2O + A$

ตารางที่ 4 Sequestration ของ metal โดย chelation

Antioxidants	**หน้าที่**
Transferrin	ขจัดไอออนเหล็ก
Lactoferrin	ขจัดไอออนเหล็ก
Ceruloplasmin	ขจัดไอออนทองแดง
Albumin	ขจัดไอออนทองแดง

ตารางที่ 5 Quenching ของ reactive oxygen species

Antioxidants	**หน้าที่**
Superoxide dismutase (SOD)	ทำหน้าที่เปลี่ยน $O_2^{\bullet -}$ เป็น H_2O_2 $2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$
Carotenoids	ขจัด singlet oxygen ($^1O_2$)
Vitamin E	ขจัด singlet oxygen ($^1O_2$)

3.2 Radical scavenging antioxidants

ทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระที่จะก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ที่เกิดขึ้น สามารถแบ่งออกเป็นสารที่ละลายน้ำและลายในไขมัน ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ตัวอย่าง Antioxidant ที่ละลายในน้ำและไขมัน

Antioxidant **ที่ละลายในน้ำ**	Antioxidant **ที่ละลายในไขมัน**
Vitamin C	Vitamin E
Uric acid	Ubiquinol
Albumin	Carotenoids

3.3 Repair **และ** *de novo* enzymes

ทำหน้าที่ในการซ่อมแซมและสร้างสารชีวโมเลกุลที่เสียหายจากอนุมูลอิสระขึ้นมาใหม่ สารในกลุ่มนี้คือ DNA repair enzymes, lipase, protease, phospholipase และ transferase เป็นต้น

4. ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic antioxidants) และกลุ่มที่เป็นเอนไซม์ (enzymatic antioxidants)

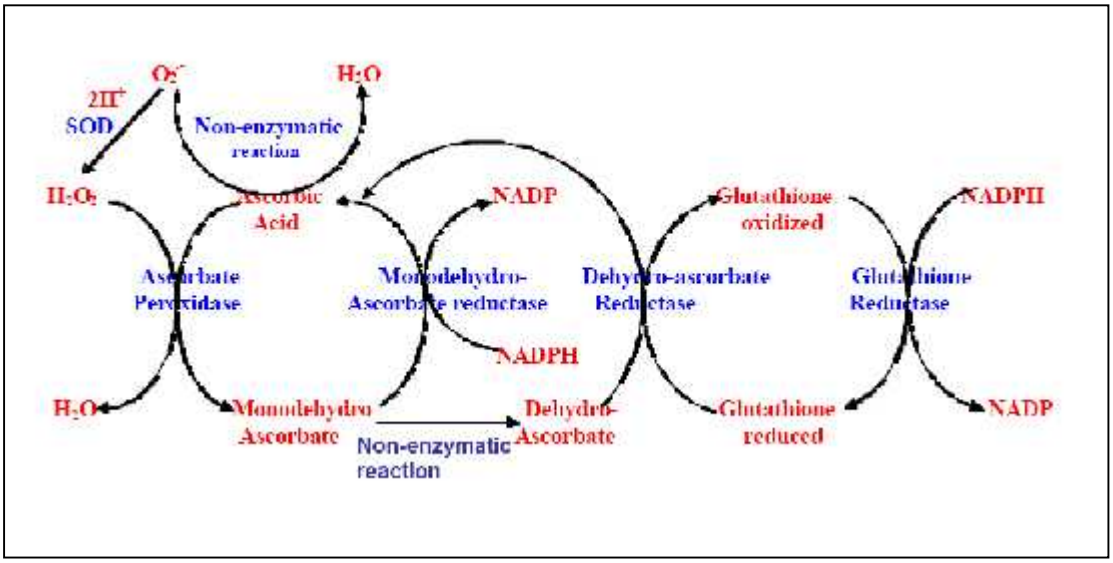
4.1 **กลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์** (non-enzymatic antioxidants) เป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์ มีหน้าที่กำจัดหรือยับยั้งอนุมูลอิสระ เช่น ascorbic acid, α-tocopherol, phenolic compounds และ flavonoid

4.1.1 **วิตามินซี** (ascorbic acid)

วิตามินซี หรือ ascorbic acid เป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลเฮกโซส ละลายน้ำได้ดี มีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน (pK = 4.2) พบมากในผักและผลไม้สด มีบทบาทและหน้าที่สำคัญโดยจะเป็น co-factor ของเอนไซม์และเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถกำจัดหรือยับยั้งอนุมูลอิสระเกือบทุกชนิดแบบไม่จำเพาะเจาะจง และสามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ภายในเซลล์ของพืชและสัตว์บางชนิด ยกเว้นในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมซึ่งพบว่าไม่มีเอนไซม์ gulonolactone oxidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ตัวสุดท้ายในการเปลี่ยน glucose เป็น L-ascorbic acid ดังนั้นสิ่งมีชีวิตดังกล่าวจึงต้องรับวิตามินนี้จากภายนอก (Papas, 1999)

ascorbic acid มีความสำคัญใน ascorbic acid-glutathione cycle ซึ่ง 2 โมเลกุลของ ascorbic acid จะใช้ร่วมกันกับเอนไซม์ APX ในการรีดิวซ์ hydrogen peroxide ให้กลายเป็นน้ำ ซึ่งโมเลกุลของ ascorbic acid จะถูกเปลี่ยนเป็น monodehydroascorbate (MDA) ซึ่งมี life time ที่สั้น จากกระบวนการดังกล่าวทำให้อัตราส่วนของ MDA และ ascorbic acid ไม่สมดุล NADPH จะเป็นตัวที่ให้อิเล็คตรอนแก่ MDA และถูก catalyze ด้วยเอนไซม์ monodehydroascorbate reductase (MDAR) หรือ ferredoxin ใน water-water cycle ใน chloroplast โดยในเซลล์พืช ascorbic acid เป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการขจัด hydrogen peroxide ดังแสดงในภาพที่ 3

นอกจากนี้ ascorbic acid ยังเป็น co-factor ของเอนไซม์อื่น ๆ เช่น proline hydroxylase, lysine hydroxylase และ dopamine beta-monooxygenase ดังแสดงในตารางที่ 7 (Papas, 1999)



ภาพที่ 3 Asada-Halliwell pathway (Arora *et al*., 2002)

ตารางที่ 7 เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ที่มี ascorbic acid เป็น co-factor

Enzymatic reactions	Functions
Proline hydroxylase	Collagen biosynthesis
Procollagen-proline 2-oxogutarate-3-dioxygenase	Collagen biosynthesis
Lysine hydroxylase	Collagen biosynthesis
Gramma-buyrobetaine 2-oxogutarate-4-dioxygenase	Carnitine biosynthesis
Trimethyllysine-2- oxogutarate dioxygenase	Carnitine biosynthesis
Dopamine beta-monooxygenase	Hormone biosynthesis
Peptidyl glycine alpha-amidating monooxygenase	Hormone biosynthesis
4-Hydroxylphenylpyruvate dioxygenase	Tyrosine metabolism

- กลไกการต้านออกซิเดชันของวิตามินซี

วิตามินซีสามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระได้ถึง 2 ตัว โดยจะทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนตัวแรกแก่อนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ กลายเป็น semidehydroascorbate (SDA) หรือ ascorbyl radical หรือ monodehydroascorbate (MDA) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระแต่มีความเสถียรมากเนื่องจาก unpair electron เกิดเรโซแนนซ์เคลื่อนที่ไปรอบ ๆ โมเลกุลทำให้ semidehydroascorbate นั้นมีความเสถียร และสามารถให้อิเล็กตรอนตัวที่ 2 แก่อนุมูลอิสระตัวถัดไปอีกครั้งได้เป็น dehydro-ascorbate (DHA) (Basu *et al*., 1999)

4.1.2 วิตามินอี (α-tocopherol)

Tocopherol เป็นหนึ่งใน lipid soluble antioxidant ทั้งนี้ tocopherol แต่ละโมเลกุลจะประกอบด้วย chroman ring และสาย saturated phytyl chain ซึ่ง tocopherol สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิด ได้แก่ α, β, γ และ δ แต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันตรงตำแหน่งของ methyl group บน chroman ring (Papas, 1999)

Tocopherol มีหน้าที่กำจัดหรือยับยั้ง peroxyl radicals เป็นส่วนใหญ่ซึ่งเกิดขึ้นจากกระบวนการ lipid peroxidation บริเวณ membrane ของเซลล์หรือ organelle, lipoproteins, สมอง และเนื้อเยื่อที่มีองค์ประกอบของไขมัน ทั้งนี้ยังสามารถยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระอื่น ๆ ในchain reaction ด้วย (Papas, 1999)

- กลไกการต้านออกซิเดชันของวิตามินอี

วิตามินอีสามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระได้ 1 ตัว ซึ่งส่วนมากจะเป็น peroxyl radical หรืออนุมูลอิสระอื่น ๆ ให้เปลี่ยนเป็นสารที่เสถียร และตัวของ α-tocopherol จะเปลี่ยนเป็น α-tocopherol radical หลังจากนั้นอิเล็กตรอนของ α-tocopherol radical จะเกิดการ delocalization ทำให้ α-tocopherol radical มีความเสถียรมากขึ้น นอกจากนี้ α-tocopherol ยังทำหน้าที่กำจัด singlet oxygen ($^1O_2$) อีกด้วย (Roberfroid and Calderon, 1995)

4.1.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มี hydroxyl group อย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น สามารถละลายน้ำได้ ในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาล ในรูปของสารประกอบ glycosides และพบได้ใน vacuole สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด (Dimitrios, 2006) มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวก flavonoids (หัวข้อ 4.1.4) (โอภาวัชระ-คุปต์ และคณะ, 2549)

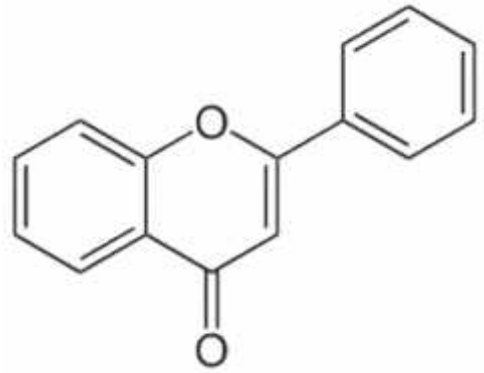
- กลไกการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิล ($^{\bullet}OH$) ที่สามารถให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจน ผลลัพธ์ที่ได้คือตัวของสารประกอบฟีนอลิกเองจะกลายเป็น phenoxy radical ซึ่งจะไปจับคู่กันเองระหว่าง phenoxy radical อีกตัวหนึ่งเพื่อให้โมเลกุลเสถียรและไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปได้ หรือ

อิเล็กตรอนของ phenoxy radical จะเกิดการ delocalization ภายในโมเลกุลทำให้โมเลกุลมีความเสถียรมากขึ้น (Roberfroid and Calderon, 1995)

4.1.4 Flavonoid

Flavonoid เป็นสารประกอบโพลีฟีนอล พบได้ทั่วไปในผักและผลไม้ และพบในแทบทุกส่วนของพืชทั้งใบ ราก เนื้อไม้ เปลือกต้น ดอก ผล และเมล็ด สูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาโวน (flavone) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงกันเป็นระบบ C_6-C_3-C_6 โดยมีวงเบนซีน 2 วงจับกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงสูตรโครงสร้างหลักของ flavonoid (Heim *et al*., 2002)

4.2 กลุ่มที่เป็นเอนไซม์ (enzymatic antioxidants)

4.2.1 Superoxide dismutase (SOD)

SODs เป็นเอนไซม์ catalase ที่เร่งปฏิกิริยาทำให้ superoxide radical ($O_2^{\bullet -}$) เปลี่ยนเป็น hydrogen peroxide (H_2O_2) ดังสมการ

$$2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

SODs สามารถจำแนกได้เป็น 4 class แต่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสามารถจำแนกออกเป็น 3 class ด้วยกันตามเนื้อเยื่อและบริเวณที่พบ (Young and Woodside, 2001)

1. Copper zinc superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD)

พบในพวกเซลล์พืชและเซลล์สัตว์ มี molecular weight ประมาณ 32 kDa พบทั่วไปบริเวณ cytoplasm ประกอบด้วยโปรตีน 2 subunits แต่ละ subunit จะมีอะตอมของทองแดง (Cu) และสังกะสี (Zn) เป็นองค์ประกอบ

2. Manganese superoxide dismutase (Mn-SOD)

พบในเซลล์สัตว์ พืช และแบคทีเรีย มี molecular weight ประมาณ 41 kDa พบที่ mitochondria ประกอบด้วยโปรตีน 4 subunits แต่ละ subunit ประกอบด้วยแมงกานีส (Mn) 1 อะตอม

3. Iron superoxide dismutase (Fe-SOD)

พบใน mitochondria ของ prokaryotes และ protists ส่วนในพืชจะพบบริเวณ plastid

4. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD)

พบในเซลล์สัตว์มีอะตอมของทองแดง (Cu) และสังกะสี (Zn) เป็นองค์ประกอบแต่มีความแตกต่างจาก Cu/Zn-SOD เนื่องจากประกอบไปด้วยอะตอมของทองแดง 4 อะตอม มี molecular weight ประมาณ 135 kDa นอกจากนี้ EC-SOD ถูกสังเคราะห์จาก fibroblast และ endothelium cell

4.2.2 Catalase (CAT)

เป็นเอนไซม์หนึ่งในระบบ antioxidant defense ของเซลล์ ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน hydrogen peroxide (H_2O_2) ให้เป็นน้ำและออกซิเจนมี 2 ขั้นตอน ดังนี้

$$\text{catalase-Fe(II)} + H_2O_2 \longrightarrow \text{compound I}$$

$$\text{compound I} + H_2O_2 \longrightarrow \text{catalase-Fe (III)} + 2H_2O + O_2$$

catalase ประกอบด้วยโปรตีน 4 subunits แต่ละ unit ประกอบไปด้วยหมู่ heam และโมเลกุลของ NADPH ทั้งนี้ catalase เป็นเอนไซม์ที่พบใน peroxisome (Young and Woodside, 2001)

4.2.3 Ascorbate peroxidase (APX)

เป็นเอนไซม์ที่มีหมู่เหล็ก (Fe) เป็น co-factor พบในพืชชั้นสูง ซึ่งจะทำงานร่วมกับ ascorbic acid (AsA) ทำหน้าที่เปลี่ยน hydrogen peroxide ให้เป็น monodehydroascorbate (MDA) และน้ำ พบบริเวณ thylakoid membrane และ stroma ของ chloroplast, mitochondria และ cytosol ในพืช สัตว์ และสาหร่าย (Halliwell and Gutteridge, 1985)

4.2.4 Glutathione reductase (GR)

$$GSSG + NADPH + H^{+} \longrightarrow 2GSH + NADP^{+}$$

เอนไซม์ GR เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหมุนเวียน GSSG หรือ oxidized form ของ glutathione กลับมาใช้ใหม่ โดยจะออกซิไดซ์ NADPH ซึ่งไปรีดิวซ์ GSSG ให้เป็น reduced form (GSH) ซึ่ง GSH นี้ถือว่าเป็นสารที่สำคัญตัวหนึ่งที่ทำงานร่วมกับเอนไซม์ dehydroascorbate reducase (DHAR) เพื่อใช้ในการเปลี่ยนรูป dehydroascorbate (DHA) กลับไปเป็น ascorbic acid เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับ ascorbate peroxidase (APX) GR เป็นเอนไซม์ที่อยู่ใน chloroplast, cytosol, mitochondria, และ peroxisome (Asada, 1992, 1997)

4.3 สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นโปรตีน (Antioxidant proteins) (Ahmad, 1995)

เป็นโปรตีนที่ดักจับไอออนของโลหะที่เป็นตัวการสำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระขึ้นใน Haber-Weiss cycle หรือ Fenton reaction ซึ่งเป็นกระบวนการที่ก่อให้เกิด $HO^{\bullet}$ โดยมีโลหะทรานซิชันเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ทองแดง ($Cu(I) \longrightarrow Cu(II)$) และเหล็ก ($Fe(II) \longrightarrow Fe(III)$)

1. Albumin

เป็นโปรตีนที่เข้าจับกับทองแดงซึ่งเป็นโลหะทรานซิชันที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิด $HO^{\bullet}$ และอนุมูลชนิดนี้อาจก่อให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ขึ้นได้

2. Transferrins

เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่งเหล็กพบในพลาสมา และมีบทบาทเป็นสารต้านอนุมูลอิสระร่วมกับโปรตีน ferritin ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโปรตีน transferrins 1 โมเลกุลสามารถเข้าจับกับโลหะเหล็กได้ 2 โมเลกุล

3. Ferritins

Ferritins หรือ phytoferritins ในพืช เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่สะสมเหล็ก ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะพบ ferritin ใน cytosol และใน serum โดยทำงานร่วมกับโปรตีน transferrins

4.Ceruloplasmin

เป็นโปรตีนที่มีไอออนของทองแดงอยู่ในโมเลกุล มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ ferrioxidase ซึ่งสามารถเปลี่ยน Fe^{2+} ไปเป็น Fe^{3+}

5. สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (Synthetic antioxidant)

สารสังเคราะห์ส่วนใหญ่มักจะถูกออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็ก โดยใช้โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันในธรรมชาติมาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมีและมีฤทธิ์ที่ดีขึ้น ที่นิยมใช้ในอาหาร ได้แก่ butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) และ propyl gallate (PG) นอกจากนี้ยังมีสารสังเคราะห์ชนิดอื่น ๆ trolox, gallic acid และ EDTA ที่มีคุณสมบัติบัติต้านออกซิเดชันได้ ทั้งนี้สารสังเคราห์ต่างมีความเป็นพิษแตกต่างกันตามปริมาณที่ได้รับ (โอภา วัชระ-คุปต์ และคณะ, 2549)

6. การศึกษา antioxidant ด้วยวิธีการต่าง ๆ

6.1 Scavenging of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical ($DPPH^{\bullet}$ assay) (Hou *et al*., 2001)

$DPPH^{\bullet}$ เป็นสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนอิสระอยู่ที่ตำแหน่งของไนโตรเจน และมีความเสถียรจากโครงสร้างเรโซแนนซ์ $DPPH^{\bullet}$ มีลักษณะเป็นของแข็งสีม่วง สามารถใช้ประโยชน์จากการที่ $DPPH^{\bullet}$ จะมีสีที่แตกต่างกันในรูปของอนุมูล ($DPPH^{\bullet}$) จะมีสีม่วง และรูปที่ไม่เป็น radical (DPPH) จะไม่มีสี จึงป็นรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถทำได้สะดวก รวดเร็ว และง่ายต่อการทดสอบเบื้องต้น

ในการทดสอบด้วยสาร $DPPH^{\bullet}$ สามารถทำได้ทั้งในเชิงคุณภาพวิเคราะห์และเชิงปริมาณวิเคราะห์ ซึ่งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ เป็นการวัดความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารแต่ละชนิด โดยนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณหาค่า EC_{50} ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ $DPPH^{\bullet}$ ลดลงครึ่งหนึ่ง (50%)

6.2 Folin–Ciocalteu reducing capacity (FC assay) (Magalhães *et al*., 2008)

ปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย phenolic hydroxyl groups ของ total polyphenols เกิดเป็น tungsten และ molybdenum blue ซึ่งให้สีน้ำเงินและดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่นสูงสุด 765 nm

FC reagent ไม่จำเพาะต่อ phenolic compounds เพราะสามารถถูก reduced โดยสารที่ไม่ใช่ phenolic compounds เช่น สารในกลุ่ม aromatic amines, sulfur dioxide, ascorbic acid, Cu(I), Fe(II) เป็นต้น

6.3 Hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$) scavenging activity (Magalhães *et al*., 2008)

$HO^{\bullet}$ (*in vitro*) เกิดจากปฏิกิริยาในระบบ Fenton reaction เป็นปฏิกิริยาระหว่าง Fe^{3+}, EDTA, H_2O_2 และ ascorbic acid ซึ่ง $HO^{\bullet}$ ที่เกิดขึ้นจะเข้าทำปฏิกิริยากับ 2-deoxy-d-ribose ทำให้น้ำตาล ribose กลายเป็นชิ้น fragment ซึ่งชิ้น fragment เหล่านี้จะทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid ในสภาวะกรดและที่อุณหภูมิสูง

6.4 Superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$) scavenging activity (Magalhães *et al*., 2008)

$O_2^{\bullet-}$ เป็นอนุมูลเริ่มแรกที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งในการศึกษาการขจัดอนุมูลชนิดนี้ *in vitro* $O_2^{\bullet-}$ จะเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร phenazine methosulfate (PMS) และ nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) โดย $O_2^{\bullet-}$ ที่เกิดขึ้นจะรีดิวซ์สาร nitro tetrazolium ได้ product เป็น diformazan (DF) ที่มีสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 560 nm

6.5 Singlet oxygen ($^1O_2$) scavenging activity (Magalhães *et al*., 2008)

$^1O_2$ เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง NaOCl และ H_2O_2 ต่อมา histidine จะทำปฏิกิริยากับ $^1O_2$ ได้เป็น transannular peroxide ซึ่งสามารถฟอกจางสีของ RNO ได้ จึงทำให้สามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 440 nm

7. การศึกษา antioxidant activity ของพืชผักที่มีในประเทศไทย

พืชผักพื้นบ้าน หมายถึง พรรณพืชผักพื้นบ้านหรือพรรณไม้พื้นเมืองที่ชาวบ้านในท้องถิ่นนั้น ๆ นำมาบริโภคเป็นอาหารพื้นบ้านด้วยกรรมวิธีเฉพาะตามวัฒนธรรมการบริโภคของแต่ละท้องถิ่น ซึ่งพืชผักพื้นบ้านมีความสัมพันธ์กับวิถีชีวิตของชาวบ้านมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ไม่เพียงแต่ชาวบ้านในท้องถิ่นจะนำมาบริโภคเป็นพืชอาหารเท่านั้น ยังมีประโยชน์ในด้านยารักษาโรค ด้านประโยชน์การใช้สอย ด้านประเพณีพิธีกรรม-ความเชื่อ และด้านเศรษฐกิจ (ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล, 2541)

Chanwitheesuk, Teerawutgulrag และ Rakariyatham (2005) ได้ศึกษาพืชอาหารในประเทศไทยจำนวน 43 ชนิดที่เก็บจากตลาดในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่าสารสกัด methanol ของผักเซียงดา (*Gymnema inodorum*) มี antioxidant index สูงที่สุด รองลงมาคือ ชะพลู *(Piper sarmentosum*) และสะระแหน่ญี่ปุ่น (*Mentha arvensis*) โดยมีค่าเท่ากับ 14.8 ± 0.98, 13.0 ± 0.84 และ 10.9 ± 0.55 ตามลำดับ ซึ่งพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีการใช้เป็นพืชสมุนไพรมาช้านาน และมีสรรพคุณทางการแพทย์มากมาย เช่น ผักเซียงดาสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ โดยขัดขวางการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสที่ลำไส้เล็ก จึงใช้ในการรักษาผู้ป่วยเบาหวาน ขณะเดียวกันชะพลูเป็นหนึ่งในสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย และสะระแหน่ญี่ปุ่นยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและต้านเชื้อราอีกด้วย

เมื่อศึกษาถึงองค์ประกอบของสารต่าง ๆ ในพืช เช่น วิตามินซี วิตามินอี carotene xanthophylls tannins และ total phenolics พบว่ากระถิน (*Leucaena leucocephala*) มีปริมาณวิตามินซีสูง ตามด้วยขี้เหล็ก (*Cassia siamea*) ซึ่งมีค่า 48.5 ± 0.13 และ 48.4 ± 0.16 mg% ตามลำดับ นอกจากนี้ขี้หล็กยังมีปริมาณ tannin สูงอีกด้วย (110 ± 0.10 mg%) ส่วนผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides*) มีปริมาณ tannins และ total phenolics สูงสุดโดยมีค่าเท่ากับ 484 ± 0.13 และ 1924 ± 0.31 mg% ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณ carotene และ xanthophylls พบมากในบัวบก (*Centella asiatica*) และสะระแหน่ญี่ปุ่น (*Mentha arvensis*) ตามลำดับ โดยที่บัวบกมีปริมาณ carotene เท่ากับ 12.8 ± 0.04 mg% และสะระแหน่ญี่ปุ่นมีปริมาณ xanthophylls เท่ากับ 26.5 ± 0.03 mg% (Chanwitheesuk, Teerawutgulrag and Rakariyatham, 2005)

