

## บทที่ 2

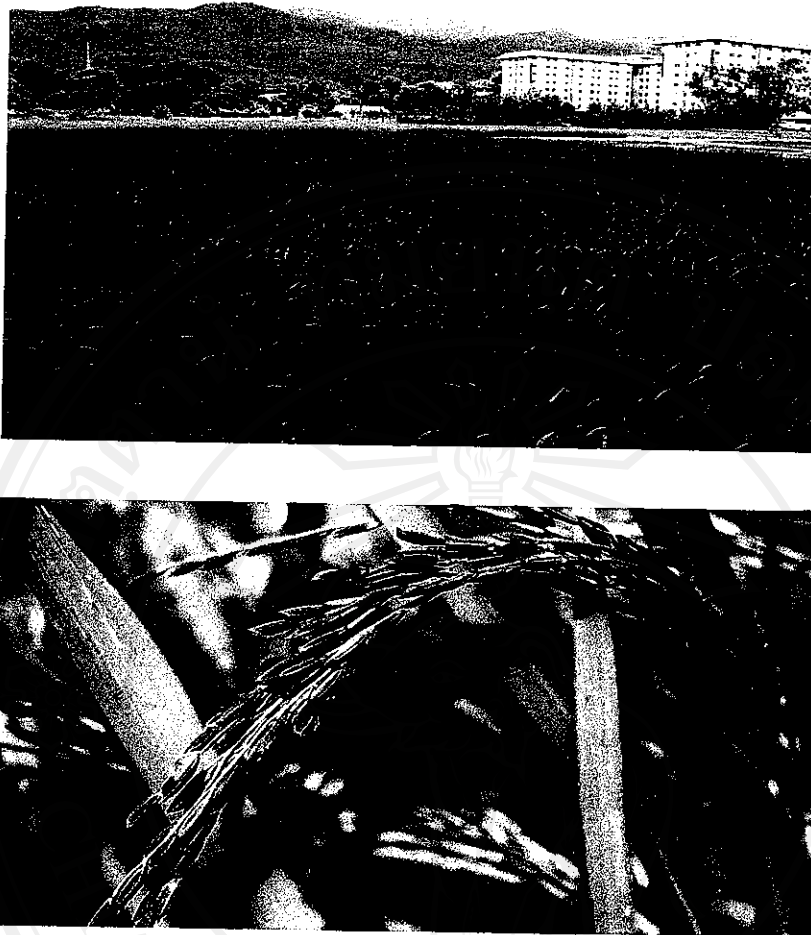
### ตรวจเอกสาร

#### 2.1 ข้าวเหนียวดำ (*Oryza sativa* L.)

ข้าวดำ เป็นภาษาพื้นบ้านทางภาคเหนือที่ใช้เรียกข้าวที่มีสีม่วงดำ ซึ่งมีทั้งข้าวเหนียวและข้าวเจ้า เป็นพืชที่นิยมปลูกกันมากทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย ส่วนใหญ่มักเป็นข้าวเหนียว ดังนั้นโดยทั่วไปจึงมักเข้าใจว่า ข้าวดำหมายถึงข้าวเหนียวดำเท่านั้น ข้าวดำมีลักษณะทางกายภาพที่สามารถสังเกตได้ชัดเจน คือ ลำต้นและเมล็ดจะมีสีม่วงถึงสีม่วงดำ สีเมล็ดจะแตกต่างกันเนื่องจากอิทธิพลของแสง อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเจริญเติบโต (ชัยวุฒิ, 2545) ดังใน Figure 2.1 ในแถบเอเชีย เช่น ไทย จีน ญี่ปุ่น คนโบราณมีความเชื่อว่าส่วนที่มีสีม่วงดำซึ่งเป็นเยื่อหุ้มเมล็ด (pericarp) ของข้าวดำมีคุณสมบัติเป็นยา สอดคล้องกับงานวิจัยในปัจจุบันที่พบว่าสีม่วงดำของข้าวดำ มีสารในกลุ่มฟีนอลิกต่างๆ วิตามินอี และแกมมา-โอไรซานอล ที่มีคุณสมบัติทำลายอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง (Goffman and Bergman, 2003; Han *et al.*, 2004) โดยเฉพาะแกมมาโอไรซานอล โพรแอนโธไซยานิน และธาตุเหล็กที่พบในรำข้าวเหนียวดำในปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวขาว

ปกติเมื่อนำข้าวเปลือกมาสีจะได้รำข้าว 9% โดยประมาณ รำข้าวประกอบไปด้วยกลีบซึ่งเป็นส่วนชั้นนอกสุดปนมาบ้าง ส่วนของเปลือกชั้นในที่ติดกับเมล็ด (bran) ส่วนของจมูกข้าว (germ) ส่วนของปลายข้าว (broken rice) และอาจมีส่วนของเมล็ดข้าวติดมาบ้าง (พันทิพา, 2547) ในส่วนของคุณค่าทางอาหาร ส่วนของรำข้าวเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ทั้ง แกมมา-โอไรซานอล โทโคฟีรอล และโทโคไตรอีนอล (Aguilar-Garcia *et al.*, 2006, Nam *et al.*, 2006) และมีหลายงานทดลองที่รายงานว่ารำข้าวดำหรือรำข้าวสีดำมีสารอาหารที่มีประโยชน์ค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวขาว โดยเฉพาะโปรตีน เยื่อใย แร่ธาตุ เช่น ฟอสฟอรัส แคลเซียม โปแตสเซียม เหล็ก และวิตามินหลายชนิด

All rights reserved



**Figure 2.1.** Black glutinous rice was grown in Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

**Table 2.1.** Composition of black rice and white rice outer layer fractions (Ling *et al.*, 2002)

Ingredient	Black rice outer layer fraction	White rice outer layer fraction
	Units/100 g	
Protein, g	13.90	12.20
Fat, g	13.20	14.10
Carbohydrate, g	47.36	50.95
Water, g	9.80	7.96
Fiber, g	8.32	7.04
Mineral, g	7420	7750
Phosphorus	1694.10	1542.50
Calcium	60.20	45.30
Potassium	673.70	624.60
Magnesium	79.40	80.40
Sodium	2.11	4.35
Iron	16.46	6.30
Zinc	8.96	4.92
Copper	1.49	0.91
Selenium	0.15	0.06
Vitamins, mg		
Thiamin	2.30	1.20
Riboflavin	0.40	0.14
Vitamin E	0.60	0.30
Niacin	21.00	13.00
Flavonoids, g	6.40	1.17

## 2.2 สารสำคัญในข้าวกล้อง

### 2.2.1 แอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิน (anthocyanin and proanthocyanidin)

#### 2.2.1.1 ลักษณะทางเคมีของแอนโทไซยานิน

เป็นรงควัตถุสีแดง สีม่วง หรือสีน้ำเงิน ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น diphenylpropanoide (C6(A-ring)-C3(C-ring)-C6(B-ring)) โดยตำแหน่งที่ 2 ของ chromane ring จะเชื่อมติดกับ aromatic ring B (Hou *et al.*, 2003; He, 2004) หรืออาจเรียกว่า 2-phenylbenzopyrylium (flavylium) skeleton (Figure 2.2) (Kong *et al.*, 2003; Escribano-Bailon *et al.*, 2004) แอนโทไซยานินที่พบในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของโมเลกุลแอนโทไซยานินดิน (pelargonidin (Pg) peonidin (Pn) cyanidin (Cy) malvidin (Mv) petunidin (Pt) และ delphinidin (Dp)) (Hou *et al.*, 2003; Kong *et al.*, 2003) จับกับหมู่น้ำตาลชนิดต่างๆ (glycosides) เช่น กลูโคส กาแลคโตส และมีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลที่ต่างกัน ทำให้แอนโทไซยานินมีหลายอนุพันธ์ และมีความสามารถในการต้านทานอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน (Hou *et al.*, 2003) โดย 85% ของแอนโทไซยานินที่พบในข้าวสีม่วง คำจะอยู่ในรูป cyanidin-3-glucoside (Mazza and Miniati, 1993; Chung and Woo, 2001) และ peonidin-3-glucoside (Hu *et al.*, 2003; Escribano-Bailon *et al.*, 2004; Oki *et al.*, 2006) ส่วนที่เหลือจะเป็นแอนโทไซยานินอนุพันธ์อื่นๆ เช่น cyanidin-3-rhamnoside cyaniding-3,5-rhamnoglucoside (Mazza and Miniati, 1993) cyaniding-3,5-diglucoside malvidin palargonidin-3,5-diglucoside (Zhang *et al.*, 2006) เป็นต้น

แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้าง ortho-dihydroxyphenyl ของ B ring เช่นเดียวกับสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์อื่นๆ (Rice-Evans *et al.*, 1996; Tsuda *et al.*, 1996; Burda and Oleszek, 2001; Hou *et al.*, 2003) แอนโทไซยานินอนุพันธ์ต่างๆ ที่มีในพืชจะทำงานแบบเสริมฤทธิ์กัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (Stintzing *et al.*, 2002) และสามารถใช้ทดแทนวิตามินซีและอี เพื่อป้องกันการออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในระหว่างการปรุงอาหาร การเก็บรักษา และระหว่างกระบวนการย่อยอาหารในร่างกาย (Frank *et al.*, 2002; Miller *et al.*, 2002) ดังนั้นแอนโทไซยานินที่มีในต้นพืชนอกจากจะมีสีที่ดึงดูดแมลงให้ผสมเกสรแล้วยังทำหน้าที่ในกลไกของการต้านทานโรค (Escribano-Bailon *et al.*, 2004) เมื่อคนและสัตว์ได้รับแอนโทไซยานินเข้าสู่ร่างกาย แอนโทไซยานินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จะทำหน้าที่ป้องกันการออกซิเดชันของสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ทั้งไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ เช่น การป้องกันกระบวนการออกซิเดชันของไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein: LDL) โดยทำหน้าที่คล้ายกับวิตามินซี เนื่องจากแอนโทไซยานินมีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำ (Meyer *et al.*, 1998; Ramirez-Tortosa *et al.*, 2001; Viljanen *et al.*, 2004) การป้องกันการสร้าง plaque ที่บริเวณหลอดเลือดซึ่งจะนำมาสู่การเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (Miller *et al.*, 2002) โรคเบาหวาน (Qureshi *et al.*, 2002; Morimitsu *et al.*, 2002)

รวมถึงยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งโดยยับยั้งกระบวนการ phosphorylation ของเอนไซม์ protein kinase ในวิถี extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) และ c-jun N-terminal kinase (JNK pathway) (mitogen-activated protein kinase; MAPK) ที่ไซกระดุก (Hou *et al.*, 2003, 2004; Konczak-Islam *et al.*, 2003) ถั่วลิสง (Hyun *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2003; Katsube *et al.*, 2003; Hagiwara *et al.*, 2001; Zhao *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005a) หรือในกระเพาะอาหาร นอกจากนี้แอนโทไซยานินยังมีคุณสมบัติช่วยลดการอักเสบ เป็นสารต้านการเจริญของแบคทีเรีย (antibacterial agents) (Kong *et al.*, 2003) และช่วยให้เซลล์ประสาททำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

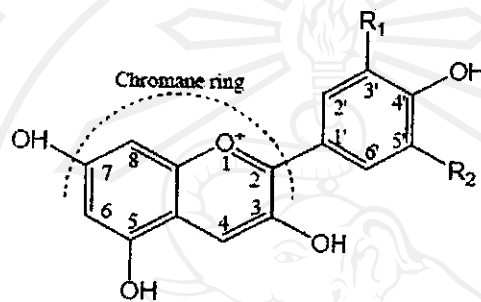


Figure 2.2. Basic structure of anthocyanins (flavylium cation).

Name	Substitution		Visible color	Visible max. (nm) in MeOH-HCl
	R1	R2		
Cyanidin (Cy)	OH	H	} magenta	535
Peonidin (Pn)	OCH3	H		532
Pelargonidin (Pg)	H	H	red	520
Malvidin (Mv)	OCH3	OCH3	} purple	542
Delphinidin (Dp)	OH	OH		546
Petunidin (Pt)	OCH3	OH		543

Adapted from He (2004)

### 2.2.1.2 ลักษณะทางเคมีของโปรแอนโทไซยานิดิน

เดิมเรียกว่าแทนนิน เป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกที่ละลายน้ำ มีมวลโมเลกุล 500-3,000 ดาลตัน (Figure 2.3) เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ที่มีสารตั้งต้นเป็น 3-malonyl-CoA กับ 4-coumaroyl-CoA เช่นเดียวกับแอนโทไซยานิน จนถึงขั้นตอนหลังจากที่ได้ flavan-3,4-diol หรือ leucocyanidin แอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิดินจะใช้เอนไซม์ต่างกันคือ leucoanthocyanidin dioxygenase (LDOX) และ leucoanthocyanidin reductase (LAR) ตามลำดับ (Figure 2.4) โปรแอนโทไซยานิดิน หรือ condensed tannin พบในข้าวกล้องประมาณ 0.044-0.103 % ของวัตถุดิบแห้ง (Karladee *et al.*, 2003) มีคุณสมบัติในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Koga *et al.*, 1999; Dixon *et al.*, 2005; Oki *et al.*, 2006) ตั้งแต่ระดับคีเอนอ (Ohshima *et al.*, 1998; Melidou *et al.*, 2005, Wallea *et al.*, 2003) ทำลายอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินซีและอี (Bagchi *et al.*, 1998) และป้องกันโรคหัวใจขาดเลือด (Pataki *et al.*, 2002)