Maisuthisakul, Pasuk และ Ritthiruangdej (2008) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของสาร antioxidant และองค์ประกอบของสารเคมีในพืชบางชนิดของไทยจำนวน 28 ชนิด พบว่าผลของชมพู่น้ำ (*Eugenia siamensis*) มี antiradical activity ($1/EC_{50}$) สูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 5.0 รองลงมาคือติ้วขน (*Cratoxylum formosum*) เท่ากับ 4.4 ทั้งนี้ยังพบอีกด้วยว่าพืชทั้งสองชนิดดังกล่าวมี

ปริมาณ total phenolic compounds เท่ากับ 82.4 และ 63.4 mg GAE/g db ตามลำดับ และปริมาณ flavonoids มีค่าเท่ากับ 44.3 และ 25.5 mg RE/g db ตามลำดับด้วยเช่นกัน เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของสาร antioxidant พบว่าปริมาณ total phenolic compounds มีความสัมพันธ์กับปริมาณ total flavonoids (R = 0.7) เนื่องจาก flavonoid เป็น subset ของ phenolic compounds

Nanasombat และ Teckchuen (2009) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ต้านออกซิเดชันและต้านมะเร็งของพืชพื้นบ้านไทย 20 ชนิด พบว่า ผักไผ่ (*Polygonum odoratum*) มี antioxidant activity สูงที่สุดจากการศึกษาด้วยวิธี DPPH scavenging assay มีค่า EC_{50} เท่ากับ 315.4 µg extract/mg DPPH และพบว่ามีปริมาณ phenolic compounds สูงที่สุดด้วยเช่นกัน โดยมีค่าเท่ากับ 52 µg GAE/mg dry extract เมื่อศึกษาด้วยวิธี HPLC analysis พบว่าผักไผ่มีสาร quercetin, rutin, catechin, isorhamnetin และ kaempferol โดยมีปริมาณ rutin สูงสุดเท่ากับ 3.77% (w/w dry extract) ทั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดจากผักไผ่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ได้ โดยมีค่า IC_{50} เท่า 6.01 µg/ml นอกจากนี้ผักไผ่ยังมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น *Bacillus cereus*, *Enterobacter coli*, *Literia monocytogenes* และ *Stephylococcusaureus* เป็นต้น

Phomkaivon และ Areekul (2009) ได้ศึกษา antioxidant activity ของพืช 20 ชนิดที่เก็บตัวอย่างมาจากดอยอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าสารสกัด 80% ethanol ของมังตาน (*Schima wallichii* (DC.) Korth.) และผักติ้ว (*Cratoxylum cochinchinense* (Lour.) Blume) มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุดในพืชที่ศึกษาทั้งหมด มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.08 ± 0.00 และ 0.09 ± 0.00 mg dry basis ตามลำดับ ทั้งนี้ยังได้ทำการศึกษา antioxidant activity ด้วยวิธี Trolox equivalent antioxidant capacity (*TRAC*) และ Ferric-reducing antioxidant power (*FRAP*) ซึ่งให้ผลลัพธ์เหมือนกับวิธี DPPH assay นอกจากนี้ยังพบว่าดอกของผักติ้วมีปริมาณ phenolic compounds สูงที่สุดอีกด้วย (720.2 ± 23.5 mg GAE/g dry basis)

Makchuchit และ Itharat (2011) ได้ศึกษาเรื่อง antioxidant และการยับยั้ง activity ของ nitric oxide ในพืชที่ใช้เป็นยาจำนวน 19 ชนิด พบว่าสารสกัด ethanol ของกานพลู (*Syzygium aromaticum*), พิกุล (*Mimusops elengi*), สารภี (*Mammea siamensis*) และลูกจันทน์เทศ (*Myristica fragrans*) มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงสุดโดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 6.57, 8.19, 8.54 และ 11.38 µg/ml ตามลำดับ โดยพืชเหล่านี้มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ที่สูงกว่า BHT ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 11.66 µg/ml ส่วนการศึกษาการยับยั้ง nitric oxide พบว่าสาร

สกัด ethanol ของพืช 5 ชนิดคือ โกฐเขมา (*Atractylodes lancea*) ตังกุย (*Angelica sinensis*) ยี่หร่า (*Cuminum cyminum*) โกฐจุฬาลำพา (*Artemisia annua*) และบุนนาค (*Mesua ferrea*) มีความสามารถในการยับยั้งสูง โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 9.70, 12.52, 13.56, 17.06, 26.23 µg/ml ตามลำดับ

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

1. วัสดุอุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์สำหรับเก็บพืชตัวอย่างและการระบุชนิดพืช

- แผงอัดพร้อมเชือกรัด
- กระดาษลูกฝูกแข็ง
- กระดาษหนังสือพิมพ์
- 70% alcohol
- ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างดอง
- กล้องจุลทรรศน์สามมิติ (stereo microscope)
- จานแก้ว
- เข็มเขี่ย
- คีมคีบ
- ใบมีดโกน

1.2 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ antioxidant activity

- เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vaccuum evaporator, EYELA, Japan)
- 96 well plate
- micro-titer plate reader
- เครื่องชั่งไฟฟ้า
- กระดาษกรอง Whatman No.1 และ 42
- แผ่นอลูมิเนียมฟอยล์
- กระบอกตวง
- ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร
- ขวดโหลแก้ว
- โกร่งบด
- syringe nylon filter

2. **สารเคมี** (Analytical grade)

2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ DPPH scavenging activity

- Absolute ethanol
- 95% ethanol
- DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)
- Methanol

2.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compounds

- Folin-Ciocalteu's reagent
- Gallic acid
- Sodium carbonate (Na_2CO_3)

2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ flavonoid

- Aluminium chloride ($AlCl_3$)
- Rutin

2.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ ascorbic acid

- Acetic acid
- Ascorbic acid
- 2,6-dichlorophenolindolphenol (DCIP)
- Dinitrophenylhydrazine (DNPH)
- Metaphosphoric acid
- Sulfuric acid
- Thiourea

2.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol

- Hexane
- Iso-propyl alcohol
- α-tocopherol

2.6 **สารเคมีสำหรับวิเคราะห์** superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$) scavenging activity

- Nitro blue tetrazolium (NBT)
- Phenazine methosulfate (PMS)
- Phosphate buffer
- Reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH)

2.7 **สารเคมีสำหรับวิเคราะห์** hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging activity

- Hydrogen peroxide (H_2O_2)
- Phosphate buffer

2.8 **สารเคมีสำหรับวิเคราะห์** hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$) scavenging activity

- Ascorbic acid
- 2-deoxy-2-ribose
- Ferric chloride ($FeCl_3$)
- Ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA)
- Hydrogen peroxide (H_2O_2)
- KH_2PO_4-KOH

2.9 **สารเคมีสำหรับวิเคราะห์** singlet oxygen ($^1O_2$) scavenging activity

- Histidine
- Hydrogen peroxide (H_2O_2)
- N,N-dimethyl-4-nitroaniline (RNO)
- Phosphate buffer
- Sodium hypochlorite (NaOCl)

2.10 **สารเคมีสำหรับวิเคราะห์** enzyme activities

- Ascorbic acid
- Bovine serum albumin (BSA)
- Dithiothreitol (DTT)

- Ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA)
- Glutathione (oxidized form)
- Hydrogen peroxide (H_2O_2)
- β-NADPH
- Phenylmethanelsulfonyl fluoride (PMSF)
- Phosphate buffer
- Poly(vinylpolypyrrolidone) (PVPP)

3.วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเก็บพืชตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างพืชพื้นบ้านที่พบในจังหวัดน่าน จากตลาดและจากบริเวณที่พักอาศัยของชาวบ้าน บันทึกส่วนที่ใช้บริโภค และวิธีการใช้บริโภค เก็บรักษาตัวอย่างพืชอาหารในน้ำแข็งแห้งระหว่างการขนส่งจากจังหวัดน่านมายังห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ส่วนผักเศรษฐกิจ ได้แก่ ผักกาดขาว (*Brassica rapa* L.) ผักคะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey) และผักบุ้ง (*Ipomcea aquatica* Forsk) เก็บตัวอย่างจากตลาดสดในกรุงเทพฯ ตัวอย่างพืชทั้งหมดถูกเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 °C จนทำการวิเคราะห์

ระบุชนิดตัวอย่างพืชอาหารพื้นบ้านด้วยวิธีทางพฤกษอนุกรมวิธานจากเอกสารต่าง ๆ ได้แก่ Flora of Thailand และ Flora of China จัดทำพันธุ์ไม้ตัวอย่างรักษาสภาพและเก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืช ศ.กสิน สุวตะพันธุ์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การสกัดสารสกัดหยาบจากพืช

สกัดสารสกัดหยาบจากส่วนของพืชที่ใช้ในการบริโภค โดยแช่ตัวอย่างพืช 2 g ใน ethanol 15 ml ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary vaccuum evaporator ส่วนกากที่เหลือจากการกรองจะนำมาสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายเดิมอีก 3 ครั้ง โดยจะนำพืชแต่ละชนิดมาสกัด ชนิดละ 5 ตัวอย่าง ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้ทั้งหมดและเก็บไว้ที่ -20 °C สารสกัดหยาบที่ได้จะนำไปวิเคราะห์ความสามารถในการขจัดอนุมูลชนิดต่าง ๆ ปริมาณ phenolic compound และปริมาณ flavonoid

3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity (Hanato *et al*., 1988)

1. เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.4 mM ใน methanol เก็บไว้ในที่มืดโดยใช้แผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ห่อหุ้มและแช่ในตู้เย็น

2. เตรียมสารสกัดหยาบจากพืชจากข้อ 3.1 ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ผักปู่ย่าเตรียมให้มีความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 และ 5.0 µg/ml ผลมะปรางอ่อนเตรียมให้มีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45และ 50 µg/ml และพืชชนิดอื่น ๆ เตรียมให้มีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 µg/ml ด้วย absolute ethanol

3. ปิเปตสารสกัดหยาบจากพืชความเข้มข้นต่าง ๆ ลงใน 96 well plates ในปริมาตร 100 µl/ well

4. เติมสารละลาย DPPH ลงใน 96 well plates ที่มีสารสกัดหยาบความเข้มข้นต่าง ๆ ในปริมาตร 100 µl/ well

5. เก็บ 96 well plates ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที

6. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ 517 nm ด้วยเครื่อง mico-plate reader

7. บันทึกค่าที่ได้เพื่อนำไปคำนวณค่า % DPPH radical scavenging

$$\% \text{ DPPH radical scavenging} = [1-(A_{sample} / A_{control})] \times 100$$

8. นำค่า % radical scavenging ที่ได้ไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า EC_{50}

A_{sample}= ค่า absorbance ของ DPPH ที่มีสารสกัดหยาบของพืชความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

$A_{control}$ = ค่า absorbance ของ DPPH ที่ไม่มีสารสกัดหยาบของพืช

9. คัดเลือกพืชตัวอย่างที่มีค่า EC_{50} ต่ำสุดอย่างน้อย 10 ชนิดเพื่อวิเคราะห์ในขั้นต่อไป

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compounds (Slinkard and Singleton,1977)

1. เตรียมสารสกัดหยาบของพืชจากข้อ 3.1 ให้มีความเข้มข้น 25 mg/ml ด้วย absolute ethanol

2. ปิเปตสารละลายที่ได้ลงไปหลอดทดลอง 100 µl

3. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 4.5 ml ลงไป

4. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent (dilute 3 เท่า) ปริมาตร 100 µl

5. เติมสารละลาย 2% Na_2CO_3 ปริมาตร 300 µl

6. เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง

7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 670 nm

8. คำนวณหาปริมาณ phenolic compounds ในสารสกัดหยาบโดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณ flavonoid (Djeridane *et al*., 2006)

1. เตรียมสารสกัดหยาบของพืชจากข้อ 3.1 ให้มีความเข้มข้น 5 mg/ml ด้วย absolute ethanol

2. ปิเปตสารละลายที่ได้ลงใน 96 well plates 100 µl

3. เติมสารละลาย 2% $AlCl_3$ ปริมาตร 100 µl ลงไป เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 433 nm

5. คำนวณหาปริมาณ flavonoid ในสารสกัดหยาบโดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย rutin

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณ ascorbic acid (Shin *et al*., 2007)

1. บดพืชตัวอย่าง 1 g ในโกร่งที่มี liquid nitrogen

2. เติม 6% metaphosphoric acid ใน 2 M acetic acid 30 ml

3. centrifuge ที่ 17,600 x *g* ที่ 4 ˚C เป็นเวลา15 นาที

4. นำส่วนใส 1 ml เติมด้วยสารละลาย 0.2% 2,6-dichlorophenolindolphenol (DCPIP) 50 µl จากนั้นนำไป incubate ในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

5. เติม 2% thiourea ใน 5% metaphosphoric acid 1 ml และ 2% dinitrophenyl-hydrazine (DNPH) ใน 4.5 M sulfuric acid 0.5 ml และ incubate ที่ 60 ˚C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

6. หยุดปฏิกิริยาโดยการแช่ในน้ำแข็งและเติม 90% sulfuric acid (เย็น) ลงไปช้า ๆ

7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm

8. คำนวณหาปริมาณ ascorbic acid ของพืชตัวอย่างโดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย ascorbic acid

3.7 การวิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol (Ghimire *et al*., 2011)

วิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol ด้วยเทคนิค HPLC โดยการดัดแปลงวิธีของ Ghimire และคณะ (2011) สกัดตัวอย่างพืช 1 g โดยแช่ใน 80% methanol ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.42 นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator จากนั้นเติม n-hexane และ iso-propyl alcohol อัตราส่วน 98.5 : 1.5 ปริมาตร 1 ml ลงไป นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

HPLC conditions:

HPLC Column	:	Phenomenex C18 column (3.9 x 300 mm)
mobile phase	:	acetonitrile/water
		acetonotrile 95-100%, 10 min
		acetonitrile 100%, 10 min
flow rate	:	1 ml/min
injection volume	:	20 µl
wavelength detection	:	295 nm

3.8 การวิเคราะห์ความสามารถในการขจัดอนุมูล superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$) (Hazra *et al*., 2008)

reaction mixture 200 µl ประกอบด้วยน้ำกลั่น 20 mM Phosphate buffer (pH 7.4), 73 µM nicotinamide adenine dinucleotide (NADH), 50 µM nitro blue tetrazolium (NBT), 15 µM phenazine methosulfate (PMS) และสารสกัดของพืชจากข้อ 3.1 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 µg/ml) เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 nm บันทึกค่าที่ได้เพื่อนำไปคำนวณค่า % superoxide anion scavenging จากสมการ และนำค่า % superoxide anion scavenging ที่ได้ไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า EC_{50}

$$\% \text{ superoxide anion scavenging} = [1-(A_{sample} / A_{control})] \times 100$$

A_{sample}= ค่า absorbance ของ reaction ที่มีสารสกัดหยาบของพืชความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

$A_{control}$ = ค่า absorbance ของ reaction ที่ไม่มีสารสกัดหยาบของพืช

3.9 การิเคราะห์ความสามารถในการขจัด hydrogen peroxide (H_2O_2) (Ozsoy *et al*., 2008)

reaction mixture 2 ml ประกอบด้วย 0.1 ml สารสกัดจากพืชในข้อ 3.1 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 µg/ml) 0.7 ml 50 mM phosphate buffer (pH 7.4) และ 1.2 ml 2 mM hydrogen peroxide เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 230 nm บันทึกค่าที่ได้เพื่อนำไปคำนวณค่า % hydrogen peroxide scavenging จากสมการ และนำค่า % hydrogen peroxide scavenging ที่ได้ไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า EC_{50}

$$\% \text{ hydrogen peroxide scavenging} = [1-(A_{sample} / A_{control})] \times 100$$

A_{sample}= ค่า absorbance ของ reaction ที่มีสารสกัดหยาบของพืชความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

$A_{control}$ = ค่า absorbance ของ reaction ที่ไม่มีสารสกัดหยาบของพืช

3.10 การวิเคราะห์ความสามารถในการขจัดอนุมูล hydroxyl radical ($^{\bullet}OH$) (Hazra *et al*., 2008)

reaction mixture 0.5 ml ประกอบด้วย 2.8 mM 2-deoxy-2-ribose, 20 mM KH_2PO_4-KOH buffer (pH7.4), 100 µM $FeCl_3$, 100 µM EDTA, 1.0 mM H_2O_2, 100 µM ascorbic acid และ 0.1 ml สารสกัดจากพืชที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 µg/ml) เขย่าให้เข้ากันนำไปบ่มที่ 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม 2.8% TCA 1 ml และ 1% TBA ใน 50 mM NaOH 1 ml นำไป incubate ที่ 90 $^{\circ}$C เป็นเวลา 15 นาทีแล้วทำให้เย็นลง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 nm บันทึกค่าที่ได้เพื่อนำไปคำนวณค่า % hydroxyl radical scavenging จากสมการ และนำค่า % hydroxyl radical scavenging ที่ได้ไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า EC_{50}

$$\% \text{ hydroxyl radical scavenging} = [1-(A_{sample} / A_{control})] \times 100$$

A_{sample}= ค่า absorbance ของ reaction ที่มีสารสกัดหยาบของพืชความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

$A_{control}$ = ค่า absorbance ของ reaction ที่ไม่มีสารสกัดหยาบของพืช

3.11 การวิเคราะห์ความสามารถในการขจัด singlet oxygen ($^1O_2$) (Hazra *et al.,* 2008)

reaction mixture 200 µl ประกอบด้วย 45 mM phosphate buffer (pH 7.1), 50 mM histidine, 10 µM RNO และสารสกัดของพืชจากข้อ 3.1 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 และ 500 µg/ml) เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่ 30 °C เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 440 nm บันทึกค่าที่ได้เพื่อนำไปคำนวณค่า % singlet oxygen scavenging จากสมการ และนำค่า % singlet oxygen scavenging ที่ได้ไปสร้างกราฟเพื่อหาค่า EC_{50}

$$\% \text{ singlet oxygen scavenging} = [1-(A_{sample} / A_{control})] \times 100$$

A_{sample}= ค่า absorbance ของ reaction ที่มีสารสกัดหยาบของพืชความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

$A_{control}$ = ค่า absorbance ของ reaction ที่ไม่มีสารสกัดหยาบของพืช

3.12 วิธีการสกัดเอนไซม์จากพืชตัวอย่าง (Beer and Sizer, 1952)

1. บดตัวอย่างพืช 0.1g ให้ละเอียดด้วยโกร่งที่มี liquid nitrogen เติมสารละลายที่ใช้สกัดเอนไซม์ (extraction buffer) 1 ml

สารละลายที่ใช้ในการสกัด (extraction buffer) ประกอบด้วย

- KH_2PO_4 50 mM pH 7.0
- poly(vinylpolypyrrolidone) (PVPP) 1 % (w/v)
- dithiothreitol (DTT) 1 mg/ml
- phenylmethanelsulfonyl fluoride (PMSF) 1 mM

2. บดตัวอย่างพืชและ extraction buffer ให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเทใส่ใน Eppendorf' s tube (ระหว่างรอ centrifuge แช่หลอดบรรจุตัวอย่างพืชในกระบะน้ำแข็ง)

3. Centrifuge ตัวอย่างพืชที่ผ่านการบดโดยใช้ความเร็ว 5,000 – 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส

4. แยกส่วนที่เป็นสารละลายใส (supernatant) ใส่ในหลอดใหม่ เพื่อนำไปใช้ในการหา activity ของเอนไซม์ต่าง ๆ ต่อไป

3.13 การวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ ด้วยวิธี spectrophotometric assay

3.13.1 การวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ catalase (Beers and Sizer , 1952)

การวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ ด้วย spectrophotometer เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดกลืนแสงของ H_2O_2 ที่ A_{240}

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

   A. KH_2PO_4 50 mM pH 7.0

   B. hydrogen peroxide 100 mM (เตรียมใน phosphate buffer)

   C. plant extract จากข้อ 3.12

2. เติมสารละลายที่เตรียมไว้ลงใน quartz cuvette ดังนี้ :

Solutions	Blank (cuvette I) (µl)	Test (cuvette II) (µl)
Phosphate buffer	2,000	1,800
Hydrogen peroxide	-	200
Extract	20	20

อ่านค่า A_{240} ที่ลดลงภายในเวลา 1 นาที

3. คำนวณหาค่า CAT activity โดยเทียบกับ total mg protein

$$\text{Units*/mg protein} = \frac{(\Delta A_{240}/\text{min})1000}{(43.6)(\mu\text{l extract used})(\text{mg protein}/\ \mu\text{l extract})}$$

* 1 Unit ของเอนไซม์ = ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถสลาย H_2O_2 ได้ 1 µmole ภายในเวลา 1 นาที

3.13.2 การวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX)

(Nakano and Asada, 1981)

การวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ APX ด้วย spectrophotometer เป็นการวัดอัตราการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงที่ A_{290}

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

A. KH_2PO_4 50 mM pH 7.0

B. H_2O_2 100 mM (เตรียมใน reagent A)

C. EDTA 500 mM pH 7.0

D. ascorbic acid 10 mM

E. plant extract จากข้อ 3.12

2. เติมสารละลายที่เตรียมไว้ลงใน cuvette ดังนี้ :

Solutions	Blank (cuvette I) (µl)	Test (cuvette II) (µl)
phosphate buffer	1760	1560
hydrogen peroxide	200	200
EDTA	20	20
ascorbic acid	-	200
plant extract	40	40

อ่านค่า A_{290} ที่ลดลงภายในเวลา 1 นาที

3. คำนวณหาค่า APX activity โดยเทียบกับ total mg protein

$$\text{Units*/mg protein} = \frac{(\Delta A_{290\ nm}/\text{min})\ 1000}{(2.8)(\mu\text{l extract used})(\text{mg protein}/\ \mu\text{l extract})}$$

* 1 Unit ของเอนไซม์ = การเร่งปฏิกิริยา oxidation ของ ascorbate ได้ 1 µmole ภายในเวลา 1 min

3.13.3 การวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ glutathione reductase (GR)

(Mavis and Stellwagen, 1968)

การวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ GR ด้วย spectrophotometer เป็นการวัดอัตราการลดลงของการดูดแสงที่ A_{340}

$$\beta\text{-NADPH} + \text{GSSG} \longrightarrow \beta\text{-NADP} + 2\text{GSH}$$

1.เตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

A. 100 mM KH_2PO_4 buffer with 3.4 mM EDTA pH 7.6

B. 30 mM glutathione substrate solution (GSSG)

C. 0.8 mM β-NADPH (prepare in cold reagent A)

D. 1.0% (w/v) bovine serum albumin (BSA) (prepare in cold reagent A)

E. plant extract จากข้อ 3.12

2. เติมสารละลายที่เตรียมไว้ลงใน cuvette ดังนี้ :

Solutions	Blank (cuvette I) (µl)	Test (cuvette II) (µl)
deionized water	680	440
phosphate buffer	1000	1000
glutathione solution	60	60
β-NADPH	-	240
bovine serum albumin	240	240
plant extract	10	10

อ่านค่า A_{340} nm ที่ลดลงภายในเวลา 5 นาที

3. คำนวณหาค่า GR activity โดยเทียบกับ total mg protein

$$\text{Units/mg protein} = \frac{(\Delta A_{340\ nm}/\text{min})\ 1000}{(6.22)(\mu\text{l extract used})(\text{mg protein}/\ \mu\text{l extract})}$$

3.13.4 การวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD)

SOD เป็นเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยน $O_2^{\bullet-}$ ให้กลายเป็น H_2O_2 ได้ สำหรับการวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ SOD ด้วยชุดทดสอบ SOD Kit II มี tetrazolium salt เป็นตัวตรวจจับ $O_2^{\bullet-}$ ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่าง xanthine oxidase และ hypoxanthine และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กับ SOD มาตรฐานจาก SOD Kit II ซึ่ง 1 unit SOD หมายถึง ปริมาณ SOD ที่สามารถเปลี่ยน $O_2^{\bullet-}$ ไปเป็น H_2O_2 ได้ 50%

3.13.5 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณ total protein (ดัดแปลงวิธีจาก Bio-Rad Protein assay)

การวิเคราะห์ปริมาณ total protein สามารถหาได้จาก reaction mixture ที่ประกอบด้วย

1. สารสกัดของพืชตัวอย่างจากข้อ 3.12	10 µl
2. Bio-Rad Protein assay	50 µl
3. น้ำกลั่น	140 µl

ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้เกิดปฏิกิริยา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (BSA)

3.14 วิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้ One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

บทที่ 4
ผลการศึกษา

1. ผลการระบุชนิดพืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่าน

พืชอาหารพื้นบ้านที่ได้เก็บมาจำนวน 20 ชนิดจะถูกจดบันทึกรายละเอียดวิธีการรับประทาน ส่วนที่ใช้รับประทาน และได้ระบุชนิดด้วยวิธีทางพฤกษอนุกรมวิธาน ได้ชื่อวิทยาศาสตร์พืชอาหารพื้นบ้านเหล่านั้น ดังในตารางที่ 8 นอกจากนี้ได้จัดทำตัวอย่างพันธุ์ไม้รักษาสภาพและเก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืช ศ.กสิน สุวตะพันธุ์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีหมายเลขของตัวแทนตัวอย่าง (Herbarium number) แสดงในตารางที่ 9

2. ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH

ผลจากการศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านแต่ละชนิดมีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ที่แตกต่างกัน (ภาคผนวก ข) % DPPH scavenging แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด ค่าที่คำนวณได้จะถูกนำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของพืชอาหารแต่ละชนิดเพื่อหาค่า EC_{50} ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของพืชอาหารพื้นบ้านที่สามารถขจัดอนุมูล DPPH ได้ 50%

ผลจากการคำนวณหาค่า EC_{50} สามารถคัดเลือกพืชที่มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงได้จำนวน 10 ชนิดโดยพืชเหล่านี้มีค่า EC_{50} ต่ำ (ตารางที่ 10) ได้แก่ เม่า (*Antidesma ghaesembilla*) ผลมะปรางอ่อน (*Bouea macrophylla*) ผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides*) หอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus*) ผักก้านถง (*Colubrina asiatica*) ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) ผักฮาก (*Erythropalum scandens*) ผักเฮียก (*Ficus infectoria*) เพกา (*Oroxylum indicum*) และผักดีด (*Solanum spirale*) (ภาพที่ 5-14)

ตารางที่ 8 ส่วนที่ใช้และวิธีการรับประทานพืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่าน

ชื่อไทย	ส่วนที่ใช้	วิธีการรับประทาน
ผักโหม	ยอดอ่อน ใบอ่อน	นำมาต้มหรือลวก รับประทานกับน้ำพริกหรือแกงเลียง
เม่า	ยอดอ่อน ใบอ่อน	แกงใส่เห็ดถอบหรือใส่ในแกงส้ม แกงเลียง เมี่ยง
มะปราง	ผลอ่อน	ผลสดจิ้มกับน้ำจิ้มหวาน
ผักปู่ย่า	ยอดอ่อน ใบอ่อน	ยอดและใบอ่อนรับประทานทานแกล้มกับน้ำพริก
หอมด่วนหลวง	ใบอ่อน	ใบอ่อนรับประทานกับลาบ
ผักก้านถง	ยอดอ่อน ใบอ่อน	แกงใส่ยอดฟักทอง รับประทานแกล้มกับลาบ
ผักกูด	ยอดอ่อน	รับประทานสดหรือลวกเป็นผักจิ้มน้ำพริก ยำ หรือแกงแคร่วมกับผักชนิดต่างๆ
ผักฮ้วนหมู	ดอก	ต้มรับประทานเป็นผักจิ้มร่วมกับน้ำพริก หรือแกงแคร่วมกับผักชนิดอื่นๆ
ผักฮาก	ยอดอ่อน ใบอ่อน	ยอดอ่อนแกงใส่ปลาย่าง ผัดน้ำมันหอย จิ้มน้ำพริก
ผักเฮียก	ยอดอ่อน	ใส่ในแกงส้ม ต้มยำ หรือแกล้มกับลาบ ยำ
ผักขี้ขวง	ต้นอ่อน	ลวกเป็นผักจิ้มน้ำพริก หรือใส่ในแกง
มะนอย	ผลอ่อน	ต้มจิ้มน้ำพริก
คาวตอง	ยอดอ่อน ใบอ่อน	รับประทานสดแกล้มกับน้ำพริก หรือลาบต่าง ๆ
เพกา	ดอก	ใส่ในแกงหน่อไม้
ผักไผ่	ยอดอ่อน ใบอ่อน	รับประทานแกล้มกับลาบ
มันแกว	ยอดอ่อน ใบอ่อน	ลวกเป็นผักจิ้มน้ำพริก หรือใส่ในแกง
ขี้หูด	ฝักอ่อน	รับประทานสดเป็นผักจิ้มน้ำพริก ผัดกับหมู หรือแกงแคร่วมกับผักอื่นๆ
ผักดีด	ยอดอ่อน ใบอ่อน	แกงใส่ขนุน ลวกจิ้มกับน้ำพริก
ผักเผ็ด	ยอดอ่อน ใบอ่อน ดอก	ใส่ในแกงหน่อไม้ แกงอ่อม
ขิง	ยอดอ่อน	ผัดน้ำมันหอย หรือผัดใส่หมู

ตารางที่ 9 พืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่านที่ได้ศึกษาทางอนุกรมวิธาน

ชื่อไทย	**ชื่อวิทยาศาสตร์**	**วงศ์**	**Herbarium number (BCU)**
ผักโหม	*Amaranthus lividus* Hort.Petrop. ex Hook.f.	Amaranthaceae	013550, 013551, 013552
เม่า	*Antidesma ghaesembilla* Gaertn.	Euphobiaceae	013574, 013575
มะปราง	*Bouea macrophylla* Griff.	Anacardiaceae	013562, 013569
ผักปู่ย่า	*Caesalpinia mimosoides* Lamk.	Caesalpiniaceae	013555
หอมด่วนหลวง	*Coleus amboinicus* Lour.	Lamiaceae	013558, 013559, 013560
ผักก้านถง	*Colubrina asiatica* Brongn.	Rhamnaceae	013566, 013567, 013568
ผักกูด	*Diplazium esculentum* (Retz.) Sw.	Athyriaceae	013544
ผักฮ้วนหมู	*Dregea volubilis* Benth. ex Hook.f.	Asclepiadaceae	013585
ผักฮาก	*Erythropalum scandens* Blume	Olacaceae	013576, 013577, 013578
ผักเฮียก	*Ficus infectoria* Roxb.	Moraceae	013556, 013557
ผักขี้ขวง	*Glinus oppositifolius* Aug.DC.	Molluginaceae	013549
มะนอย	*Gymnopetalum cochinchinense* Kurz	Cucurbitaceae	013535, 013536
คาวตอง	*Houttuynia cordata* Thunb.	Saururaceae	013571, 013572, 013773
เพกา	*Oroxylum indicum* (L.) Benth. ex Kurz	Bignoniaceae	013581, 013582
ผักไผ่	*Polygonum odoratum* Lour.	Polygonaceae	013583, 013584
มันแกว	*Pachyrhizus erosus* (L.) Urb.	Fabaceae	013586
ขี้หูด	*Raphanus sativus* L.	Brassicaceae	013548
ผักดีด	*Solanum spirale* Roxb.	Solanaceae	013570
ผักเผ็ด	*Spilanthes acmella* Murray	Asteraceae	013579, 013580
ขิง	*Zingiber officinale* Roscoe	Zingiberaceae	013487

ตารางที่ 10 DPPH scavenging activity ของพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 20 ชนิด โดยแสดงเป็นค่า EC_{50}

ชื่อไทย	EC_{50} of DPPH scavenging activity(µg/ml)
ผักโหม	2430.08 ± 357.57^{f}
เม่า	147.11 ± 12.75^{a}
มะปราง	15.51 ± 0.77^{a}
ผักปู่ย่า	2.95 ± 0.22^{a}
หอมด่วนหลวง	105.93 ±13.10^{a}
ผักก้านถง	239.39 ± 64.60^{a}
ผักกูด	2908.79 ± 272.26^{g}
ผักฮ้วนหมู	371.11 ± 24.07^{ab}
ผักฮาก	296.65 ± 31.21^{a}
ผักเฮียก	137.16 ± 6.51^{a}
ผักขี้ขวง	1541.56 ± 46.50^{e}
มะนอย	3331.35 ± 225.31^{h}
คาวตอง	939.07 ± 121.41^{cd}
เพกา	86.62 ± 6.28^{a}
ผักไผ่	1336.85 ± 11.49^{de}
มันแกว	1481.47 ± 117.79^{e}
ขี้หูด	3802.55 ± 357.72^{i}
ผักดีด	243.49 ± 33.73^{a}
ผักเผ็ด	1368.57 ± 160.27^{de}
ขิง	781.95 ± 12.10^{bc}

EC_{50} คือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระได้ 50% แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ภาพที่ 5 เม่า (*Antidesma ghaesembilla* Gaertn.)

ภาพที่ 6 ผลมะปรางอ่อน (*Bouea macrophylla* Griff.)

ภาพที่ 7 ผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides* Lamk.)

ภาพที่ 8 หอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus* Lour.)

ภาพที่ 9 ผักก้านถง (*Colubrina asiatica* Brongn.)

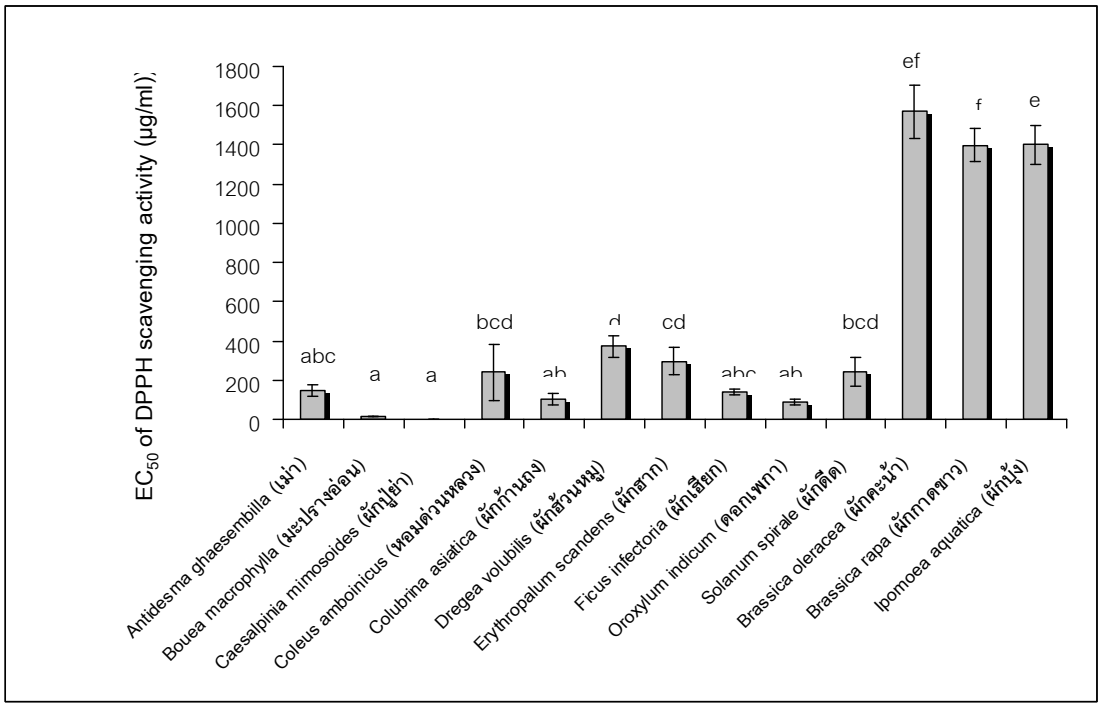
ภาพที่ 10 ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis* (L.f.) Hook.f.)

ภาพที่ 11 ผักฮาก (*Erythropalum scandens* Blume)

ภาพที่ 12 ผักเฮียก (*Ficus infectoria* Roxb.)

ภาพที่ 13 ดอกเพกา (*Oroxylum indicum* (L.) Kurz)

ภาพที่ 14 ผักดีด (*Solanum spirale* Roxb.)

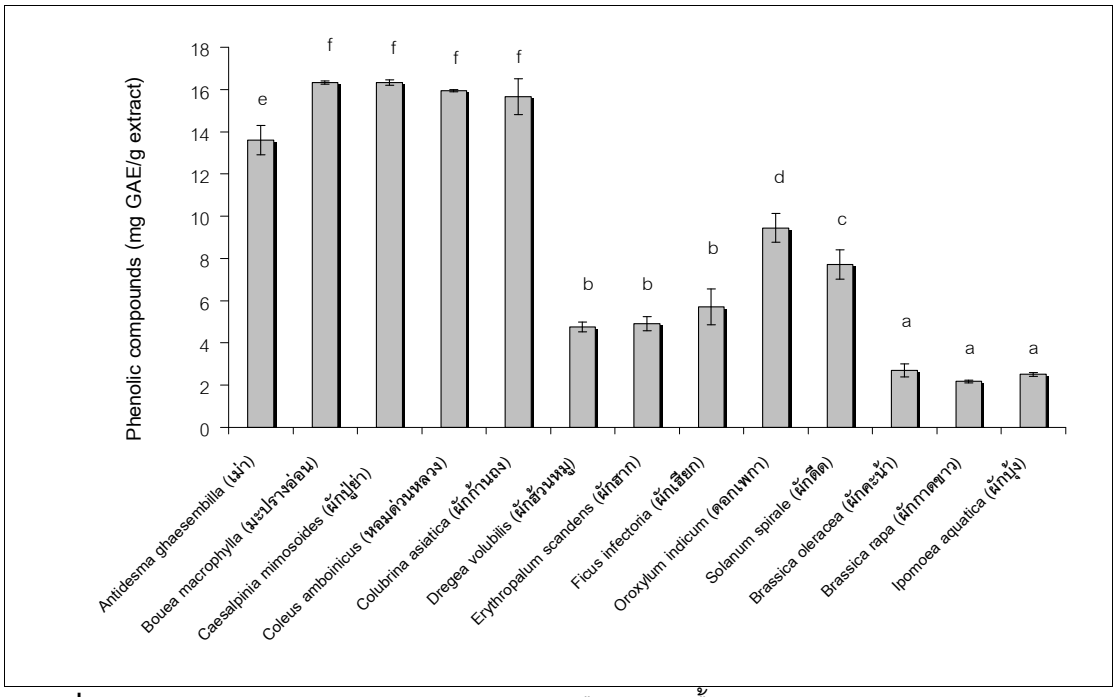


ภาพที่ 15 ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

จากภาพที่ 15 จะเห็นได้ว่า ความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ของพืช 10 ชนิดที่คัดเลือกมาแล้ว พบว่า ผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides*) มีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.95 ± 0.22 µg/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผักปู่ย่ามีความสามารถในการขจัดอนุมูลได้สูงที่สุด รองลงมาคือผลมะปรางอ่อน (*Bouea macrophylla*) มีค่า EC_{50} เท่ากับ 15.51 ± 0.77 µg/ml ขณะที่ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ต่ำที่สุดในพืชอาหารพื้นบ้าน 10 ชนิด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 371.11 ± 24.07 µg/ml

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านทุกชนิดมีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิด โดยมีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงกว่าประมาณ 4-100 เท่า

3. การวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compounds



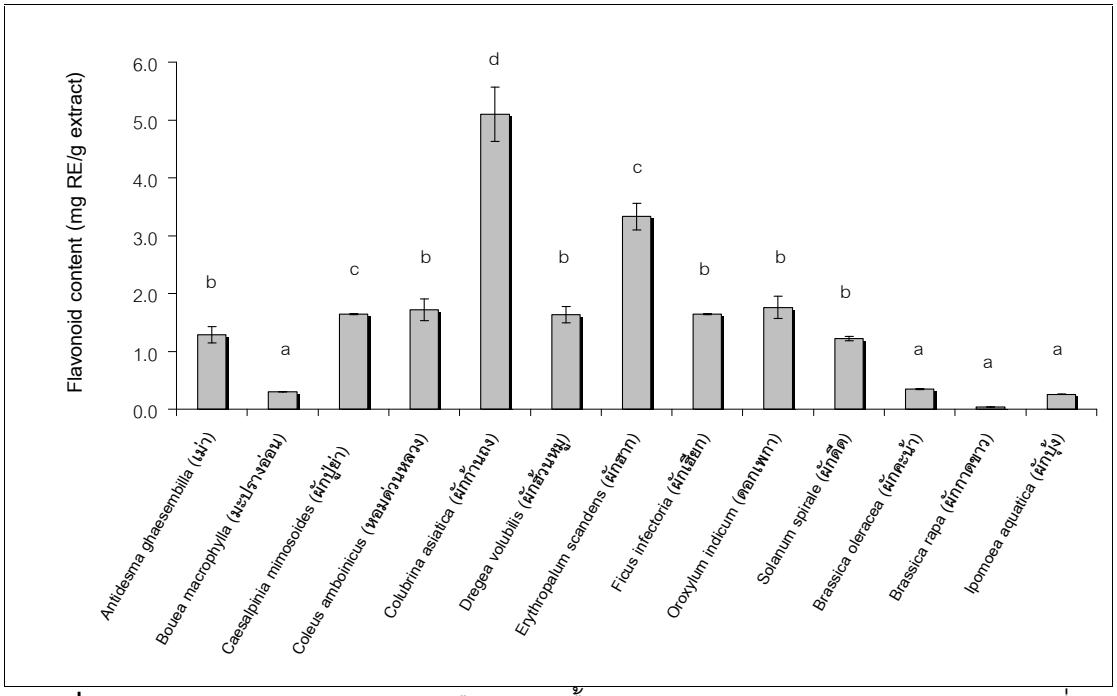
ภาพที่ 16 ปริมาณ phenolic compounds ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

จากการวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compounds ของสารสกัดหยาบพืชอาหารพื้นบ้านจำนวน 10 ชนิด พบว่าปริมาณ phenolic compounds ของพืชอาหารพื้นบ้านอยู่ในช่วง 4.76 – 16.33 mg GAE/g extract ซึ่งพืชที่มีปริมาณ phenolic compounds สูงที่สุดของพืชพื้นบ้านที่ทำการศึกษาคือ มะปราง (*Bouea macrophylla*) ผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides*) หอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus*) และผักก้านถง (*Colubrina asiatica*) มีค่าเท่ากับ 16.33 ± 0.07, 16.33 ± 0.12, 15.94 ± 0.05 และ 15.66 ± 0.84 mg GAE/g extract ตามลำดับ ขณะที่ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) มีปริมาณ phenolic compounds น้อยที่สุดในพืชอาหารพื้นบ้านที่ทำการศึกษา คือมีค่าเท่ากับ 4.76 ± 0.24 mg GAE/g extract

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ phenolic compounds ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านทุกชนิดมีปริมาณ phenolic compounds สูงกว่าผัก

เศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณ phenolic compounds สูงกว่าถึง 2-6 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 16

4. การวิเคราะห์ปริมาณ flavonoid



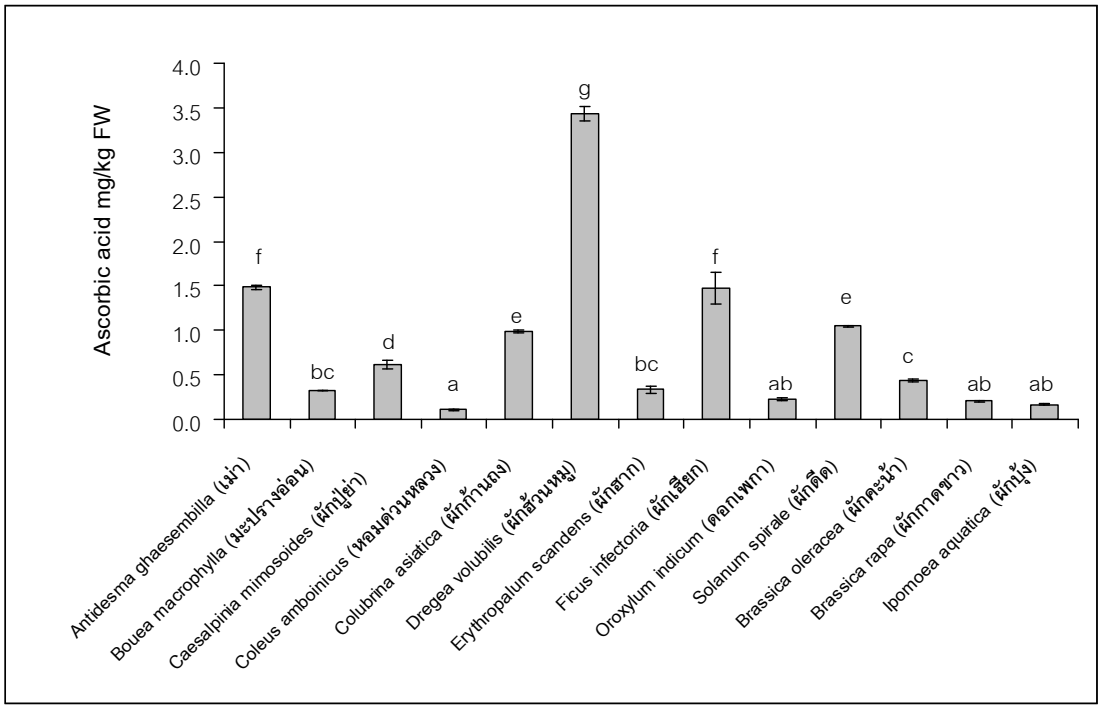
ภาพที่ 17 ปริมาณ flavonoid ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

พืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิด มีปริมาณ flavonoid อยู่ระหว่าง 0.30 – 5.10 mg RE/g extract ซึ่งผักก้านถง (*Colubrina asiatica*) มีปริมาณ flavonoid สูงที่สุดในบรรดาของพืชอาหารพื้นบ้านที่นำมาศึกษาคือ 5.10 ± 0.47 mg RE/g extract รองลงมาคือผักฮาก (*Erythropalum scandens*) และผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides*) มีปริมาณ flavonoid เท่ากับ 3.33 ± 0.23 และ 2.76 ± 0.36 mg RE/g extract ตามลำดับ ขณะที่พืชอาหารพื้นบ้านที่มีปริมาณ flavonoid น้อยที่สุดคือ มะปราง (*Bouea macrophylla*) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.30 ± 0.00 mg RE/g extract

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณ flavonoid ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านเกือบทุกชนิด (ยกเว้นผลมะปรางอ่อน) มีปริมาณ flavonoid

สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณ flavonoid สูงกว่าถึง 3-14 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 17