โปรแอนโทไซยานิดินมี dihydroxy phenolic group ที่สามารถจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และสังกะสี เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนคีเลตที่เสถียร (Haslam, 1996; Hassig *et al.*, 1999) เช่น การเกิดคีเลตกับธาตุเหล็ก ซึ่งมีข้อดีคือช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยไปแย่งจับธาตุเหล็กกับแบคทีเรียในร่างกาย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้เพื่อการดำรงชีพได้ ส่งผลให้แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโตและไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ (Smith *et al.*, 2003; Smith and Mackie, 2004) รวมถึงการเกิดคีเลตกับสารชีวโมเลกุล (Haslam, 1996) เช่น โพลีแซคคาไรด์ และ โปรตีน ที่ช่วยป้องกันอาการท้องอืด (bloat) ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจากพืชอาหารสัตว์เพิ่มขึ้น (Ray *et al.*, 2003) แต่ถ้าร่างกายได้รับโปรแอนโทไซยานิดินมากเกินไป ก็อาจส่งผลให้การใช้ประโยชน์ได้ของธาตุเหล็กและสังกะสีลดลง (South *et al.*, 1997; Dixon *et al.*, 2005)

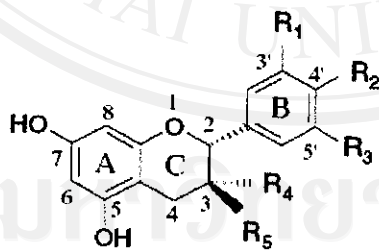
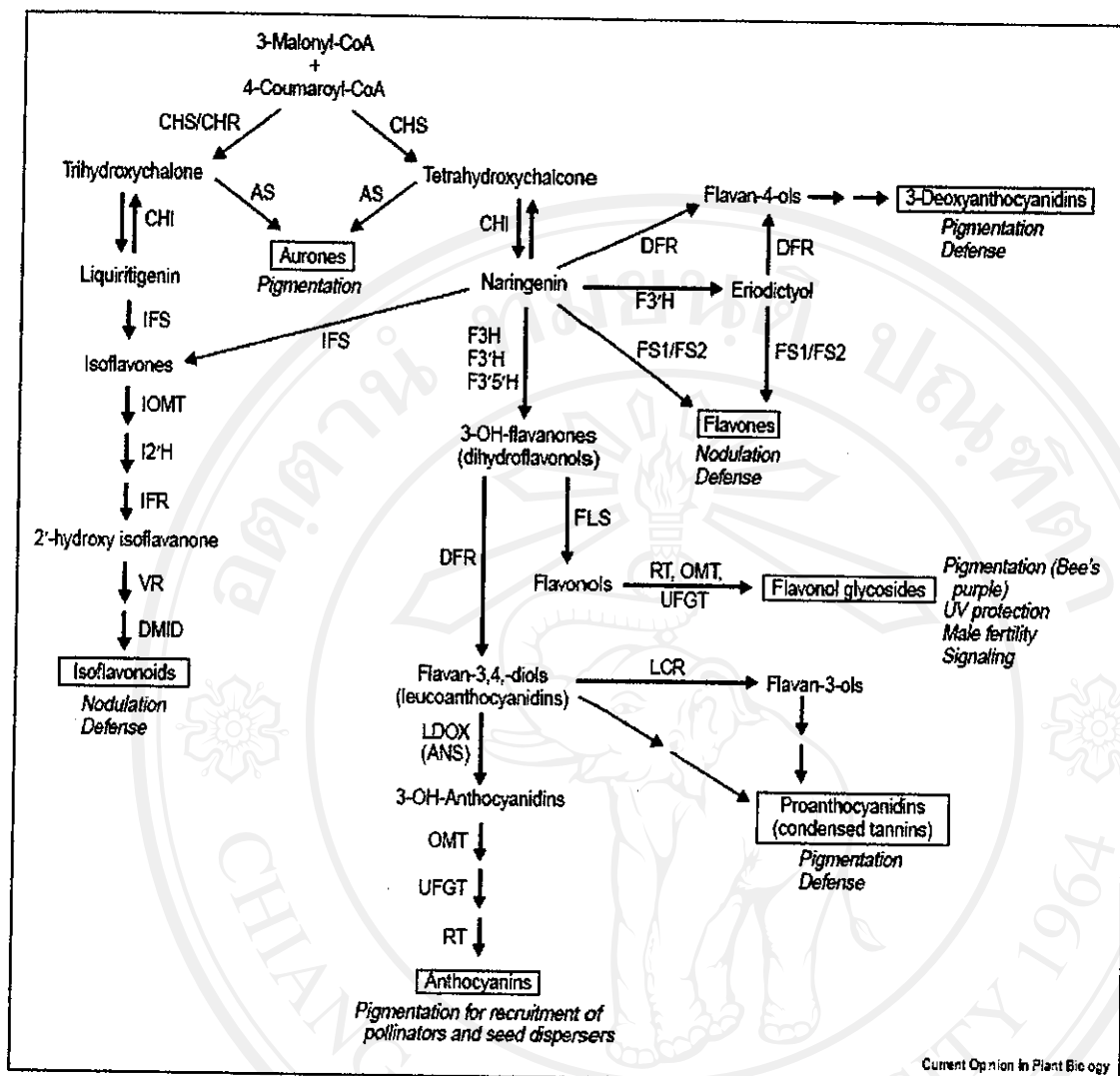