5. **การวิเคราะห์ปริมาณ** ascorbic acid

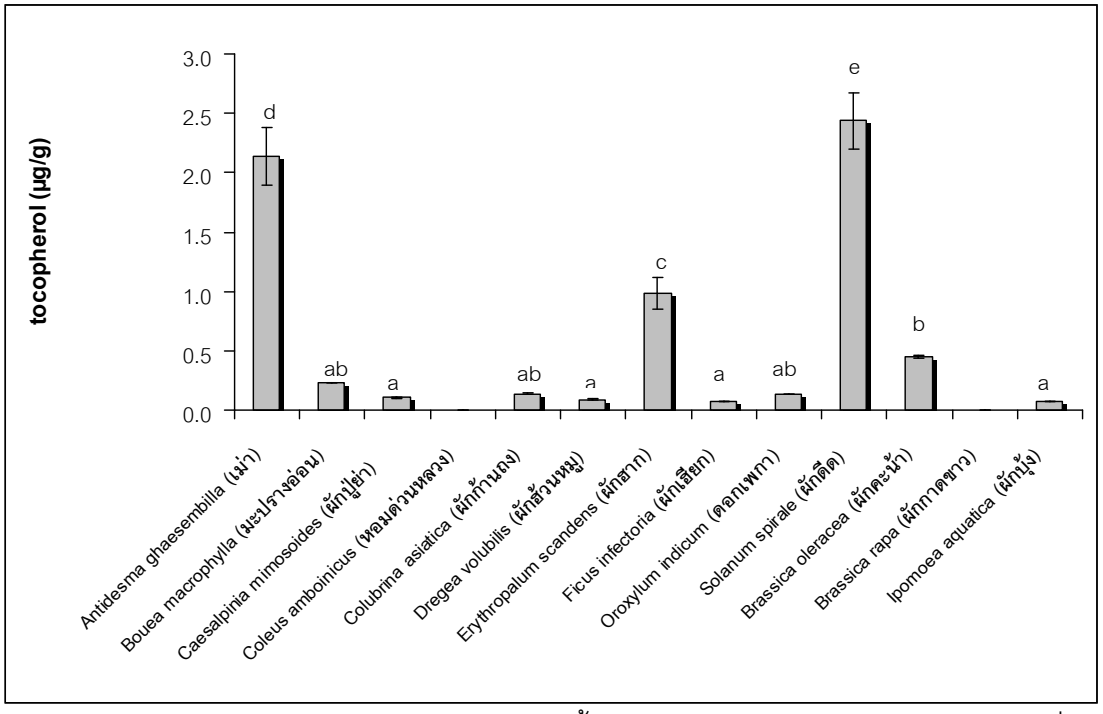


ภาพที่ 18 ปริมาณ ascorbic acid ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

จากการศึกษาพบว่าปริมาณ ascorbic acid ในพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 0.107- 3.435 mg/kg FW ซึ่งผักอ้วนหมู (*Dregea volubilis*) มีปริมาณ ascorbic acid สูงที่สุดในบรรดาพืชอาหารพื้นบ้านที่ศึกษาทั้ง 10 ชนิด คือเท่ากับ 3.435 ± 0.082 mg/kg FW รองลงมาคือ*เม่า (Antidesma ghaesembilla)* และผักเฮียก *(Ficus infectoria)* คือเท่ากับ 1.482 ± 0.018 และ1.479 ± 0.180 mg/kg FW ตามลำดับ ขณะที่หอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus*) มีปริมาณ ascorbic acid ปริมาณน้อยที่สุด คือเท่ากับ 0.107 ± 0.007 mg/kg FW

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณ ascorbic acid ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาทั้ง 3 ชนิดพบว่า มีพืชอาหารพื้นบ้านหลายชนิดที่มีปริมาณ ascorbic acid สูงกว่าผักเศรษฐกิจอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ เม่า ผักปู่ย่า ผักก้านถง ผักฮ้วนหมู ผักเฮียก และผักดีด โดยมีปริมาณ ascorbic acid สูงกว่าถึง 2-8 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 18

6. การวิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol

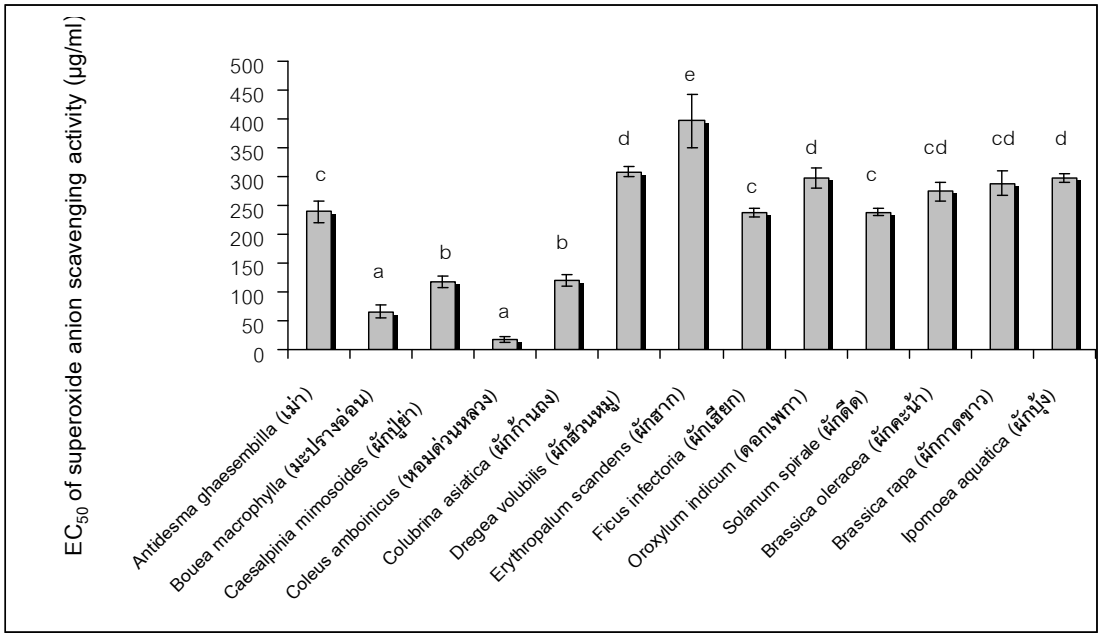


ภาพที่ 19 ปริมาณ α-tocopherol ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

จากการวิเคราะห์พืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดด้วยเทคนิค HPLC (ภาคผนวก) มีปริมาณ α-tocopherol อยู่ในช่วง 0.068 – 2.439 µg/g ซึ่งพืชที่มีปริมาณ α-tocopherol สูงที่สุดในบรรดาพืชพื้นบ้านที่ทำการศึกษาคือ ผักดีด (*Solanum spirale*) โดยมีค่าเท่ากับ 2.439 ± 0.238 µg/g รองลงมาคือเม่า (*Antidesma ghaesembilla*) โดยมีค่าเท่ากับ 2.137 ± 0.248 µg/g ทั้งนี้ยังพบว่าหอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus*) มีปริมาณ α-tocopherol น้อยมากจนไม่สามารถวัดปริมาณได้

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณ α-tocopherol ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา พบว่าเม่า ผักฮาก และผักดีดเป็นพืชอาหารพื้นบ้านที่มีปริมาณ α-tocopherol สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณ α-tocopherol สูงกว่าถึง 2-5 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 19

7. การวิเคราะห์ superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$)scavenging activity

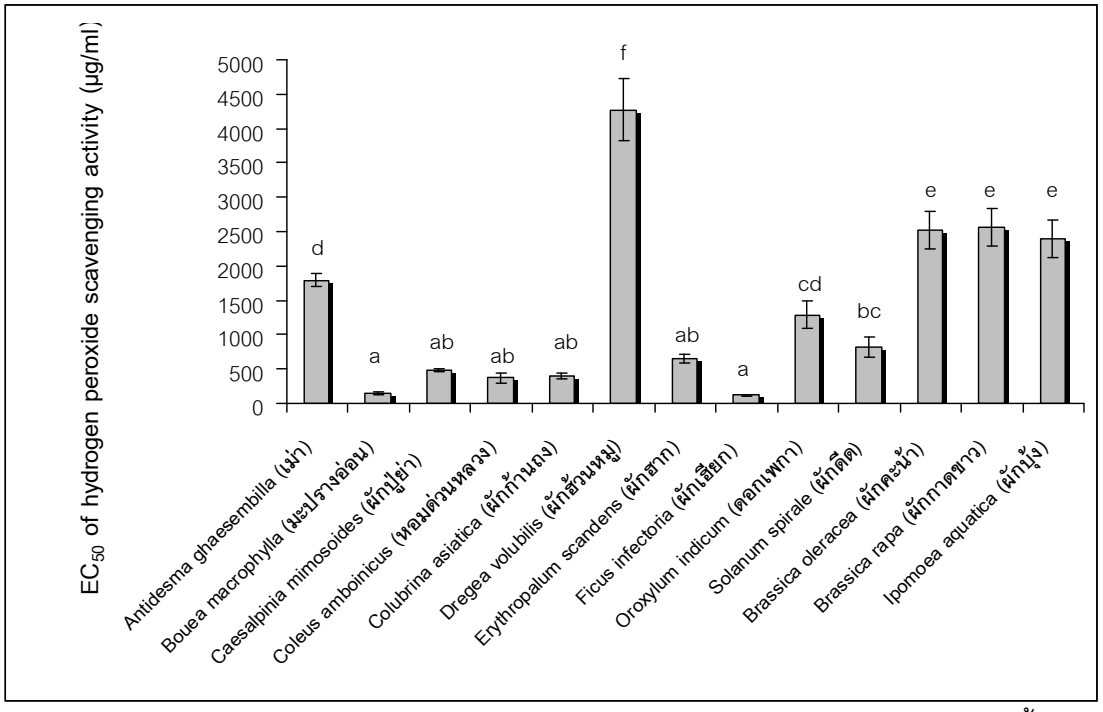


ภาพที่ 20 ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัด superoxide anion ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ความสามารถในการขจัด $O_2^{\bullet-}$ ของพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดจะแปรผันตรงโดยกับความเข้มข้นของสารสกัด เมื่อแสดงอยู่ในรูปค่า EC_{50} ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชที่สามารถขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ ได้ 50% พบว่าหอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus*) มีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 17.34 ± 5.60 µg/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหอมด่วนหลวงมีความสามารถในการขจัด $O_2^{\bullet-}$ ได้สูงที่สุด รองลงมาคือผลมะปรางอ่อน (*Bouea macrophylla*) มีค่าเท่ากับ 66.15 ± 11.70 µg/ml ขณะที่ผักฮาก (*Erythropalum scandens*) ซึ่งมีความสามารถในการขจัด $O_2^{\bullet-}$ ต่ำที่สุดในบรรดาพืชอาหารพื้นบ้านนทั้ง 10 ชนิด คือมีค่า EC_{50} เท่ากับ 396.30 ± 46.36 µg/ml

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างความสามารถในการขจัด $O_2^{\bullet-}$ ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าผลมะปรางอ่อน ผักปู่ย่า หอมด่วนหลวง และผักก้านถงเป็นพืชอาหารพื้นบ้านที่มีความสามารถในการขจัด $O_2^{\bullet-}$ สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า EC_{50} ต่ำกว่าถึง 4-35 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 20

8. **การวิเคราะห์** hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging activity



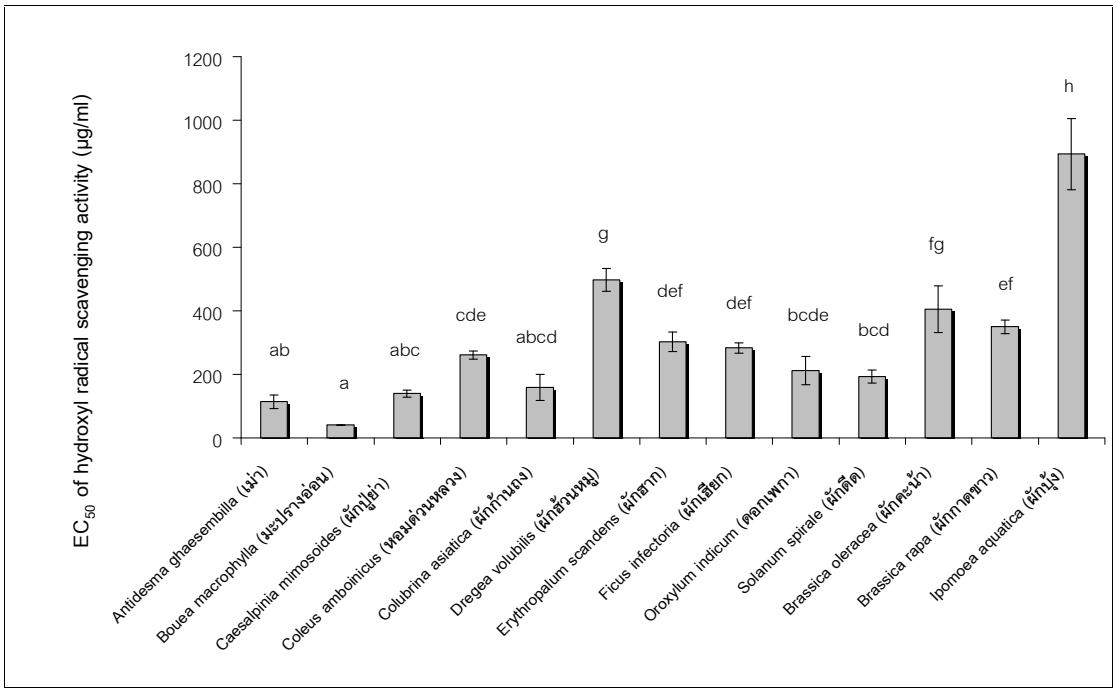
ภาพที่ 21 ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัด hydrogen peroxide ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ความสามารถในการขจัด H_2O_2 ของพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดจะแปรผันตรงโดยกับความเข้มข้นของสารสกัด เมื่อแสดงอยู่ในรูปค่า EC_{50} ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชที่สามารถขจัด H_2O_2 ได้ 50% พบว่า ผักเฮียก (*Ficus infectoria*) มีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 121.42 ± 9.41 µg/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผักเฮียกมีความสามารถในการขจัด H_2O_2 ได้สูงที่สุด รองลงมาคือผลมะปรางอ่อน (*Bouea macrophylla*) มีค่าเท่ากับ 147.71 ± 11.98 µg/ml ขณะที่

ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) มีความสามารถในการขจัด H_2O_2 ต่ำที่สุดในบรรดาพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิด คือมีค่า EC_{50} เท่ากับ 4265.78 ± 451.98 µg/ml

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด H_2O_2 ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านแทบทุกชนิดยกเว้นผักฮ้วนหมู มีความสามารถในการขจัด H_2O_2 สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า EC_{50} ต่ำกว่าถึง 2-18 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 21

9. **การวิเคราะห์** hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$)scavenging activity



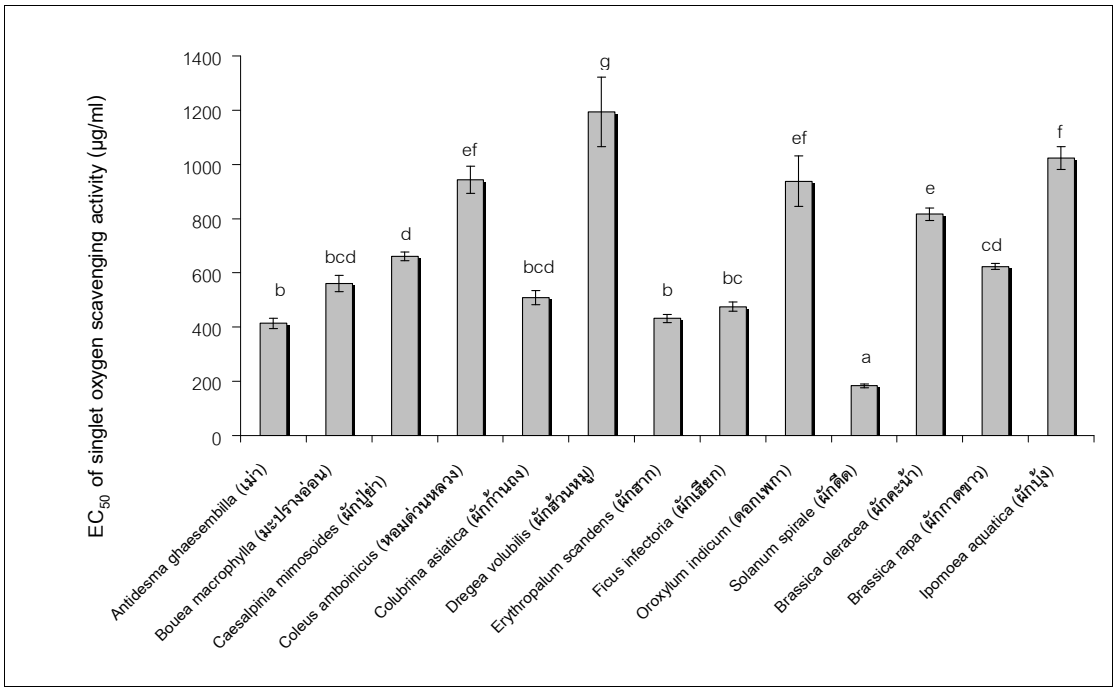
ภาพที่ 22 ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัด hydroxyl radical ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ความสามารถในการขจัด $HO^{\bullet}$ ของพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดจะแปรผันตรงโดยกับความเข้มข้นของสารสกัด เมื่อแสดงอยู่ในรูปค่า EC_{50} ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชที่สามารถขจัด $HO^{\bullet}$ ได้ 50% พบว่า ผลมะปรางอ่อน (*Bouea macrophylla*) มีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด มี

ค่าเท่ากับ 40.19 ± 1.44 µg/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลมะปรางอ่อนมีความสามารถในการขจัด $HO^{\bullet}$ ได้สูงที่สุด รองลงมาคือเม่า (*Antidesma ghaesembilla*) โดยมีค่าเท่ากับ 113.69 ± 20.54 µg/ml ขณะที่ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) มีความสามารถในการขจัด $HO^{\bullet}$ ต่ำที่สุดในบรรดาพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิด คือมีค่า EC_{50} เท่ากับ 497.81 ± 36.19 µg/ml

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด $HO^{\bullet}$ ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านแทบทุกชนิดที่นำมาศึกษา ยกเว้นผักฮ้วนหมู ผักฮาก ผักเฮียก มีความสามารถในการขจัด $HO^{\bullet}$ สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า EC_{50} ต่ำกว่าถึง 2-8 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 22

10. การวิเคราะห์ singlet oxygen ($^1O_2$)scavenging activity

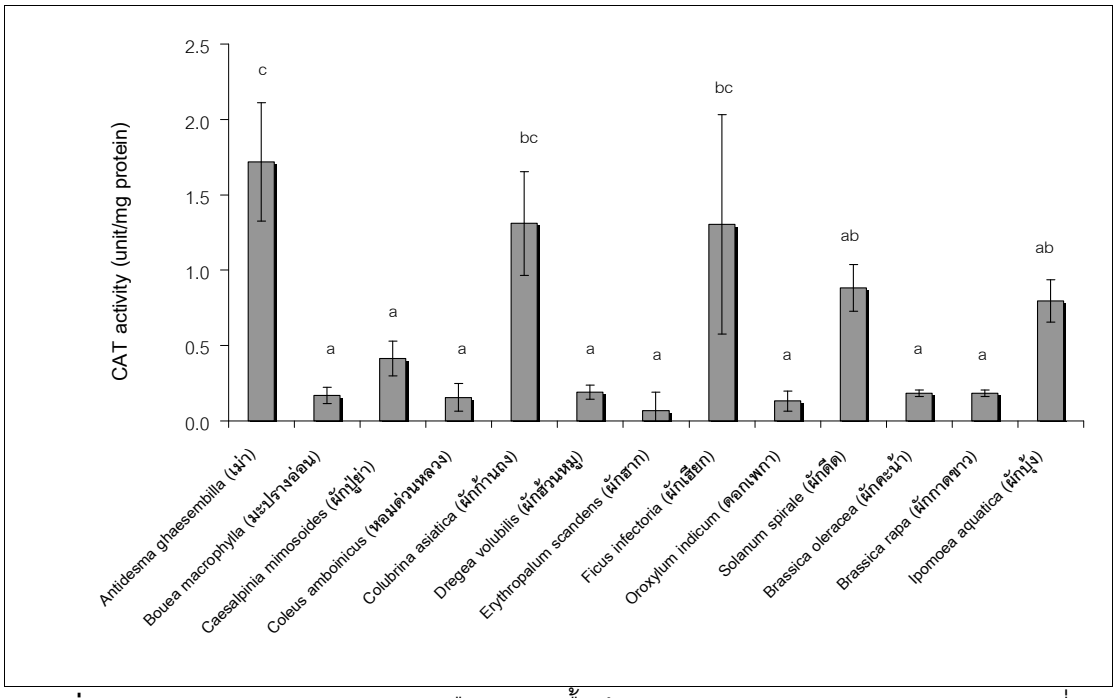


ภาพที่ 23 ค่า EC_{50} ของความสามารถในการขจัด singlet oxygen ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ความสามารถในการขจัด $^1O_2$ ของพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดจะแปรผันตรงโดยกับความเข้มข้นของสารสกัด เมื่อแสดงอยู่ในรูปค่า EC_{50} ซึ่งเป็นความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชที่สามารถขจัด $^1O_2$ ได้ 50% พบว่า ผักดีด (*Solanum spirale*) มีค่า EC_{50} ต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 183.66 ± 7.48 µg/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผักดีดมีความสามารถในการขจัด $^1O_2$ ได้สูงที่สุด รองลงมาคือเม่า (*Antidesma ghaesembilla*) โดยมีค่าเท่ากับ 414.12 ± 19.45 µg/ml ขณะที่ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) มีความสามารถในการขจัด $^1O_2$ ต่ำที่สุดในบรรดาพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิด คือมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1193.87 ± 127.68 µg/ml

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด $^1O_2$ ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าเม่า ผักดีด และผักฮากมีความสามารถในการขจัด $^1O_2$ สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า EC_{50} ต่ำกว่าถึง 2-3 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 23

11. การวิเคราะห์ catalase activity (CAT)

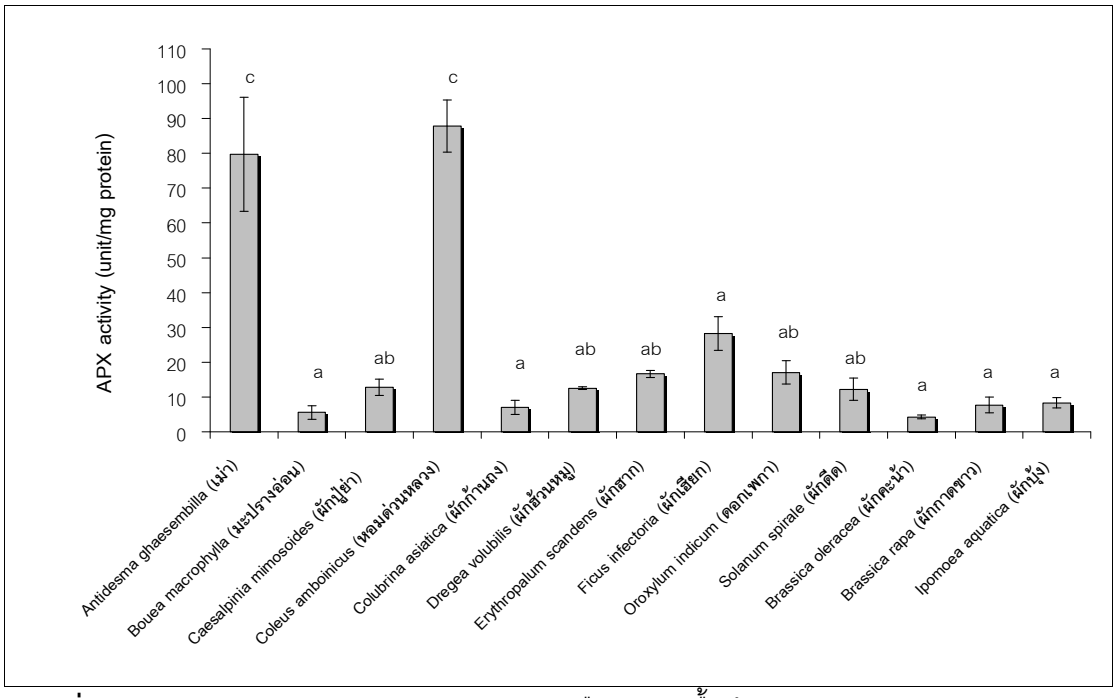


ภาพที่ 24 Catalse activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

พืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดมี CAT activity อยู่ในช่วง 0.07 – 1.72 units/mg protein ซึ่งพืชอาหารพื้นบ้านที่มี CAT activity สูงที่สุดคือ เม่า (*Antidesma ghaesembilla*) โดยมีค่าเท่ากับ 1.72 ± 0.39 unit/mg protein รองลงมาคือผักก้านถง (*Colubrina asiatica*) และผักเฮียก (*Ficus infectoria*) โดยมีค่าเท่ากับ 1.31 ± 0.34 และ 1.30 ± 0.73 units/mg protein ตามลำดับ ขณะที่ผักฮาก (*Erythropalum scandens*) มี CATactivity ต่ำที่สุดในบรรดาพืชอาหารที่ทำการศึกษา มีค่าเท่ากับ 0.07 ± 0.12 unit/mg protein

เมื่อเปรียบเทียบ CAT activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาทั้ง 3 ชนิดพบว่า เม่า ผักก้านถง และผักเฮียกเป็นพืชอาหารพื้นบ้านที่มี CAT activity สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมี activity สูงกว่าถึง 2-7 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 24

12. การวิเคราะห์ ascorbate peroxidase activity (APX)

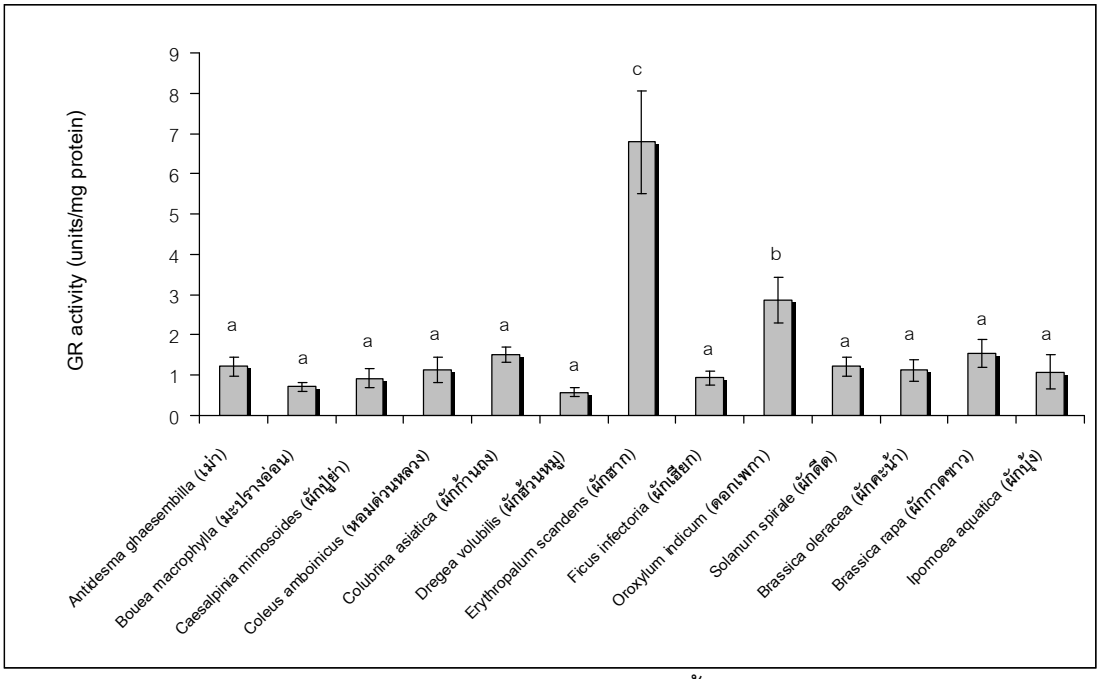


ภาพที่ 25 Ascorbate peroxidase activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

พืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดมี APX activity อยู่ในช่วง 5.54 – 87.85 unit/mg protein พืชอาหารพื้นบ้านที่มี APX activity สูงที่สุดคือ หอมด่วนหลวง โดยมีค่าเท่ากับ 87.85 ± 7.44 units/mg protein รองลงมาคือเม่า (*Antidesma ghaesembilla*) มีค่าเท่ากับ 16.64 ± 1.00 units/mg protein

เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง APX activity ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาทั้ง 3 ชนิดพบว่า มีเพียงเม่าและหอมด่วนหลวงเท่านั้นที่เป็นพืชอาหารพื้นบ้านที่มีปริมาณ APX activity ที่สูงกว่าผักเศรษฐกิจอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมี activity สูงกว่าถึง 8-9 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 25

13. การวิเคราะห์ glutathione reductase activity (GR)



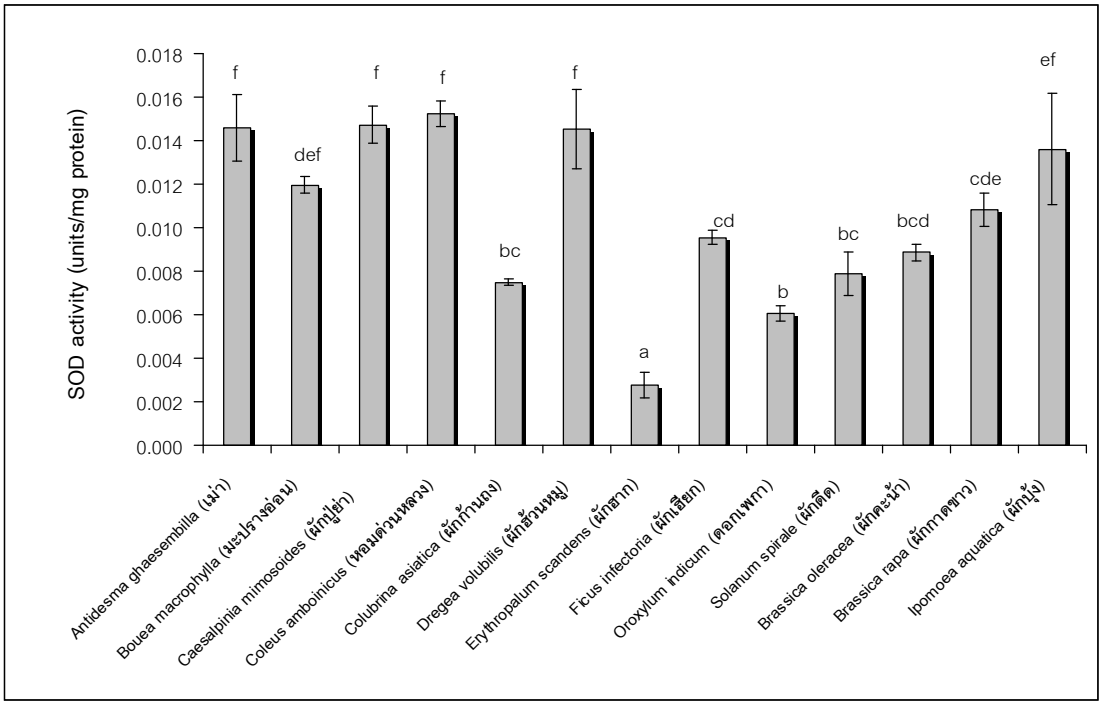
ภาพที่ 26 Glutathione reductase activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

พืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดมี GR activity อยู่ในช่วง 0.58 – 6.78 unit/mg protein ซึ่งพืชอาหารพื้นบ้านที่มี GR activity สูงที่สุดคือผักฮาก (*Erythropalum scandens*) โดยมีค่าเท่ากับ

6.78 ± 1.27 unit/mg protein รองลงมาคือดอกเพกา (*Oroxylum indicum*) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.87 ± 0.57 unit/mg protein

เมื่อเปรียบเทียบ GR activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาทั้ง 3 ชนิดพบว่า มีเพียงผักฮากและดอกเพกาที่มี GR activity สูงกว่าผักเศรษฐกิจอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมี activity สูงกว่าถึง 3-7 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 26

14. การวิเคราะห์ superoxide dismutase activity (SOD)



ภาพที่ 27 Superoxide dismutase activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± standard error และตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

พืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดมี SOD activity อยู่ในช่วง 0.003 – 0.015 unit/mg protein ซึ่งพืชอาหารพื้นบ้านที่มี SOD activity สูงที่สุดคือเม่า (*Antidesma ghaesembilla*), ผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides*), หอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus*) และผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis*) โดยมีค่าเท่ากับ 0.015 unit/mg protein ขณะที่ผักฮาก (*Erythropalum scandens*) มี

ปริมาณ SOD activity น้อยที่สุดในบรรดาพืชอาหารพื้นบ้านที่นำมาศึกษา คือมีค่าเท่ากับ 0.003 ± 0.001 unit/mg protein

เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง SOD activity ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาพบว่า มีพืชอาหารพื้นบ้าน 4 ชนิดคือเม่า ผักปู่ย่า หอมด่วนหลวง และผักฮ้วนหมูมีปริมาณ SOD activity สูงกว่าผักคะน้าและผักกาดขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากผักบุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมี activity สูงกว่าถึง 1-2 เท่า ดังแสดงในภาพที่ 27

บทที่ 5
อภิปรายผลการศึกษา

1. DPPH scavenging activity

การศึกษาความสามารถของสาร antioxidant ของสารสกัดหยาบจากพืชส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและวิธีการที่ใช้ทดสอบซึ่งมีหลายวิธีการ เพื่อความถูกต้องแม่นยำในการวัดความสามารถของสาร antioxidant จึงไม่สามารถเลือกวิธีใดวิธีหนึ่งได้เพียงวิธีเดียว (Oliveria *et al*.,2009) การศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ของสาร antioxidant เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่ทั้งนี้อาจมีความแตกต่างกันเล็กน้อยเกี่ยวกับความเข้มข้นของสารละลาย DPPH เริ่มต้นและเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (Sánchez-moreno, 2002) อนุมูล DPPH จะถูกขจัดโดยสาร antioxidant เช่น phenolic compounds จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ของพืชอาหารพื้นบ้านในจังหวัดน่านมีค่าอยู่ในช่วง 2.95 - 371.11 µg/ml ซึ่งผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides*) และผลมะปรางอ่อน (*Bouea macrophylla*) มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงสุด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 2.95 ± 0.22 และ 15.51 ± 0.77 µg/ml ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจ 3 ชนิดที่ทำการศึกษาคือ ผักคะน้า ผักกาดขาว และผักบุ้ง พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านทุกชนิดมีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิด

Oliveria และคณะ (2009) ได้รายงานการศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ของต้นสตรอเบอรี่โดยแยกสกัดด้วยด้วยสารละลายต่างชนิดกัน ได้แก่ น้ำ ethanol methanol และ diethyl ether ผลจากการศึกษาพบว่าความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH มีความแตกต่างของแต่ละสารละลายที่ใช้สกัด ซึ่งสารสกัด ethanol มีความสามารถในการขจัดอนุมูลDPPH ได้สูงที่สุด ในทางกลับกันสารสกัด diethyl ether มีความสามารถในการขจัดอนุมูลDPPH ได้น้อยที่สุด ทั้งนี้ ethanol เป็นสารที่มีขั้วสูงกว่า diethyl ether

แต่ในการศึกษาครั้งนี้พืชอาหารพื้นบ้านจะถูกสกัดด้วยสารละลายเพียงชนิดเดียวคือ ethanol ซึ่งเป็นสารละลายที่มีขั้ว ดังนั้นหากมีสาร antioxidant ชนิดอื่นที่ไม่มีขั้วจะไม่ถูกสกัดออกมาทดสอบ ดังนั้นการพบว่าพืชอาหารพื้นบ้านหลายชนิดที่ทำการศึกษามีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH ต่ำ อาจเนื่องมาจากสาร antioxidant ในพืชอาหารพื้นบ้านเหล่านั้นเป็นสารประเภทไม่มีขั้ว

เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาของ Akanitapichat และคณะ (2010) พบว่าผักปู่ย่าและผลมะปรางอ่อนมีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงกว่าในมะเขือพื้นบ้านไทยจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ มะเขือม่วง มะเขือเปราะ มะเขือยาว มะเขือขื่น และมะเขือพวง ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 66.74 ± 4.60, 61.44 ± 4.14, 152.58 ± 1.68, 84.95 ± 2.33 และ 159.33 ± 2.87 µg/ml ตามลำดับ แต่ในขณะเดียวกันจะพบว่ามะเขือม่วง มะเขือเปราะ และมะเขือขื่นมีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงกว่า เม่า หอมด่วนหลวง ผักก้านถง ผักฮ้วนหมู ผักฮาก ผักเฮียก เพกา และผักดีด

2. การวิเคราะห์ปริมาณ phenolic compounds

phenolic compounds เป็นสาร antioxidant ที่รู้จักกันดี มีความสามารถขจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ป้องกันการเกิดกระบวนการ lipid peroxidation และขจัดไอออนของโลหะซึ่งเป็นตัวการก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ (Tachakittirungrod *et al*., 2007)

การศึกษาปริมาณ phenolic compounds โดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent เป็นที่นิยมกันอย่างแพร่หลายในการทดสอบปริมาณ phenolic compounds แต่ทั้งนี้สาร Folin-Ciocalteu reagent ยังทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ไม่ใช่ phenolic compounds อีกด้วย เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน วิตามินซี (Kubola *et al*., 2011)

พืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่นำมาศึกษามีปริมาณ phenolic compounds อยู่ในช่วง 4.76 – 16.33 mg GAE/g extract หรือคิดเป็น 4.76 – 16.33 µg GAE/mg extract เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ phenolic compounds ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านทุกชนิดมีปริมาณ phenolic compounds ที่สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิดที่ทำการศึกษา

เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Nanasombat และ Teckchuen (2009) พบว่าปริมาณ phenolic compounds ของพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ทำการศึกษามีปริมาณ phenolic compounds ต่ำกว่าผักไผ่ (*Polygonum odoratum*) ชะอม (*Acacia pennata*) และผักแขยง (*Limnophila aromatica*) ซึ่งพืชเหล่านี้มีปริมาณ total phenolic เท่ากับ 52.0 ± 0.0, 45.3 ± 5.8 และ 42.0 ± 0.0 µg GAE/mg extract ตามลำดับ ส่วนมะปราง (*Bouea macrophylla*) ผักปู่ย่า (*Caesalpinia mimosoides*) หอมด่วนหลวง (*Coleus amboinicus*) และผักก้านถง (*Colubrina asiatica*) ที่ศึกษามีปริมาณ phenolic compounds ประมาณ 16 µg GAE/mg extract ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณ phenolic compounds ที่พบในผักชีลาว (*Anethum graveolens*) ผัก

ขี้เหล็ก (*Cassia siamea*) บัวบก (*Centella asiatica*) ตำลึง (*Coccinia grandis*) ผักชีฝรั่ง (*Eryngium foetidum*) ผักกูด (*Diplazium esculentum*) ผักแนม (*Lasia spinosa*) มะระขี้นก (*Momordica charantia*) แมงลัก (*Ocinum americanum*) แค (*Sesbania grandiflora*) โสน (*Sesbania javanica*) ผักคราด (*Spilanthes acmella*) และย่านาง (*Tiliacora triandra*) โดยที่พืชทั้งหมดดังกล่าวมีปริมาณ total phenolic อยู่ในช่วง 2.00 – 13.3 µg GAE/mg extract (Nanasombat และ Teckchuen, 2009)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาอื่นที่พบพืชที่มีปริมาณ phenolic สูงคือผักติ้ว (*Cratoxylum cochinchinnense*) มีปริมาณสูงถึง 720.2 ± 23.5 mg GAE/g dry basis (Phomkaivon และ Areekul, 2009) ทั้งนี้ปริมาณ phenolic ของผักติ้วในการศึกษาของ Phomkaivon และ Areekul มีปริมาณที่แตกต่างจากการศึกษาของ Maisuthisakul และคณะ (2008) อยู่มาก ซึ่งพบว่าผักติ้วมีปริมาณ phenolic อยู่เพียง 63.4 mg GAE/g dry basis แต่ทั้งนี้ยังคงสามารถสรุปได้ว่าผักติ้วมีปริมาณ phenolic ที่สูง

3. การวิเคราะห์ปริมาณ flavonoid

พืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่นำมาศึกษามีปริมาณ flavonoid อยู่ในช่วง 0.30 – 5.10 mg RE/g extract เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณ flavonoid ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านเกือบทุกชนิด (ยกเว้นผลมะปรางอ่อน) มีปริมาณ flavonoid สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิดที่ทำการศึกษา

เมื่อเปรียบเทียบรายงานการศึกษาปริมาณ flavonoid ของพืชต่างๆในประเทศไทย พบว่าชมพู่น้ำ (*Eugenia siamensis*) มีปริมาณ flavonoid สูง มีค่าเท่ากับ 44.3 mg RE/g db นอกจากนี้ยังพบว่าจัน (*Diospyros decandra*) มีปริมาณ flavonoid สูงถึง 187.27 ± 8.74 mg RE/g DW เป็นแนวโน้มที่แสดงให้เห็นว่าจันมีปริมาณ flavonoid ที่สูงกว่าในพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่นำมาศึกษา ทั้งนี้ผักก้านถงมีปริมาณ flavonoid สูงสุดในพืชอาหารที่ศึกษาคือเท่ากับ 5.10 ± 0.47 mg RE/g extract ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าพืชอีกหลายชนิด เช่น ละมุด (*Pouteria campechiana*) มะขาม (*Pithecellabium dulce*) มะกอกฝรั่ง (*Spondias dulcis*) กล้วยญวน (*Ensete glauca*) ตำลึง (*Coccinia grandis*) เบ็น (*Flacourtia indica*) และลูกหว้า (*Syzygium cumini*) โดยมีปริมาณ flavonoid เท่ากับ 4.58 ± 0.41, 2.16 ± 0.24, 1.84 ± 0.21, 1.58 ± 0.12, 3.71 ± 0.26, 4.30 ± 0.24 และ 4.60 ± 0.18 mg RE/g ตามลำดับ (Kubola *et al*., 2011)

4. การวิเคราะห์ปริมาณ ascorbic acid

จากการศึกษาพบว่าปริมาณ ascorbic acid ในพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษาอยู่ในช่วง 0.107- 3.435 mg/kg FW หรือ 0.107 - 3.435 µg/g FW เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณ ascorbic acid ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาทั้ง 3 ชนิดพบว่า มีพืชอาหารพื้นบ้านหลายชนิดที่มีปริมาณ ascorbic acid สูงกว่าผักเศรษฐกิจ

เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาปริมาณ ascorbic acid ในพืชชนิดต่างๆ พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดที่ศึกษามีปริมาณ ascorbic acid น้อยกว่าพืชอื่นหลายๆ ชนิด เช่น มะตูม (*Aegle marmelos*) จัน (*Diospyros decandra*) ละมุด (*Pouteria campechiana*) Star apple (*Chrysophyllum cainito*) มะขาม (*Pithecellabium dulce*) เบ็น (*Flacourtia indica*) มะกอกฝรั่ง (*Spondias dulcis*) ลูกหว้า (*Syzygium cumini*) กล้วยญวน (*Ensete glauca*) หนามแดง (*Carissa carandas*) ตำลึง (*Coccinia grandis*) ฝรั่ง (*Psidium guajava*) มะกอกน้ำ (*Elaeocarpus hygrophilus*) สมอไทย (*Terminalia chebula*) กล้วยตานี (*Musa balbisiana*) ตะขบฝรั่ง (*Muntingia calabura*) มะกอก (*Spondias pinnata*) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) และตระคร้อ (*Schleichera oleosa*) โดยพืชเหล่านี้มีปริมาณ ascorbic acid อยู่ในช่วง 0.05 – 5.5 mg/g FW

ขณะเดียวกันการศึกษาของ Chanwitheesuk และคณะ (2005) ได้ศึกษาปริมาณ ascorbic acid ของพืชอาหารในประเทศไทย พบว่ามีปริมาณ ascorbic acid อยู่ในช่วง 0.98 – 48.5 mg% DW โดยพืชที่มีปริมาณ ascorbic acid สูงที่สุดคือ ผักกระถิน (*Leuceana leucocephala*) รองลงมาคือ ขี้เหล็ก (*Cassia siamea*) มีปริมาณ ascorbic acid เท่ากับ 48.5 ± 0.13 และ 48.4 ± 0.16 mg% เมื่อเปรียบเทียบกับพืชพื้นบ้านที่นำมาศึกษาแล้ว พบว่าผักกระถินและขี้เหล็กมีปริมาณ ascorbic acid สูงกว่ามาก

5. การวิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol

ปริมาณ α-tocopherol ของพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษาอยู่ในช่วง 0.068 - 2.439 µg/g หรือคิดเป็น 0.0068 - 0.2439 mg% เมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณ α-tocopherol ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา พบว่าเม่า ผักฮาก และผักดีดเป็นพืชอาหารพื้นบ้านที่มีปริมาณ α-tocopherol สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิด

จากรายงานการศึกษาปริมาณ α-tocopherol ในพืชอาหารชนิดต่างๆในประเทศไทย พบว่ามีปริมาณ α-tocopherol อยู่ในช่วง 0.0011 – 0.0301 mg% เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาดังกล่าวจะพบว่าพืชพื้นบ้านที่นำมาศึกษาทั้ง 10 ชนิดมีปริมาณ α-tocopherol ที่สูงกว่าพืชอีกหลายๆ ชนิด เช่น ผักแปม (*Acanthopanax trifoliatum*) เพี้ยฟาน (*Macropanax dispermus*) ผักแส้ว (*Marsdenia glabra*) ฟักทอง (*Cucurbita moschata*) มะระขี้นก (*Momordica charantia*) สะระแหน่ (*Mentha cordifolia*) แมงลัก (*Ocimum americanum*) หญ้าหนวดแมว (*Orthosiphon grandiflorus*) ชะอม (*Acacia pennata*) กวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) มะขาม (*Tamarindus india*) ดีปลี (*Piper retrofractum*) เทียนข้าวเปลือก (*Anethum graveolens*) บัวบก (*Centella asiatica*) ผักชี (*Coriandrum sativum*) ผักชีล้อม (*Oenanthe stolonifera*) กระวาน (*Amomum krervanh*) กระชาย (*Boesenbergia pandurata*) เปราะหอม (*Kaempferia galanga*) ข่า (*Languas galanga*) และไพล (*Zingiber cassumunar*) (Chanwiththeesuk *et al*., 2005)

การศึกษาปริมาณ α–tocopherol ใน *Laurus nobilis* แบ่งตามส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ ใบ ลำต้น และราก พบว่ามีปริมาณ α–tocopherol เท่ากับ 139.34 ± 8.8, 17.62 ± 1.6 และ 12.56 ± 0.48 mg% DW ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในใบของ *L. nobilis* มีปริมาณ α–tocopherol สูง เนื่องมาจาก α–tocopherol จะถูกเก็บสะสมอยู่ใน chloroplast ทำหน้าที่ขจัด ROS และ lipid peroxy radical (Ouchikh *et al*., 2011) ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาปริมาณ α–tocopherol ของพืชอาหารพื้นบ้านซึ่งพบปริมาณ α–tocopherol ในใบของผักดีดมากกว่าในผลของมะปรางอ่อน

6. การวิเคราะห์ superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$) scavenging activity

พืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านมีความสามารถในการขจัด $O_2^{\bullet-}$ ที่แตกต่างกัน แสดงในรูปค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 17.34 - 396.30 µg/ml ซึ่งพบว่าหอมด่วนหลวงมีความสามารถในการขจัด $O_2^{\bullet-}$ สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างความสามารถในการขจัด superoxide anion ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าผลมะปรางอ่อน ผักปู่ย่า หอมด่วนหลวง และผักก้านถงเป็นพืชอาหารพื้นบ้านที่มีความสามารถในการขจัด $O_2^{\bullet-}$ สูงกว่าผักเศรษฐกิจทั้ง 3 ชนิด

Wagatea spicata เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Fabaceae ในประเทศอินเดียใช้พืชชนิดนี้รักษาอาการหวัด น้ำมูกไหล ซึ่ง Samak และคณะ (2009) ได้ศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูล

$O_2^{\bullet-}$ ของ *Wagatea spicata* ที่สกัดด้วย methanol โดยแบ่งออกเป็นส่วนของใบ เปลือกต้น และดอก พบว่ามีค่า EC_{50} เท่ากับ 75 ± 0.5, 13 ± 0.4 และ 20 ± 0.3 µg/ml ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเปลือกต้นของ *Wagatea spicata* มีความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ สูงกว่าส่วนอื่นๆ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษาและ *Wagatea spicata* พบว่าเปลือกของ *Wagatea spicata* มีความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ สูงกว่าพืชอาหารพื้นบ้านทุกชนิดที่ศึกษา ขณะเดียวกันหอมด่วนหลวงซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 17.34 ± 5.60 µg/ml จึงมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ ได้สูงกว่าใบและดอกของ *Wagatea spicata*