Figure 2.3. Flavan-3-ol monomeric units in proanthocyanidins. (Prior and Gu, 2005)



**Figure 2.4.** Schematic of the flavonoid biosynthetic pathway. ANS, anthocyanidin synthase; AS, aureusidin synthase; C4H, cinnamate-4-hydroxylase; CHR, chalcone reductase; DFR, dihydroflavonol 4-reductase; DMID, 7,2'-dihydroxy, 4'-methoxyisoflavanol dehydratase; F3H, flavanone 3-hydroxylase; F3'H, flavonoid 3' hydroxylase; F3'5'H, flavonoid 3'5' hydroxylase; FSI/FS2, flavone synthase; I2'H, isoflavone 2'-hydroxylase; IFR, isoflavone reductase; IFS, isoflavone synthase; IOMT, isoflavone *O*-methyltransferase; LCR, leucoanthocyanidin reductase; LDOX, leucoanthocyanidin dioxygenase; OMT, *O*-methyltransferase; PAL, phenylalanine ammonia-lyase; RT, rhamnosyl transferase; UFGT, UDP flavonoid glucosyl transferase; VR, vestitone reductase. (Winkel-Shirley, 2002)

### 2.2.1.3 แหล่งของแอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นคำที่มีรากศัพท์มาจากภาษากรีกคือ anthos ที่แปลว่า ดอกไม้ และ kianos ที่แปลว่า สีน้ำเงิน (Gross, 1987; Mazza and Miniati, 1993) จัดเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ที่พบมากที่สุด ในอาณาจักรพืช พบในผลเบอร์รี่ต่างๆ หัวผักกาด ข้าวโพด มันฝรั่ง และพืชที่มีสีม่วงแดง (Table 2.2) เช่น ข้าวสีม่วง (Hyun *et al.*, 2004) รวมทั้งในข้าวสาลีดำที่มีประมาณ 0-493 mg/100g grain (Ryu *et al.*, 1998) (Table 2.3) ในชีวิตประจำวันปกติเราจะได้รับแอนโทไซยานินจากอาหารในรูปแบบต่างๆ โดยเฉลี่ย 200 mg/day ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับฟลาโวนอยด์ชนิดอื่น (Kuhnau, 1996)

โปรแอนโทไซยานิน จะแทรกตัวอยู่ในชั้น endothelial cell layer ของพืช พบทั่วไปในผักผลไม้ ถูกลำต้น เมล็ด ดอกไม้ และเปลือกไม้ เช่น ผลเบอร์รี่ แอปเปิ้ล ธัญพืชต่างๆ เมล็ดองุ่น (Pekic *et al.*, 1998; Saucier *et al.*, 2001; Prior and Gu, 2005)