Acacia confusa วงศ์ Fabaceae เป็นพืชพื้นเมืองของไต้หวัน มีสรรพคุณใช้ในการห้ามเลือดและรักษาบาดแผล Tung และคณะ (2009) ได้ศึกษาความสามารถของ *Acacia confuse* ในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วย n-butanol มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.9 µg/ml ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *Acacia confuse* มีความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ สูงมากกว่าพืชอาหารพื้นบ้านทุกชนิดที่นำมาศึกษา

7. การวิเคราะห์ hydrogen peroxide (H_2O_2) scavenging activity

พืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านมีความสามารถในการขจัด H_2O_2 ที่แตกต่างกัน แสดงในรูปค่า EC_{50} อยู่ในช่วง 121.44 - 4265.78 µg/ml ซึ่งพบว่าผักเฮียกมีความสามารถในการขจัด H_2O_2 สูงที่สุด รองลงมาคือ ผลมะปรางอ่อน โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 121.42 ± 9.41 และ 147.71 ± 11.98 µg/ml ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด H_2O ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านแทบทุกชนิดยกเว้นผักฮ้วนหมู มีความสามารถในการขจัด H_2O สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา

Chisté และคณะ (2011) ได้รายงานการศึกษาความสามารถในการขจัด H_2O_2 ใน *Bixa orellana* L. (annatto) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Bixaceae และเป็นพืชพื้นเมืองในอเมริกา มีสารกลุ่มอนุพันธ์ของ carotenoid (bixin และ norbixin), terpenoids, tocotrienols และ flavonoids ซึ่งสารเหล่านี้พบทั้งในใบและเมล็ด เมื่อศึกษาความสามารถในการขจัด H_2O_2 ของเมล็ดพบว่าสารสกัดเอทานอลมีความสามารถในการขจัด H_2O_2 ได้สูงกว่าใน fraction อื่นๆ โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 11.0 ± 1.0 µg/ml แต่ทั้งนี้สารสกัดเอทานอล มีความสามารถในการขจัด H_2O_2 ได้ต่ำกว่า bixin ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ carotenoid ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.0 ± 0.6 µg/ml เมื่อเปรียบเทียบความสามารถใน

การขจัด H_2O_2 ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษาและ *B. orellana* พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านที่นำมาศึกษามีความสามารถในการขจัด H_2O_2 น้อยกว่า *B. orellana* อยู่มาก

Su และคณะ (2008) ได้ศึกษาความสามารถในการขจัด H_2O_2 ของพืชตระกูล citrus ที่มีสรรพคุณทางยา 4 ชนิด ได้แก่ *Citri Reticulatae Pericarpium* (CRP), *Citri Reticulatae Viride Pericarpium* (CRVP), *Aurantii Immaturus Fructus* (AIF) และ *Aurantii Fructus* (AF) จากการศึกษาพบว่า AF มีความสามารถในการขจัด H_2O_2 สูงที่สุดในพืชที่ศึกษา 4 ชนิด โดยมีค่า EC_{50} 0.08 ± 0.02 mg/ml เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด H_2O_2 ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านและพืชตระกูล citrus ทั้ง 4 ชนิด พบว่า AF มีความสามารถในการขจัด H_2O_2 สูงกว่าพืชอาหารพื้นบ้านทุกชนิด

กระเทียม (*Allium sativum* L.) อยู่ในวงศ์ Alliaceae พบว่ากระเทียมมีสาร glutamylcysteine อยู่มากและมีสารประกอบที่มีองค์ประกอบของซัลเฟอร์ Bozin และคณะ (2002) ได้ศึกษาความสามารถในการขจัด H_2O_2 ของต้นกระเทียมตากแห้ง หัวกระเทียมตากแห้ง และหัวกระเทียมสด พบว่ามีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.55, 0.65 และ 2.01 mg/ml ตามลำดับ จากค่า EC_{50} ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าต้นกระเทียมตากแห้งมีความสามารถในการขจัด H_2O_2 สูง เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด H_2O_2 ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านและกระเทียม พบว่าผลมะปรางอ่อน ผักปู่ย่า หอมด่วนหลวง ผักก้านถง และผักเฮียกมีความสามารถในการขจัด H_2O_2 สูงกว่าทุกส่วนของกระเทียม

8. การวิเคราะห์ hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$) scavenging activity

ผลจากการศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ ของพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษาพบว่ามีค่า EC_{50} เท่ากับ 40.19 – 497.81 µg/ml ซึ่งผลมะปรางอ่อนมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ สูงที่สุดในพืชอาหารพื้นบ้านที่นำมาศึกษา เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด $HO^{\bullet}$ ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านแทบทุกชนิดที่นำมาศึกษามีความสามารถในการขจัด $HO^{\bullet}$ สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา

จากรายงานของ Samak และคณะ (2009) ได้ศึกษาความสามารถในการขจัด $HO^{\bullet}$ ของ *Wagatea spicata* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ พบว่าสารสกัด *W. spicata* จากใบและเปลือกของต้นที่สกัดด้วย ethyl acetate มีความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ มากกว่า fraction อื่นๆ แต่ทั้งนี้สารสกัดจากใบมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ มากกว่าเปลือกต้นถึง 10 เท่า โดยมี

ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.05 ± 0.4 µg/ml ดังนั้นจะเห็นได้ว่าพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ น้อยกว่า *W. spicata* อยู่มาก

โสม (*Panax ginseng*) และ อินทนิลน้ำ (*Lagerstroemia speciosa*) เป็นพืชที่พบในเอเชียตะวันออก นิยมใช้เป็นยารักษาโรคเบาหวานโดยยับยั้งการดูดซึมกลูโคสที่ลำไส้ จากรายงานการศึกษาของ Saumya และคณะ (2011) ได้ศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ ของโสมและอินทนิลน้ำพบว่ามีค่า EC_{50} เท่ากับ 2.15 และ 7.58 µg/ml แสดงให้เห็นว่าโสมมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ สูงกว่าอินทนิล เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษาและพืชทั้งสองชนิดที่ Saumya และคณะรายงาน จะพบว่าโสมและอินทนิลมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $HO^{\bullet}$ สูงกว่าพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิด

9. การวิเคราะห์ singlet oxygen ($^1O_2$) scavenging activity

ผลจากการศึกษาความสามารถในการขจัด singlet oxygen ของพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษาพบว่ามีค่า EC_{50} เท่ากับ 183.66 – 1193.87 µg/ml ซึ่งผักดีดมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $^1O_2$ สูงที่สุดในพืชอาหารพื้นบ้านที่นำมาศึกษา เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด singlet oxygen ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจอีก 3 ชนิด พบว่าเม่า ผักดีดและผักฮากมีความสามารถในการขจัด singlet oxygen สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา

จากรายงานของ Hazra และคณะ (2008) ได้รายงานการศึกษาความสามารถในการขจัด $^1O_2$ ของ *Spondias pinnata* หรือมะกอก วงศ์ Anacardiaceae พบว่ามีค่า EC_{50} เท่ากับ 58.07 ± 5.36 µg/ml ขณะที่ lipoic acid มีค่า EC_{50} เท่ากับ 46.15 µg/ml จะเห็นได้ว่า lipoic acid ความสามารถในการขจัด $^1O_2$ สูงกว่ามะกอก เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการขจัด $^1O_2$ ระหว่างพืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษาและมะกอกจะพบว่ามะกอกมีความสามารถในการขจัด $^1O_2$ สูงกว่าพืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิด

10. การวิเคราะห์ antioxidant enzyme activity

การศึกษา antioxidant enzyme activity ในพืชอาหารเพื่อแสดงความสามารถในการต้าน ROSs นั้นไม่ค่อยเป็นที่นิยม ทั้งนี้เนื่องจาก activity ของเอนไซม์จะเสื่อมสลายได้ง่าย นักวิจัยหลายท่านจึงให้ความสนใจในการวิเคราะห์ antioxidant enzyme activity ของพืชในภาวะเครียดเท่านั้น

พืชอาหารพื้นบ้านจังหวัดน่านที่ศึกษามีปริมาณ SOD อยู่ในช่วง 0.003 – 0.015 U/mg protein มี CAT activity อยู่ในช่วง 0.07 – 1.72 U/mg protein APX activity อยู่ในช่วง 5.54 – 87.85 U/mg protein และ GR activity อยู่ในช่วง 0.58 – 6.78 U/mg protein

เมื่อเปรียบเทียบ CAT activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาทั้ง 3 ชนิดพบว่า เม่า ผักก้านถง และผักเฮียกเป็นพืชอาหารพื้นบ้านที่มี CAT activity สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษา

ส่วนการเปรียบเทียบ APX activity ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาทั้ง 3 ชนิดพบว่า มีเพียงเม่าและหอมด่วนหลวงเท่านั้นที่เป็นพืชอาหารพื้นบ้านที่มีปริมาณ APX activity ที่สูงกว่าผักเศรษฐกิจ

ทั้งนี้การเปรียบเทียบ GR activity ของพืชอาหารพื้นบ้านและผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาทั้ง 3 ชนิดพบว่า มีเพียงผักฮากและดอกเพกาที่มี GR activity สูงกว่าผักเศรษฐกิจ

นอกจากนี้การเปรียบเทียบระหว่าง SOD activity ในพืชอาหารพื้นบ้านและในผักเศรษฐกิจที่นำมาศึกษาพบว่า มีพืชอาหารพื้นบ้าน 4 ชนิดคือเม่า ผักปู่ย่า หอมด่วนหลวง และผักฮ้วนหมูมีปริมาณ SOD activity สูงกว่าผักคะน้าและผักกาดขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากรายงานการศึกษา antioxidant enzyme activity ใน blueberry จำนวน 42 cultivar ของ Wang และคณะ (2011) พบว่า blueberry มี SOD activity อยู่ในช่วง 0.8 – 3.6 U/mg protein CAT activity อยู่ในช่วง 17.3 – 76.3 U/mg protein APX activity อยู่ในช่วง 9.4 – 96.5 nmol/mg protein-min และ GR activity อยู่ในช่วง 161 – 486 nmole/mg protein-min เมื่อเปรียบเทียบ antioxidant enzyme activity ระหว่าง blueberry และพืชอาหารพื้นบ้าน จ.น่านที่ทำการศึกษาพบว่า blueberry มี SOD และ CAT activity สูงกว่าพืชอาหารพื้นบ้าน แต่ขณะเดียวกันพืชอาหารพื้นบ้านที่ศึกษามี APX และ GR activity สูงกว่า blueberry

รายงานการวิเคราะห์ antioxidant enzyme activity ใน deerberry จำนวน 3 genotype (B-59, B-76, SHF3A-3:127) Wang และ Ballington (2007) พบว่ามี SOD activity อยู่ในช่วง 13.7 – 22.5 U/mg protein, APX activity อยู่ในช่วง 14.5 – 24.2 nmol/mg protein-min และ GR activity อยู่ในช่วง 2.1 – 9.6 nmol/mg protein-min min เมื่อเปรียบเทียบ antioxidant enzyme activity ระหว่าง blueberry และพืชอาหารพื้นบ้าน จ.น่านที่ทำการศึกษาพบว่า deerberry มี SOD, APX และ GR activity สูงกว่าพืชอาหารพื้นบ้านที่ทำการศึกษา (Wang and Ballington, 2007)

11. ความสัมพันธ์ของค่าต่าง ๆ ที่ศึกษา

การศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH พบว่ามีความสัมพันธ์กันกับปริมาณ phenolic compounds (r^2 = 0.701) พบว่าพืชอาหารพื้นบ้านที่มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงจะมีปริมาณ phenolic compounds สูงด้วย และกลับกันพืชอาหารพื้นบ้านที่ปริมาณ phenolic compounds สูงจะมีความสามารถในการขจัดอนุมูลสูงด้วย ทั้งนี้ phenolic ompounds เป็นสารที่พบได้แทบทุกส่วนของพืช เช่น ลำต้น ใบดอก ผล เป็นต้น ซึ่งแตกต่างจากองค์ประกอบอื่นที่พบเฉพาะส่วนของพืชเท่านั้น นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Oliveria และคณะ (2009) ได้รายงานการศึกษาปริมาณ phenolic compounds ของต้นสตรอเบอรี่โดยแยกสกัดด้วยสารละลายต่างชนิดกัน ได้แก่ น้ำ ethanol methanol และ diethyl ether ผลจากการศึกษาพบว่าในส่วนของสารสกัดที่สกัดด้วย ethanol มีปริมาณ phenolic compounds สูงที่สุด สอดคล้องกับผลการศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูลDPPH ซึ่งสารสกัด ethanol มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงกว่าสารละลายชนิดอื่นๆ (Oliveria *et al*.,2009)

ทั้งนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ phenolic compounds กับความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$ (r^2 = 0.744), H_2O_2 (r^2 = 0.58) และ $HO^{\bullet}$ (r^2 = 0.642) เป็นที่น่าสังเกตว่าพืชที่มีปริมาณ phenolic compounds สูงจะมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 และ $HO^{\bullet}$ สูงด้วยเช่นกัน เนื่องจากสาร phenolic compounds มีหมู่ hydroxyl group ที่สามารถให้อิเล็กตรอนและไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระได้ นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนของหมู่ hydroxyl group มีผลต่อความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระ สาร phenolic compounds ที่มีหมู่ hydroxyl group สูงจะมีความสามารถในการขจัดอนุมูลสูง (Manian *et al*., 2008)

การศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูล $^1O_2$ มีความสอดคล้องกับปริมาณ α–tocopherol (r^2 = 0.594) เป็นที่น่าสังเกตว่าพืชที่มีความสามารถในการขจัดอนุมูล $^1O_2$ สูงจะมีปริมาณ α–tocopherol สูงด้วย ทั้งนี้เนื่องมาจาก α–tocopherol มีหน้าที่ขจัด $^1O_2$ ที่เกิดขึ้น (Krieger-Liszkay and Trebst, 2006)

การศึกษาความสามารถในการขจัด reactive oxygen species กับ antioxidant enzyme activity พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Wang และ Ballington ที่ศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระและ antioxidant enzyme activity ของ deerberry ที่พบว่าทั้งสองไม่มีความสัมพันธ์กัน (Wang and Ballington, 2007)

บทที่ 6
สรุปผลการศึกษา

พืชอาหารพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิดมีความสามารถในการขจัด reactive oxygen species และมีปริมาณสาร antioxidant ชนิดต่างๆ ที่แตกต่างกัน พืชที่มีความสามารถในการขจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุดคือ ผักปู่ย่า รองลงมาคือผลมะปรางอ่อน

สำหรับปริมาณ phenolic compound พบว่า ผลมะปรางอ่อน ผักปู่ย่า หอมด่วนหลวง และผักก้านถงมีปริมาณ phenolic compound สูงสุดใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ผักก้านถงยังมีปริมาณ flavonoid สูงที่สุดอีกด้วย

การวิเคราะห์ปริมาณ ascorbic acid พบว่าผักฮ้วนหมูมีปริมาณ ascorbic acid สูงสุด ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol พบว่า ผักดีดมีปริมาณ α-tocopherol ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าพืชอาหารพื้นบ้านชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าผักดีดความสามารถในการขจัด $^1O_2$ ได้สูงสุด

เม่าและหอมด่วนหลวงเป็นพืชอาหารที่มี activity ของเอนไซม์ APX และ SOD สูง นอกจากนี้ยังพบว่าเม่ายังมี CAT activity สูงอีกด้วย ส่วน GR activity พบว่าผักฮากมี GR activity สูงที่สุดในพืชอาหารพื้นบ้านทั้งหมด

ส่วนการศึกษาความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet -}$ พบว่าหอมด่วนหลวงและผลมะปรางอ่อนมีความสามารถในการขจัดอนุมูล $O_2^{\bullet -}$ ได้สูงสุด ทั้งนี้ยังพบว่ามะปรางอ่อนมีความสามารถในการขจัด H_2O_2 และ $HO^{\bullet}$ สูงอีกด้วย

ทั้งนี้จากผลการศึกษาจะพบว่าพืชอาหารพื้นบ้านหลายชนิดมีความสามารถในการขจัด reactive oxygen species และมีปริมาณสาร antioxidant ที่สูงกว่าผักเศรษฐกิจที่นิยมบริโภคกันในปัจจุบันอยู่มาก

พืชอาหารพื้นบ้านแต่ละชนิดที่ทำการศึกษาเหล่านี้ ได้จากการเก็บตัวอย่างที่ช่วงเวลาต่างๆ กันตลอดปี ดังนั้นจังหวัดน่านจึงมีพืชผักพื้นบ้านที่เป็นแหล่งของสาร antioxidant สำหรับไว้บริโภคหมุนเวียนได้ตลอดทั้งปี

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษา antioxidant activity สามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน ทั้งนี้งานวิจัยนี้ยังไม่ครอบคลุมทุกวิธีการศึกษา ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลในการวิเคราะห์ที่มากขึ้นควรศึกษาวิธี 2,2'-

azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) ($ABTS^{\bullet+}$), oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ Lipid peroxidation เพิ่มเติม

2. เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ใกล้เคียงกับวิธีการบริโภคพืชอาหารพื้นบ้านในชีวิตประจำวันมากขึ้น ควรศึกษาความสามารถในการขจัดรีแอกทีฟออกซิเจนสปีชีส์ของพืชอาหารพื้นบ้านก่อนการปรุงและหลังการปรุงเปรียบเทียบกัน

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

โครงการวิจัยความหลากหลายและการนำสมุนไพรพื้นบ้านจังหวัดน่านมาใช้ในกิจการปศุสัตว์. (2549). *สมุนไพรไม้เมืองน่าน.* กรุงเทพฯ: ตีรณสาร.

ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล. (2541). *พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวขมุ ชาวลัวะและชาวถิ่นในบางพื้นที่ของจังหวัดน่าน*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2549). *สารต้านอนุมูลอิสระ*. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์.

ภาษาอังกฤษ

Ahmad, S. (1995). *Oxidative stress and antioxidant defenses in biology* : Chapman & Hall. New York . 448 pp.

Akanitapichat, P., Phraibung, K., Nuchklang, K., & Prompitakkul, S. (2010). Antioxidant and hepatoprotective activities of five eggplant varieties. *Food and Chemical Toxicology.* 48: 3017-3021.

Arora, A., Sairam, R., & Srivastava, G. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*. 82: 1227-1238.

Asada, K. (1992). Ascorbate peroxidase-a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum.* 85: 235-241.

Asada, K. (1997). The role of ascorbate peroxidase and monodehydroascorbate reductase in H_2O_2 scavenging in plants. *Cold Spring Harbor Monograph Archive.* 34: 715-735.

Basu, T. K., Temple, N. J., & Garg, M. L. (1999). *Antioxidants in human health and disease*: CABI Pub. New York. 450 pp.

Beers Jr, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry.* 195: 133-140.

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

Carney Almroth, B., Albertsson, E., Sturve, J., & Förlin, L. (2008). Oxidative stress, evident in antioxidant defences and damage products, in rainbow trout caged outside a sewage treatment plant. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 70: 370-378.

Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., & Rakariyatham, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry.* 92: 491-497.

Chisté, R. C., Mercadante, A. Z., Gomes, A., Fernandes, E., Lima, J. L. F. C., & Bragagnolo, N. (2011). In vitro scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chemistry*. 127: 419–426.

Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology.* 17: 505-512.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry.* 97: 654-660.

Ghimire, B. K., Seong, E. S., Lee, C. O., Lim, J. D., Lee, J. G., Yoo, J. H., Chung, I. M., Kim, N. Y., & Yu, C. Y. (2011). Enhancement of α-tocopherol content in transgenic Perilla frutescens containing the g-TMT gene. *African Journal of Biotechnology.* 10: 2430-2439.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1985). *Free radicals in biology and medicine*. Clarendon Press. Oxford University Press. New York. 704 pp.

Hanato, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effect. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.* 36: 2090-2097.

Hazra, B., Biswas, S., & Mandal, N. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of Spondias pinnata. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 8: 63-72.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry.* 13: 572-584.

Hou, W., Chen, Y. C., Chen, H. J., Lin, Y. H., Yang, L. L., & Lee, M. H. (2001). Antioxidant activities of trypsin inhibitor, a 33 KDa root storage protein of sweet

potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam cv. Tainong 57). *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 49: 2978-2981.

Krieger-Liszkay, A., & Trebst, A. (2006). Tocopherol is the scavenger of singlet oxygen produced by the triplet states of chlorophyll in the PSII reaction centre. *Journal of Experimental Botany.* 57: 1677-1684.

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

Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica acta*. 613: 1-19.

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

Makchuchit, S., Itharat, A., & Tewtrakul, S. (2011). Antioxidant and Nitric Oxide Inhibition Activities of Thai Medicinal Plants. *Journal of the Medical Association of Thailand.* 93: 227.

Manian, R., Anusuya, N., Siddhuraju, P., & Manian, S. (2008). The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts *of Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz*, Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chemistry*. 107: 1000-1007.

Mavis, R. D., & Stellwagen, E. (1968). Purification and subunit structure of glutathione reductase from bakers' yeast. *Journal of Biological Chemistry*. 243: 809-814.

Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology.* 22: 867-880.

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

Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J. A., & Baptista, P. (2009). Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology.* 47: 1507-1511.

Ouchikh, O., Chahed, T., Ksouri, R., Taarit, M. B., Faleh, H., Abdelly, C., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2011). The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of Food Composition and Analysis.* 24: 103-110.

Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R., & Akev, N. (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry.* 110: 571-583.

Papas, A. M. (1999). *Antioxidant status, diet, nutrition and health*: CRC Press, Johnson City, Tennessee, USA. 672 pp.

Phomkaivon, N., & Areekul, V. (2009). Screening for antioxidant activity in selected Thai wild plants. *Asian Journal of Food and Agro-Industry.* 2: 433-440.

Roberfroid, M. B., & Calderon, P. B. (1995). *Free radicals and oxidation phenomena in biological systems*: M. Dekker. New York. 272 pp.

Samak, G., Shenoy, R. P., Manjunatha, S., & Vinayak, K. (2009). Superoxide and hydroxyl radical scavenging actions of botanical extracts of *Wagatea spicata*. *Food Chemistry*. 115: 631-634.

Sánchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International.* 8: 121-137.

Saumya, S. M. Mahaboob, B. P. (2011). *In vitro* evaluation of free radical scavenging activity of *Panax ginseng* and *Lagerstroemia speciosa*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3: 165-169.

Shin, Y., Liu, R. H., Nock, J. F., Holliday, D., & Watkins, C. B. (2007). Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*. 45: 349-357.

Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture.* 28: 49-55.

Su, M. S., Shyu, Y. T., & Chien, P. J. (2008). Antioxidant activities of citrus herbal product extracts. *Food Chemistry.* 111: 892-896.

Tachakittirungrod, S., Okonogi, S., & Chowwanapoonpohn, S. (2007). Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leave extract. *Food Chemistry*. 103: 381-388.

Tung, Y. T., Wu, J. H., Hsieh, C. Y., Chen, P. S., & Chang, S. T. (2009). Free radical-scavenging phytochemicals of hot water extracts of *Acacia confusa* leaves detected by an on-line screening method. *Food Chemistry.* 115: 1019-1024.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., & Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 266: 37-56.

Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 46: 4113-4117.

Wang, S. Y., & Ballington, J. R. (2007). Free radical scavenging capacity and antioxidant enzyme activity in deerberry (*Vaccinium stamineum* L.). *LWT-Food Science and Technology.* 40: 1352-1361.

Wang, S. Y., Chen, H., & Ehlenfeldt, M. K. (2011). Variation in antioxidant enzyme activities and nonenzyme components among cultivars of rabbiteye blueberries (*Vaccinium ashei* Reade) and *V. ashei* derivatives. *Food Chemistry.* 129: 13-20.

Young, I., & Woodside, J. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology.* 54: 176.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

เม่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Antidesma ghaesembilla* Gaertn.

วงศ์ Euphobiaceae

ชื่ออื่น ขะเม่าผา มะเม่า เม่าทุ่ง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นตั้งตรง สูง 2-6 เมตร กิ่งอ่อนและยอดมีขน ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปไข่ถึงวงรี กว้าง 3.5 - 4.5 เซนติเมตร ยาว 5-7 เซนติเมตร ผิวด้านบนเกลี้ยงหรือมีขนเล็กน้อย ด้านล่างมีขนสั้นๆ ดอกเป็นดอกช่อออกที่ซอกใบและปลายกิ่ง มีดอกย่อยสีเขียวขนาดเล็กจำนวนมาก ผลสดรูปกลมเบี้ยว เมื่อสุกจะมีสีแดงคล้ำถึงดำ

มะปราง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Bouea macrophylla* Griff.

วงศ์ Anacardiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้ยืนต้นมีกิ่งก้านสาขาจำนวนมาก ลำต้นสูง ใบเรียว ขนาดใบโดยเฉลี่ยกว้าง 3.5 เซนติเมตร ยาว 14 เซนติเมตร ดอกเป็นดอกช่อ เกิดบริเวณปลายกิ่งแขนง ช่อดอกยาว 8-15 เซนติเมตร เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ดอกบานสีเหลือง ผลมีลักษณะทรงกลมรูปไข่และกลม ปลายเรียวแหลม หนึ่งช่อมีประมาณ 1-15 ผล ผลดิบมีสีเขียวอ่อนถึงเขียวเข้มตามอายุของผล ผลสุกมีสีเหลืองหรือเหลืองอมส้ม เปลือกผลนิ่ม เนื้อสีเหลืองแดงส้มออกแดง รสชาติอมหวานอมเปรี้ยว

ผักปู่ย่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Caesalpinia mimosoides* Lamk.

วงศ์ Caesalpiniaceae

ชื่ออื่น หนามปู่ย่า ช้าเรือด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้เลื้อยลำต้นตั้งตรงหรือพันกับไม้อื่น ความสูงประมาณ 1 เมตรขึ้นไป ลำต้นมีหนามแหลมจำนวนมากทั้งลำต้นและก้านใบ ยอดอ่อนมีสีน้ำตาลแดง ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน ก้านใบยาว 25-30 เซนติเมตร หนึ่งก้านมีใบประมาณ 10-30 คู่ ก้านใบสีแดงมีหนามแหลมตามกิ่งก้าน ใบลักษณะกลมมนขนาดกว้างประมาณ 4 มิลลิเมตร ดอกเป็นช่อยาว 20-40 เซนติเมตร ดอกสีเหลืองขนาดดอกยาว 1.2-2 เซนติเมตร กว้าง 1-1.8 เซนติเมตร ผลเป็นฝักบวมพอง มีหนามเล็กๆ รอบฝักภายในมีเมล็ด 2 เมล็ด

หอมด่วนหลวง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Coleus amboinicus* Lour.

ชื่อวงศ์ Lamiaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้ล้มลุกอายุ 2-3 ปี ความสูงประมาณ 20 – 40 เซนติเมตร ลำต้นมีกลิ่นหอมและใบฉ่ำน้ำ ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยม ใบเดี่ยวสีเขียวอ่อนติดตรงกันข้าม รูปร่างกลมรี โคนใบสอบปลายมน ลักษณะใบหนากรอบและมีขนอ่อนทั่วไป ริมใบจักเป็นคลื่นมนรอบๆใบ แผ่นใบนูนเส้นใบลึก ดอกออกเป็นช่อสีม่วง – ขาว

ผักก้านถง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Colubrina asiatica* Brongn.

วงศ์ Rhamnaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้พุ่มขนาดกลาง สูงประมาณ 1-3 เมตร ลำต้นแข็งตั้งตรงแตกกิ่งแขนงมากแต่จะชูออกด้านบน ลำต้นแก่สีน้ำตาลอ่อนออกขาวเปลือกขรุขระเล็กน้อย ยอดอ่อนสีเขียวเข้มผิวเรียบเป็นมัน ใบเดียว ก้านใบสั้น เรียงสลับ ใบรูปร่างรีปลายใบแหลม ขอบใบหยักเล็กน้อย แผ่นใบสีเขียวเข้มเป็นลอน ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดเล็ก สีเหลืองรูปกระดิ่งคล้ายดอกพุทธา ออกตามซอกใบติดกับกิ่ง อาจมีมากกว่า 1 ดอกในแต่ละซอกใบ มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ

ผักฮ้วนหมู

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dregea volubilis* (L.f.) Hook.f.

วงศ์ Asclepiadaceae

ชื่ออื่น กระทุงหมาบ้า ฮ้วนหมู

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้เลื้อย ลำต้นเป็นเถากลมเนื้อแข็ง ลำต้นเถาจะพาดพันตามต้นไม้ใหญ่ ใบเป็นใบเดี่ยวรูปไข่ ปลายใบยาวเรียว โคนใบมนหรือเว้า ใบกว้างประมาณ 1.5 – 4 นิ้ว ยาวประมาณ 2.5 – 4.5 นิ้ว หลังใบมีสีเขียวเข้ม ใต้ท้องใบมีสีเขียวอ่อนกว่า ก้านใบยาว 1.5 – 2.5 นิ้ว ดอกออกเป็นช่อตามบริเวณง่ามใบ ดอกมีขนาดเล็กมีกลีบดอกและกลีบเลี้ยงอย่างละ 5 กลีบ กลีบดอกยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร โคนกลีบดอกจะเชื่อมติดกันเป็นท่อ ส่วนปลายกลีบแยกออกเป็นแฉกรูปเหลี่ยม ดอกเมื่อบานเต็มที่มีขนาดกว้างประมาณ 1.5 เซนติเมตร

ผักฮาก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Erythropalum scandens* Blume

วงศ์ Olacaceae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้เถาเลื้อย ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขาจำนวนมาก ใบออกเรียงสลับ ก้านใบยาว 3-10 เซนติเมตร แผ่นใบรูปไข่แกม 3 เหลี่ยม กว้าง 6-11 เซนติเมตร ยาว 9-16 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบตัดหรือโค้งเล็กน้อย ขอบใบหยักคล้ายคลื่นเล็กน้อย เส้นใบหลัก 3 เส้นจรดกันที่โคนใบ ดอกออกเป็นช่อเชิงหลั่น ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ดอกย่อยเป็นตุ่มสีเขียวกว้างประมาณ 2 มิลลิเมตร

ผักเฮียก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Ficus infectoria* Roxb.

วงศ์ Moraceae

ชื่ออื่น เลียบ ผักเฮือด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้ยืนต้นขนาดกลางและเป็นไม้ผลัดใบ ลำต้นสูง 8-15 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยวออกแบบสลับ รูปรีหรือรูปไข่ปนขอบขนาน ปลายใบมนทู่ ขอบใบเรียบ ผิวใบมันกว้าง 6-7 เซนติเมตร ยาว 7-18 เซนติเมตร มีหูใบขนาดเล็ก ใบอ่อนสีชมพูหรือชมพูอมเขียว ใบอ่อนแลดูใสแววววาวไปทั้งต้นและมีปลอกหุ้มใบในระยะเริ่มแรก ดอกออกเป็นช่อ เส้นผ่าศูนย์กลางของดอก 4-6 มิลลิเมตร

เพกา

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Oroxylum indicum* (L.) Kurz

วงศ์ Bignoniaceae

ชื่ออื่น มะลิดไม้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้ยืนต้น ใบประกอบแบบขนนก 3 ชั้น ออกดอกเป็นช่อ ก้านช่อดอกยาว ดอกสมบูรณ์เพศ กลีบดอก 5 กลีบเชื่อมติดกันเป็นรูประฆัง ปลายกลีบแยกเป็นรูปปากเปิด สีแดงเลือดหมู เกสรเพศผู้มี 5 อัน เกสรเพศเมียมี 1 อัน ผลเป็นฝักแบนขนาดใหญ่รูปดาบปลายฝักแหลม ฝักแก่มีเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดลักษณะแบนสีน้ำตาลอ่อนทั้งสองด้านมีเยื่อบางใสสีขาวโปร่งแสงคล้ายปีก

ผักดีด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Solanum spirale* Roxb.

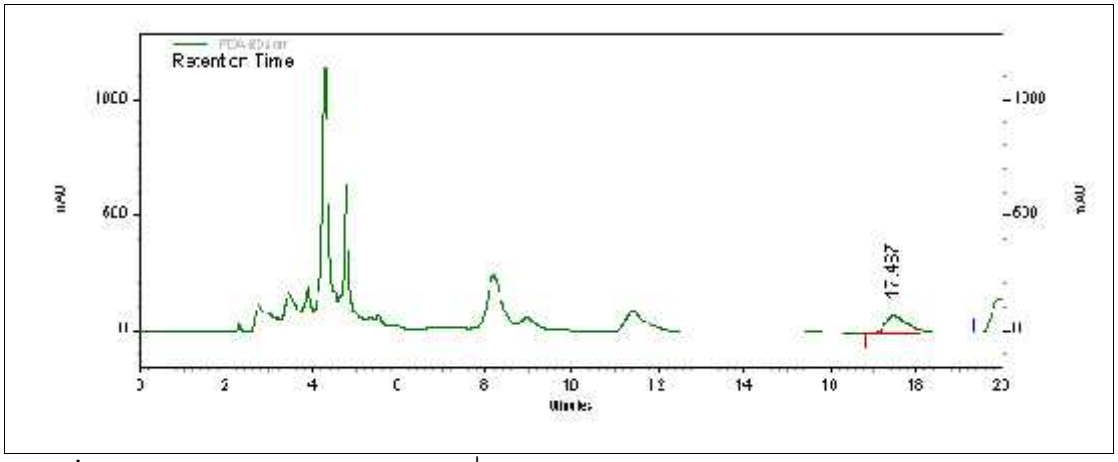
วงศ์ Solanaceae

ชื่ออื่น ต้อยตั่ง

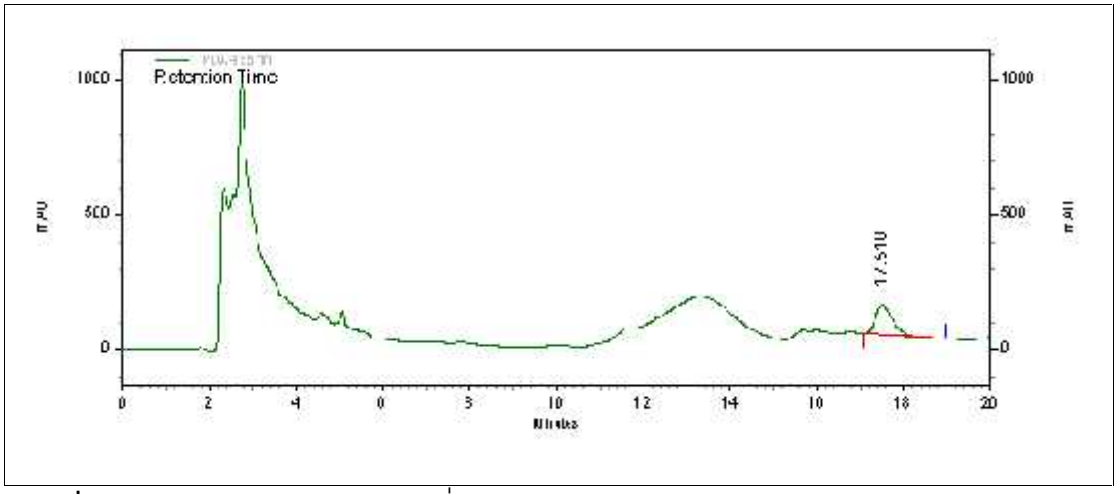
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นทรงสี่เหลี่ยมแข็งมีข้อห่าง ๆ ตั้งตรง สูงประมาณ 1–3 เมตร ใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปวงรีหรือรูปวงรีแกมรูปไข่กลับ ใบกว้าง 5 – 8 เซนติเมตร ยาว 9 – 15 เซนติเมตร ดอกช่อออกเหนือซอกใบ ก้านดอกยาว ดอกย่อยเรียงสลับกลีบดอกสีขาว ผลรูปทรงกลม ผิวเรียบสีเขียวออกเป็นช่อคล้ายมะเขือพวง เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้ม

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณ α - tocopherol ด้วยเทคนิค HPLC



ภาพที่ 28 chromatogram ของผักดีดเมื่อวิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol ด้วยเทคนิค HPLC



ภาพที่ 29 chromatogram ของเม่าเมื่อวิเคราะห์ปริมาณ α-tocopherol ด้วยเทคนิค HPLC

ภาคผนวก ค

ตารางที่ 11 DPPH scavenging activity (%) ของพืชอาหารพื้นบ้านชนิดต่างๆ

1. ผักโหม

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	1.65	2.75	3.85	4.53	6.46	7.97	8.93	9.75	10.99	12.23
Sample 2	1.65	2.47	3.02	5.49	7.97	9.62	11.40	12.23	13.19	13.87
Sample 3	0.83	1.80	1.93	4.42	6.91	8.56	10.08	10.77	11.88	12.57
Sample 4	1.52	1.77	3.55	5.70	6.46	6.97	7.10	7.35	7.60	7.98
Sample 5	3.43	3.81	4.44	5.58	5.58	5.84	7.11	8.63	9.01	9.64

2. เม่า

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	28.68	46.70	47.44	63.01	68.76	69.40	75.80	79.64	84.01	86.46
Sample 2	27.28	40.87	52.23	61.89	69.75	76.22	82.38	84.39	88.64	89.38
Sample 3	31.96	49.19	61.65	72.70	80.28	85.48	89.49	91.22	92.96	93.72
Sample 4	21.52	6.30	45.87	54.24	62.50	70.33	75.43	79.46	83.91	85.54
Sample 5	30.37	42.95	54.34	64.10	73.43	80.48	85.68	88.61	90.56	91.65

3. มะปรางอ่อน

[ ] (µg/ml)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Sample 1	22.93	37.81	53.91	65.44	72.93	83.22	88.03	91.05	93.62	95.19
Sample 2	21.07	39.58	55.07	65.22	75.59	83.39	88.07	91.19	92.87	94.65
Sample 3	24.36	40.09	52.93	63.46	73.31	81.84	87.71	91.03	93.47	94.91
Sample 4	17.29	30.93	43.02	55.76	64.63	73.95	80.16	86.03	89.25	92.35
Sample 5	24.67	39.49	54.20	67.26	75.44	83.63	87.83	91.26	93.69	95.24

4. ผักปู่ย่า

[ ] (µg/ml)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
Sample 1	12.29	25.70	36.31	38.88	50.06	66.03	73.74	83.69	90.50	94.30
Sample 2	6.47	14.27	22.97	27.09	36.34	47.38	56.30	60.54	68.34	76.14
Sample 3	9.19	14.06	20.16	26.14	34.22	39.76	45.74	59.36	63.12	73.75
Sample 4	9.62	22.68	30.20	41.92	51.33	59.29	66.70	76.33	84.51	90.15
Sample 5	10.44	21.33	29.33	37.89	47.33	51.89	54.89	65.44	69.78	76.78

5. หอมด่วนหลวง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	5.22	13.10	28.22	30.56	35.36	38.55	41.43	47.07	53.35	60.06
Sample 2	23.09	39.78	54.59	62.43	77.68	83.43	85.30	86.52	86.19	86.85
Sample 3	25.61	53.86	77.04	78.81	78.04	78.37	79.36	79.69	80.13	80.79
Sample 4	6.83	13.33	22.36	29.63	33.15	41.19	46.59	53.52	58.26	63.00
Sample 5	15.12	31.90	47.68	64.35	76.71	83.44	85.54	86.31	86.64	86.20

6. ผักก้านถง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	21.57	35.39	52.18	63.55	73.86	88.31	92.14	93.52	93.41	94.37
Sample 2	35.88	65.84	90.33	93.23	93.45	93.98	94.63	94.74	94.74	95.06
Sample 3	22.62	52.92	75.97	87.77	92.10	91.77	91.99	93.18	93.29	93.72
Sample 4	18.25	44.17	81.64	89.96	91.68	92.33	92.76	92.98	93.09	93.41
Sample 5	23.37	55.65	86.63	90.22	92.50	92.72	93.04	93.26	93.37	93.48

7. ผักกูด

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	5.95	7.28	8.07	8.07	8.60	8.99	9.79	10.71	11.90	14.95
Sample 2	4.33	5.11	6.55	6.55	7.86	8.52	8.65	8.65	10.48	11.66
Sample 3	9.70	11.59	11.84	12.09	12.72	13.10	13.35	13.48	15.24	15.87
Sample 4	10.84	11.51	12.45	12.58	13.92	14.73	16.33	17.40	19.41	20.08
Sample 5	3.29	5.52	5.78	6.04	7.10	7.62	8.15	8.80	9.07	11.96

8. ผักฮ้วนหมู

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	11.71	19.29	28.21	32.22	40.91	48.61	54.85	61.98	67.22	74.80
Sample 2	8.78	19.56	22.11	24.78	31.33	35.22	38.89	42.44	46.22	58.00
Sample 3	13.89	23.00	28.56	31.67	39.44	44.67	51.11	57.67	63.22	68.89
Sample 4	15.83	25.20	31.10	31.88	40.36	43.37	48.16	54.07	57.75	66.00
Sample 5	9.36	18.06	24.64	26.64	35.12	40.47	48.83	52.95	56.52	63.88

9. ผักฮาก

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	18.88	32.63	38.88	51.28	64.02	72.51	80.22	84.13	90.06	91.73
Sample 2	9.80	18.93	21.71	33.07	43.32	54.01	63.03	67.37	80.07	84.63
Sample 3	8.93	17.63	18.86	29.91	37.61	48.55	57.48	59.38	72.10	78.46
Sample 4	6.39	11.58	13.78	22.60	26.57	33.30	40.13	51.05	59.65	69.57
Sample 5	12.10	22.64	32.19	39.29	46.39	50.17	58.71	70.92	76.47	82.91

10. ผักเฮียก

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	20.82	45.66	62.69	78.84	87.86	89.64	90.31	90.98	90.65	91.09
Sample 2	22.31	44.95	64.59	79.91	87.90	89.57	90.12	90.23	90.90	91.01
Sample 3	18.77	38.53	53.57	69.05	82.22	88.14	89.24	90.01	90.23	90.67
Sample 4	20.77	36.04	52.20	67.36	81.10	87.47	88.90	89.78	90.44	90.55
Sample 5	18.28	37.44	52.75	65.86	80.51	86.89	89.10	89.65	89.76	90.64

11. ผักขี้ขวง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	7.09	8.14	8.40	8.66	10.24	13.65	14.70	14.96	17.98	19.16
Sample 2	8.38	10.70	12.37	12.89	14.95	15.21	16.11	17.14	20.23	22.29
Sample 3	7.35	9.58	9.84	11.42	14.17	15.09	17.06	18.50	19.95	22.18
Sample 4	3.69	8.05	8.44	10.16	10.55	11.21	12.80	14.51	16.62	18.73
Sample 5	1.72	3.30	4.88	6.33	7.78	9.23	11.21	12.66	13.72	17.41

12. **มะนอย**

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	7.14	8.39	8.93	8.93	8.93	10.18	10.54	10.89	12.50	12.50
Sample 2	7.50	8.04	8.39	8.75	8.75	9.46	9.82	11.43	11.79	12.68
Sample 3	5.23	5.96	7.04	7.04	7.22	7.94	8.48	11.01	11.73	11.91
Sample 4	5.72	6.80	7.51	8.05	8.59	8.77	10.20	10.73	11.27	12.88
Sample 5	5.39	6.10	6.28	6.82	6.64	6.82	9.34	10.41	10.77	13.82

13. คาวตอง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	6.87	16.47	19.84	22.18	24.90	26.85	29.70	32.30	36.58	38.00
Sample 2	21.20	23.80	24.97	27.44	29.52	31.47	33.81	35.50	37.84	39.92
Sample 3	10.27	13.69	16.98	19.65	21.42	22.94	24.33	25.86	27.76	29.91
Sample 4	4.62	7.52	9.76	11.74	12.53	14.78	17.02	19.26	21.64	23.61
Sample 5	0.56	2.09	4.46	6.55	7.38	9.61	12.12	14.48	16.99	19.08

14. เพกา

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	26.66	51.25	73.12	80.74	94.89	95.10	95.65	96.74	96.95	98.48
Sample 2	26.94	53.22	71.43	92.04	94.44	94.66	95.09	96.73	96.40	96.84
Sample 3	31.83	76.76	88.11	94.82	95.04	95.04	95.04	94.82	94.93	94.82
Sample 4	33.73	63.53	79.85	91.13	94.52	94.85	94.63	94.85	94.74	94.85
Sample 5	30.47	69.10	90.42	94.99	94.67	94.67	94.67	94.56	94.56	94.78

15. ยอดมันแกว

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	7.03	8.96	10.72	14.06	14.94	16.17	17.40	19.51	20.21	22.85
Sample 2	7.57	9.68	10.56	13.56	14.08	15.85	18.66	19.54	19.89	23.06
Sample 3	7.21	8.61	10.72	13.18	15.11	16.87	17.22	18.80	19.86	22.67
Sample 4	7.05	8.82	10.05	12.52	14.46	16.75	16.93	18.52	19.93	22.57
Sample 5	6.03	9.22	10.46	12.23	14.18	15.60	16.13	17.02	19.33	22.70

16. ผักไผ่

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	6.87	7.53	16.07	16.37	16.79	17.15	19.12	21.41	22.26	25.17
Sample 2	11.05	12.54	13.23	14.56	11.50	11.96	12.80	12.64	12.51	17.06
Sample 3	12.22	10.11	11.62	11.87	12.25	12.89	21.20	22.36	18.13	20.21
Sample 4	13.17	6.99	11.53	11.75	11.18	12.67	24.17	21.58	18.42	19.02
Sample 5	12.25	10.41	23.20	19.28	20.74	21.87	20.37	21.22	21.02	23.20

17. ผักขี้หูด

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	3.69	4.02	4.25	5.36	5.36	5.36	5.81	6.93	6.82	8.60
Sample 2	1.78	1.89	2.00	2.11	2.44	2.55	4.00	4.11	5.99	7.55
Sample 3	1.34	1.23	1.67	1.78	2.45	3.12	4.35	5.24	5.91	7.25
Sample 4	2.79	4.35	5.58	7.03	7.14	7.25	8.71	9.38	10.04	10.60
Sample 5	5.68	7.57	7.91	7.91	7.91	9.35	11.25	11.58	11.80	12.25

18. ผักดีด

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	9.62	18.25	25.68	30.05	39.56	48.20	56.50	64.04	72.02	79.56
Sample 2	14.19	27.18	38.21	50.00	61.79	75.66	86.68	93.01	93.67	94.43
Sample 3	14.73	29.34	40.22	58.24	72.31	87.47	93.85	94.73	94.95	95.60
Sample 4	2.64	19.34	38.79	54.07	71.98	85.60	91.21	92.75	93.19	93.19
Sample 5	0.33	4.81	15.74	24.15	32.35	42.95	51.04	61.97	70.38	80.55

19. ผักเผ็ด

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	4.37	5.57	6.78	8.09	9.07	10.49	12.24	11.91	12.57	17.27
Sample 2	5.76	6.98	8.87	11.09	11.97	13.30	15.63	17.29	18.51	20.18
Sample 3	1.22	2.89	6.33	7.66	8.55	9.99	11.88	13.10	16.09	19.53
Sample 4	1.11	5.22	6.44	9.10	10.65	11.65	13.98	15.87	18.09	19.76
Sample 5	4.02	6.48	10.06	13.30	14.64	16.42	18.77	22.35	26.26	31.84

20. ยอดขิง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	11.62	17.78	18.66	23.42	27.29	28.17	31.16	31.69	33.98	36.80
Sample 2	12.04	17.17	18.23	22.48	27.08	28.50	30.09	30.44	31.50	34.69
Sample 3	12.32	18.13	18.31	22.89	27.29	28.17	30.99	32.22	32.39	34.51
Sample 4	12.04	17.52	18.23	22.48	26.73	27.79	30.62	31.68	31.50	33.98
Sample 5	11.48	17.49	18.55	23.32	26.68	27.92	30.57	31.98	32.33	33.75

21. คะน้า

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	9.84	11.27	12.95	14.64	17.10	18.52	20.21	21.11	22.67	23.45
Sample 2	16.50	17.90	19.31	20.97	23.02	23.91	25.32	25.83	26.47	27.11
Sample 3	11.18	12.33	14.49	15.25	15.37	15.50	17.79	18.42	21.09	22.87
Sample 4	4.62	7.75	9.75	10.13	10.75	12.00	13.25	15.13	16.50	20.25
Sample 5	12.53	13.17	13.43	16.75	17.39	18.93	19.82	22.38	25.70	25.83

22. ผักกาดขาว

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	2.88	5.12	9.13	10.88	11.63	14.88	15.00	16.13	17.88	20.50
Sample 2	9.31	11.19	11.95	13.33	14.09	15.09	15.47	16.73	19.75	20.38
Sample 3	9.71	10.09	12.01	12.39	13.79	14.43	14.43	18.26	18.39	18.77
Sample 4	6.68	10.45	11.08	13.60	13.98	14.74	15.24	15.87	19.02	21.91
Sample 5	1.00	4.87	7.37	9.88	12.25	13.00	15.50	15.63	18.38	20.75

23. ผักบุ้ง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
Sample 1	13.47	15.16	16.84	18.52	20.98	22.41	25.39	25.91	26.30	27.07
Sample 2	16.50	18.03	21.99	23.66	24.42	25.19	26.60	26.98	27.49	28.26
Sample 3	11.18	12.33	14.49	15.25	15.37	15.50	17.79	18.42	21.86	22.87
Sample 4	4.62	7.75	9.75	10.13	10.75	12.00	13.25	15.13	16.50	20.25
Sample 5	12.53	13.17	13.43	16.75	17.39	18.93	19.82	22.38	25.70	25.83

ภาคผนวก ง

ตารางที่ 12 Superoxide anion scavenging activity (%) ของพืชอาหารพื้นบ้านชนิดต่างๆ

เม่า

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	20.25	24.05	28.48	34.18	37.97	41.14	43.67	45.57	48.10	51.27
sample 2	14.65	20.38	22.93	26.11	29.30	31.21	35.03	38.22	42.04	47.77
sample 3	25.16	29.68	33.55	36.77	38.71	42.58	46.45	52.90	54.84	56.13
sample 4	14.47	17.11	20.39	23.68	26.97	30.92	34.21	37.50	41.45	46.71
sample 5	20.51	24.36	28.21	32.05	38.46	41.67	45.51	49.36	52.56	55.77

มะปรางอ่อน

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	43.57	45.00	45.71	46.43	54.29	57.14	59.29	61.43	62.86	65.71
sample 2	49.32	50.00	58.90	59.59	59.59	58.90	60.27	63.01	63.70	62.33
sample 3	49.34	51.32	50.66	57.89	60.53	61.18	63.16	66.45	67.11	67.76
sample 4	42.95	44.97	48.99	57.72	59.73	60.40	61.74	63.09	64.43	67.11
sample 5	44.67	46.00	48.00	50.00	58.00	59.33	62.00	63.33	66.00	69.33

ผักปู่ย่า

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	31.36	39.05	43.20	51.48	54.44	57.40	66.27	75.15	80.47	92.90
sample 2	26.06	32.73	39.39	40.61	44.85	46.06	52.12	60.61	65.45	89.09
sample 3	35.54	44.58	48.19	51.20	56.02	59.04	66.87	71.08	84.94	86.75
sample 4	31.74	35.33	40.12	43.11	49.10	53.89	60.48	65.87	71.26	75.45
sample 5	29.09	33.94	37.58	42.42	47.27	52.73	58.18	64.24	70.30	74.55

หอมด่วนหลวง

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	53.61	56.02	58.43	60.84	62.05	63.25	65.66	66.27	67.47	68.67
sample 2	53.99	55.21	55.21	56.44	57.67	58.90	60.12	61.35	63.19	64.42
sample 3	54.38	56.25	57.50	58.75	59.38	60.00	60.63	62.50	62.50	63.75
sample 4	50.00	51.22	53.66	56.10	59.15	62.20	65.24	67.68	70.12	71.95
sample 5	49.69	53.46	55.97	59.12	61.64	63.52	64.78	66.67	69.18	70.44

ผักก้านถง

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	38.85	41.40	45.22	47.77	49.04	53.50	57.32	59.24	59.87	61.78
sample 2	44.16	48.70	50.00	50.65	53.25	56.49	58.44	60.39	61.69	64.29
sample 3	42.31	44.23	45.51	46.15	47.44	48.72	53.85	57.69	60.90	62.18
sample 4	41.14	43.04	44.94	46.20	48.73	51.90	53.80	57.59	60.76	63.92
sample 5	37.82	39.74	42.31	44.87	47.44	50.64	54.49	56.41	58.33	61.54

ผักฮ้วนหมู

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	-5.10	4.46	9.55	17.20	23.57	25.48	28.66	29.94	31.21	36.31
sample 2	-8.12	1.88	10.63	11.88	15.63	16.88	20.63	27.50	35.63	38.13
sample 3	1.23	4.32	7.41	13.58	17.90	19.14	25.93	27.16	32.72	37.04
sample 4	-4.46	0.64	7.64	15.29	19.75	23.57	28.66	33.12	37.58	40.13
sample 5	-6.87	-0.63	5.00	13.75	18.75	23.13	28.75	31.25	35.00	37.50

ผักฮาก

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	13.043	14.907	16.770	18.012	20.497	22.360	24.845	24.845	26.708	27.329
sample 2	-38.46	-25.44	-23.08	-21.30	-4.73	-1.18	5.92	16.57	17.16	41.42
sample 3	-18.50	-16.18	-13.87	-6.94	1.16	5.78	12.14	13.29	17.34	32.37
sample 4	-18.50	-16.18	-11.56	-5.78	1.73	5.78	10.98	13.29	16.76	26.59
sample 5	-13.29	-10.40	-5.78	-1.16	3.47	11.56	16.76	19.65	23.12	26.59

ผักเฮียก

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	6.94	22.54	28.32	31.79	32.95	36.42	37.57	41.04	43.93	46.24
sample 2	8.24	17.06	24.12	27.06	36.47	40.59	42.94	44.71	47.06	51.76
sample 3	10.98	12.20	18.90	31.71	35.37	38.41	43.29	45.73	47.56	54.27
sample 4	11.18	14.71	19.41	23.53	31.76	35.29	40.59	43.53	45.88	49.41
sample 5	10.18	13.77	18.56	25.15	27.54	31.14	39.52	43.11	45.51	48.50

เพกา

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	-41.61	-28.19	-18.12	-11.41	-0.67	13.42	19.46	24.83	28.19	40.27
sample 2	-36.84	-31.58	-20.39	-15.13	-5.26	1.97	17.76	29.61	38.82	42.76
sample 3	-3.25	-0.65	7.14	12.99	22.08	24.68	27.92	32.47	38.31	41.56
sample 4	-29.93	-26.53	-21.77	-17.69	-6.80	-1.36	5.44	11.56	17.69	25.17
sample 5	-31.29	-27.21	-23.13	-17.01	-10.88	-2.04	4.08	14.97	25.17	33.33

ผักดีด

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	-37.95	-19.88	-9.64	-5.42	14.46	22.89	31.33	33.73	34.34	56.02
sample 2	-59.15	-41.46	-28.66	-19.51	6.10	17.68	30.49	41.46	49.39	55.49
sample 3	-5.23	-1.16	18.60	23.26	24.42	26.74	31.98	37.21	40.12	44.77
sample 4	-29.59	-17.75	-14.20	-4.14	5.33	16.57	25.44	32.54	41.42	50.89
sample 5	-40.00	-31.18	-20.00	-3.53	8.24	21.76	31.18	39.41	49.41	57.06

คะน้า

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	-17.45	-4.70	0.67	4.03	13.42	20.13	24.83	26.85	28.86	31.54
sample 2	0.00	5.63	10.00	16.25	16.88	18.13	23.13	30.00	32.50	45.00
sample 3	-5.42	0.60	20.48	25.90	30.72	31.93	36.14	40.96	49.40	51.81
sample 4	-9.70	-1.82	14.55	18.79	23.64	26.06	32.12	36.97	43.03	45.45
sample 5	-9.09	4.55	9.09	13.64	22.73	27.92	32.47	35.71	40.26	43.51

ผักกาดขาว

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	14.20	16.57	20.12	23.67	26.04	28.40	32.54	43.20	43.79	45.56
sample 2	35.54	37.35	37.95	39.76	41.57	43.37	44.58	44.58	45.78	46.39
sample 3	26.19	28.57	32.74	37.50	39.88	41.07	42.26	43.45	50.60	50.60
sample 4	17.07	22.56	25.00	29.88	34.15	37.20	39.02	43.90	47.56	51.22
sample 5	14.88	17.86	21.43	25.00	27.38	30.36	32.74	35.71	40.48	43.45

ผักบุ้ง

[ ] (µg/ml)	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
sample 1	-83.22	-71.81	-67.79	-48.32	-31.54	-9.40	-3.36	8.72	12.75	16.78
sample 2	-69.28	-32.03	-23.53	-11.11	3.27	10.46	16.34	18.30	20.26	22.88
sample 3	-64.56	-32.91	-18.35	-9.49	3.80	3.80	7.59	13.92	16.46	18.99
sample 4	-71.61	-53.55	-32.26	-21.94	-15.48	-9.03	7.10	17.42	22.58	34.19
sample 5	-66.67	-51.92	-41.67	-32.69	-22.44	-10.26	-1.28	4.49	11.54	22.44

ภาคผนวก จ

ตารางที่ 13 Hydrogen peroxide scavenging activity (%) ของพืชอาหารพื้นบ้านชนิดต่างๆ

เม่า

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	4.46	5.09	8.48	9.11	9.23	10.50	11.91	13.61	15.54	16.53
sample 2	3.72	4.28	4.30	4.46	5.12	6.88	10.02	10.91	11.81	17.36
sample 3	3.69	4.17	6.13	7.21	8.96	9.48	9.78	10.24	11.54	16.43
sample 4	3.16	5.00	7.09	9.18	11.54	13.57	15.19	16.06	16.48	17.15
sample 5	2.93	3.90	5.48	6.70	7.25	9.08	9.55	11.39	13.35	14.50

มะปรางอ่อน

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	45.70	46.64	50.33	52.10	52.69	52.93	53.03	53.48	53.93	54.05
sample 2	49.21	49.68	50.05	51.09	51.26	51.67	52.01	52.38	52.70	52.94
sample 3	43.79	46.60	50.97	54.06	55.42	56.44	58.82	59.02	60.07	60.12
sample 4	45.66	48.28	51.57	53.06	55.61	57.13	58.88	59.60	60.91	62.90
sample 5	47.72	47.01	51.81	53.16	52.24	51.68	51.28	53.10	54.09	53.90

ผักปู่ย่า

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	38.41	40.85	41.07	42.37	43.61	44.00	45.63	47.16	48.07	49.27
sample 2	41.24	42.46	43.32	44.33	45.60	46.71	47.40	48.04	49.09	49.81
sample 3	36.62	42.35	45.91	46.50	47.05	47.62	47.70	47.90	48.35	49.33
sample 4	36.56	38.81	40.89	41.19	44.35	46.34	47.63	48.89	49.77	49.68
sample 5	37.05	38.19	40.02	42.36	43.58	45.94	47.51	48.72	49.24	50.64

หอมด่วนหลวง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	55.81	55.85	56.07	56.52	56.77	57.70	57.96	58.12	58.56	59.96
sample 2	56.42	57.25	58.28	58.35	58.65	59.70	60.17	61.00	61.41	61.47
sample 3	57.14	57.28	57.40	57.43	57.74	58.91	60.20	60.26	60.47	60.68
sample 4	55.15	55.49	56.01	56.76	57.62	58.37	58.50	59.64	60.20	61.08
sample 5	56.17	58.88	61.95	64.70	67.34	69.08	70.60	72.02	74.93	77.03

ผักก้านถง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	42.26	46.78	47.75	48.30	49.69	50.58	51.45	52.81	53.52	52.58
sample 2	37.30	43.67	44.83	45.35	45.81	46.65	46.97	47.56	48.50	48.66
sample 3	42.01	43.10	45.18	48.01	49.18	50.01	50.33	51.58	52.83	53.94
sample 4	41.70	43.22	44.60	45.93	47.56	48.27	50.23	50.56	50.97	51.65
sample 5	38.77	40.28	41.67	42.38	43.30	45.75	47.85	48.61	49.53	51.60

ผักฮ้วนหมู

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	3.71	5.69	6.11	7.23	8.04	8.27	9.66	10.01	10.20	10.03
sample 2	2.32	2.76	3.48	3.38	4.65	4.74	5.10	5.58	5.70	7.23
sample 3	2.45	2.80	2.91	3.98	4.56	4.67	4.38	5.36	5.52	7.15
sample 4	2.60	2.86	3.57	3.83	4.24	5.02	5.28	6.04	6.58	7.05
sample 5	0.98	2.20	2.84	3.56	4.13	5.67	6.13	7.00	7.45	8.31

ผักฮาก

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	9.88	12.68	17.02	17.16	17.36	17.97	18.69	24.00	38.80	49.32
sample 2	7.71	9.66	15.96	17.66	18.22	25.65	30.28	29.67	41.62	42.25
sample 3	11.80	23.59	30.56	35.51	36.67	38.86	42.04	45.70	47.92	52.55
sample 4	6.79	17.93	21.90	27.28	29.82	32.82	33.37	34.44	34.83	35.09
sample 5	13.66	18.51	20.35	21.79	24.17	25.87	28.56	31.08	32.59	34.51

ผักเฮียก

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	52.03	52.74	53.69	54.06	54.94	55.23	55.76	56.16	57.16	57.24
sample 2	49.67	49.84	53.20	53.55	53.69	54.00	56.05	58.81	62.16	64.23
sample 3	52.90	53.50	53.30	53.90	54.49	56.41	57.16	58.66	60.12	64.47
sample 4	51.46	51.91	53.54	56.53	58.97	62.49	63.42	64.08	64.90	65.03
sample 5	49.20	50.20	51.62	53.71	58.62	60.10	62.68	63.74	64.15	65.13

เพกา

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	11.98	14.01	15.26	15.72	17.52	23.01	23.60	24.95	25.10	25.23
sample 2	18.55	20.34	20.60	20.64	20.73	21.28	21.89	22.81	25.02	28.13
sample 3	14.94	16.32	22.31	23.51	24.66	31.85	32.64	32.78	33.48	34.16
sample 4	13.71	14.80	15.73	17.54	19.86	21.37	23.55	24.35	24.89	26.50
sample 5	11.30	12.37	14.54	15.81	17.79	19.81	21.05	22.60	24.04	26.19

ผักดีด

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	43.18	43.84	44.66	45.16	45.45	45.91	46.12	46.91	48.87	49.43
sample 2	39.30	40.58	41.11	41.35	42.37	43.21	43.32	43.84	44.11	45.02
sample 3	35.08	35.38	35.51	36.60	36.78	37.09	37.37	37.69	37.78	42.73
sample 4	37.20	37.22	37.95	39.44	42.24	44.48	46.19	47.71	48.62	51.56
sample 5	42.91	43.04	43.45	43.78	44.97	45.66	46.07	46.43	47.17	47.56

คะน้า

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	2.69	3.24	3.34	3.58	4.11	4.77	6.26	8.66	10.30	11.13
sample 2	8.99	9.53	9.74	10.96	11.67	12.63	14.75	14.96	15.37	15.77
sample 3	5.88	8.39	9.04	10.14	10.62	11.26	11.88	12.07	12.33	13.06
sample 4	4.50	3.39	3.55	5.39	6.62	8.80	11.23	13.29	15.19	17.24
sample 5	3.95	4.22	4.73	5.03	5.79	6.37	7.66	9.32	10.21	10.96

ผักกาดขาว

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	-2.86	-2.23	-1.33	1.94	2.50	3.53	4.94	6.32	8.74	11.11
sample 2	0.88	2.56	2.88	3.53	4.46	5.00	6.03	6.48	6.98	8.00
sample 3	1.66	2.50	3.65	4.83	6.02	6.27	6.70	7.58	8.40	8.91
sample 4	-0.85	0.17	0.89	2.55	3.55	5.11	6.37	6.90	8.29	9.29
sample 5	-1.11	-0.60	-0.25	0.64	1.55	3.46	5.02	6.31	7.52	7.93

ผักบุ้ง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	-1.03	-0.42	1.43	3.78	5.63	6.20	6.33	6.61	8.94	11.27
sample 2	-1.47	-0.44	0.81	1.48	2.19	5.55	7.12	9.10	11.45	12.55
sample 3	-1.12	-1.06	-0.35	-0.16	2.46	3.53	4.68	5.26	5.83	6.48
sample 4	-1.57	-1.71	-0.28	1.39	2.68	3.64	5.42	5.89	6.18	8.46
sample 5	-1.77	-0.34	0.79	2.35	2.66	3.88	4.04	4.46	4.97	6.02

ภาคผนวก ฉ

ตารางที่ 18 Hydroxyl radical scavenging activity (%) ของพืชอาหารพื้นบ้านชนิดต่างๆ

เม่า

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	48.99	50.34	51.68	51.68	52.35	53.02	54.36	55.03	55.70	56.38
sample 2	49.66	50.34	51.68	52.35	53.02	54.36	55.03	55.70	56.38	57.05
sample 3	48.32	49.66	49.66	50.34	50.34	51.68	52.35	53.02	53.69	55.03
sample 4	46.98	48.32	50.34	51.68	53.02	53.69	55.03	56.38	57.72	59.06
sample 5	48.32	49.66	50.34	53.02	55.03	55.70	56.38	57.72	57.72	58.39

มะปรางอ่อน

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	48.99	51.01	55.70	60.40	61.74	61.74	63.09	63.76	64.43	67.11
sample 2	49.66	53.02	54.36	56.38	60.40	63.76	64.43	65.10	65.10	66.44
sample 3	50.34	56.38	57.72	58.39	60.40	60.40	61.74	63.76	65.10	71.14
sample 4	49.66	53.02	56.38	59.73	62.42	64.43	66.44	68.46	71.14	73.15
sample 5	51.68	53.69	55.03	58.39	60.40	61.74	64.43	66.44	68.46	70.47

ผักปู่ย่า

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	45.65	47.10	49.28	50.72	52.90	55.07	57.25	59.42	61.59	63.77
sample 2	46.48	48.59	50.70	54.23	57.75	59.15	61.97	64.79	67.61	70.42
sample 3	45.07	47.18	50.70	52.82	54.93	57.75	60.56	63.38	66.90	71.83
sample 4	44.37	47.18	50.00	52.82	55.63	59.15	61.97	66.20	68.31	69.72
sample 5	46.48	48.59	52.11	54.93	58.45	60.56	63.38	66.20	66.90	68.31

หอมด่วนหลวง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	41.67	44.44	47.92	51.39	47.22	50.00	52.78	54.17	55.56	57.64
sample 2	38.19	40.28	43.06	45.14	47.22	48.61	51.39	54.17	56.94	59.72
sample 3	39.58	42.36	44.44	47.22	49.31	52.78	54.86	56.94	59.72	61.81
sample 4	40.97	43.75	45.83	47.92	50.00	52.78	54.86	58.33	61.11	63.19
sample 5	43.06	45.83	47.22	49.31	52.78	56.25	59.03	61.81	64.58	65.97

ผักก้านถง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	37.93	56.55	57.24	57.93	59.31	60.00	60.00	62.07	64.14	66.90
sample 2	48.97	49.66	55.17	56.55	57.24	57.93	60.00	61.38	61.38	64.83
sample 3	43.45	44.83	50.34	51.03	51.72	52.41	53.10	53.10	55.86	57.24
sample 4	45.52	47.59	48.97	49.66	51.72	53.79	55.17	57.24	60.00	62.07
sample 5	41.38	42.76	45.52	48.97	51.03	52.41	54.48	55.17	56.55	58.62

ผักฮ้วนหมู

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	27.59	28.97	37.93	42.76	44.83	46.21	47.59	49.66	51.03	60.00
sample 2	20.69	25.52	26.90	27.59	34.48	37.93	38.62	45.52	46.90	46.90
sample 3	13.10	13.79	20.69	21.38	23.45	34.48	35.17	36.55	39.31	44.83
sample 4	18.62	22.76	27.59	31.03	32.41	34.48	36.55	39.31	43.45	47.59
sample 5	16.55	20.69	26.90	32.41	35.17	37.93	42.07	46.21	48.28	50.34

ผักฮาก

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	32.65	34.01	35.37	38.78	41.50	44.22	46.94	51.02	55.78	61.22
sample 2	32.65	34.69	38.10	40.82	44.22	48.98	52.38	56.46	59.18	63.95
sample 3	33.33	34.69	36.73	38.78	40.82	44.90	48.98	52.38	56.46	59.18
sample 4	37.41	41.50	45.58	48.30	51.70	53.74	56.46	58.50	60.54	62.59
sample 5	41.50	44.22	45.58	50.34	52.38	54.42	56.46	59.18	61.22	63.27

ผักเฮียก

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	38.46	39.86	41.96	44.06	46.85	48.25	51.05	53.15	55.24	56.64
sample 2	42.66	44.06	46.15	47.55	49.65	51.75	55.24	56.64	58.04	58.74
sample 3	41.26	44.06	46.15	47.55	49.65	51.05	53.15	55.94	58.04	60.14
sample 4	40.56	42.66	46.15	47.55	48.95	51.05	53.15	55.24	58.04	60.14
sample 5	40.56	41.96	43.36	45.45	47.55	49.65	51.05	53.15	55.24	58.04

เพกา

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	46.85	48.25	48.25	49.65	51.05	52.45	53.85	55.94	57.34	58.04
sample 2	47.55	48.95	49.65	51.05	52.45	53.15	54.55	55.24	56.64	58.04
sample 3	39.86	41.26	41.96	44.06	46.15	48.25	48.95	50.35	52.45	53.15
sample 4	45.45	46.15	48.25	51.05	52.45	53.85	55.94	57.34	59.44	60.84
sample 5	47.55	48.25	50.35	51.75	53.85	55.24	55.94	58.04	60.14	62.24

ผักดีด

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	36.81	45.14	55.56	57.64	60.42	60.42	64.58	65.97	66.67	67.36
sample 2	34.03	36.11	39.58	44.44	48.61	56.25	60.42	66.67	70.14	72.92
sample 3	38.19	42.36	45.14	48.61	52.78	58.33	64.58	69.44	72.92	75.69
sample 4	40.97	44.44	49.31	54.86	59.72	64.58	66.67	69.44	72.22	75.00
sample 5	35.42	38.89	41.67	47.22	51.39	56.25	60.42	65.28	70.14	74.31

คะน้า

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	33.10	33.80	40.14	42.25	42.96	43.66	44.37	44.37	45.07	49.30
sample 2	42.25	47.89	49.30	50.00	50.00	52.11	52.11	59.15	62.68	66.20
sample 3	30.28	31.69	33.10	34.51	38.03	39.44	42.25	43.66	45.77	47.89
sample 4	36.62	38.73	40.85	42.25	43.66	45.07	46.48	47.89	49.30	50.70
sample 5	38.73	40.14	42.25	45.07	49.30	53.52	56.34	59.15	61.97	64.79

ผักกาดขาว

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	25.50	30.87	35.57	37.58	39.60	42.28	44.97	49.66	53.02	55.70
sample 2	38.93	41.61	42.95	44.30	44.97	47.65	49.66	51.01	53.02	61.74
sample 3	28.19	35.57	38.26	40.27	42.28	44.97	47.65	51.01	54.36	59.06
sample 4	26.85	34.90	38.93	42.28	44.30	46.31	50.34	53.02	55.70	57.72
sample 5	37.58	39.60	42.28	44.97	49.66	53.02	54.36	55.70	58.39	61.07

ผักบุ้ง

[ ] (µg/ml)	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
sample 1	21.09	23.13	24.49	27.21	27.89	30.61	34.01	36.73	38.10	40.82
sample 2	23.13	24.49	26.53	27.21	27.89	28.57	29.93	32.65	33.33	34.69
sample 3	22.45	26.53	27.89	27.89	28.57	29.25	29.93	30.61	33.33	35.37
sample 4	23.13	23.81	27.89	30.61	31.97	32.65	36.05	38.10	38.78	41.50
sample 5	21.77	24.49	25.85	28.57	32.65	34.01	35.37	36.73	38.78	40.14

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกมลวรรณ โชติพฤฒิพงศ์ เกิดเมื่อวันที่ 17 มิถุนายน พ.ศ. 2528 ที่จังหวัดสุโขทัย สำเร็จการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2550 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อปี พ.ศ. 2551