**Table 2.2.** Anthocyanin content in some fruits, vegetables, beverages and wines (He, 2004)

Commodity	Total anthocyanin concentration (mg/kg)
Apple (peel)	100-21,600
Bilberry	4,600
Blackberry	820-1,800
Blueberry	825-5,030
Boysenberry	1,609
Cherry (sweet)	3,500-4,500
Chokeberry	5,060-10,000
Cranberry	460-2,000
Elderberry	2,000-15,600
Grape (red)	300-7,500
Grape (blue)	80-3,880
Loganberry	774
Orange, Blood (juice)	2000
Plum	19-250
Raspberry (red)	100-600
Raspberry (black)	763-4,277
Strawberry)	127-360
Cabbage (red)	250
Current (black)	1300-4,000
Current (red)	119-186
Eggplant	7500
Radish (red)	110-600
Potato (red)	150-450
Purple corn	16420
Onion	Up to 250
Wines (red)	90-400
Wines (port)	140-1,100

**Table 2.3. Anthocyanin in rice (*Oryza sativa L.*) (Mazza and Miniati, 1993)**

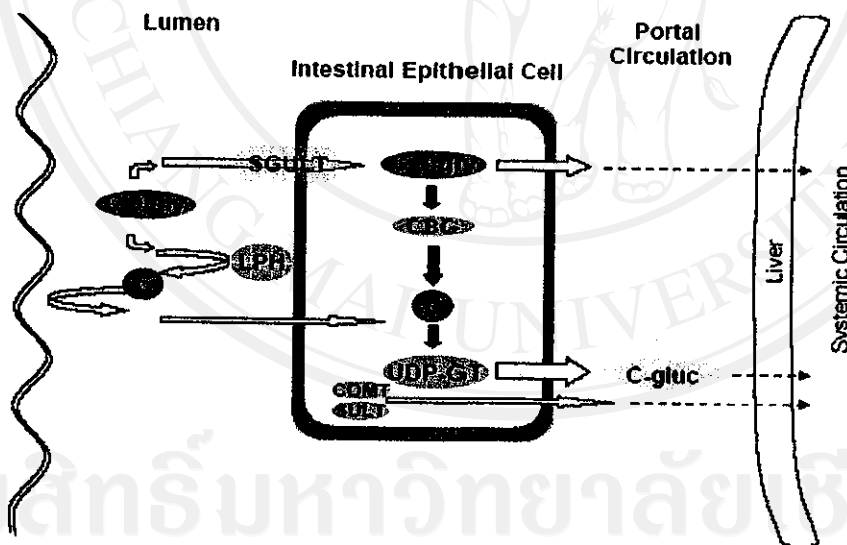
Anthocyanin	Plant part	Relative conc.
Cyanidin 3-glucoside	Seed	++++
	Leaves	++++
	Internode	++++
	Flower	++++
Cyanidin 3-rhamnoside	Seed	+
	Leaves	+++
	Internode	+++
	Flower	+++
Cyanidin 3,5-diglucoside	Leaves	+
	Internode	++
Malvidin 3-galactoside	Seed	+++

#### 2.2.1.4 การดูดซึมและเมตะบอลิซึมของแอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานิน

การย่อย การดูดซึม และการขับถ่ายแอนโทไซยานินหลังเข้าสู่ทางเดินอาหารของคนหรือสัตว์ จะขึ้นอยู่กับ phenolic aglycone และหมู่น้ำตาลในโครงสร้างของแอนโทไซยานินนั้นๆ (Felgines *et al.*, 2002; McGhie *et al.*, 2003; He, 2004) แอนโทไซยานินจะไม่ถูกย่อยที่กระเพาะอาหาร (Rios *et al.*, 2002) การย่อยและดูดซึมแอนโทไซยานินจะเริ่มที่ลำไส้เล็กส่วนต้น (Passamonti *et al.*, 2003) โดยแอนโทไซยานินอนุพันธ์ที่มี galactoside อยู่ด้วยจะมีการดูดซึมดีกว่า glucoside และ sambubioside ตามลำดับ และแอนโทไซยานินที่มี diglucoside จะมีการดูดซึมดีกว่า monoglucoside (He, 2004) แอนโทไซยานินที่พบในพืชส่วนใหญ่จะอยู่ในรูป glycosylated (Tapiero *et al.*, 2002) ที่พบในธรรมชาติจะเป็น cyaniding delphinidin และ pelargonidin โดยจะพบในรูป cyanidin glycoside ถึง 90% การดูดซึมสารในกลุ่ม glycoside อาศัยกลไกการขนส่งที่จำเพาะเจาะจงคือ sodium-glucose co-transporter (SGULT) หรือกระบวนการไฮโดรไลซิสของ beta-glycoside ที่ brush border ก่อนการดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือดทาง portal circulation ในรูป aglycone หรือถูก hydrolyzed ที่ mucosal brush border membrane โดย LPH ก่อนถูกดูดซึมเข้าสู่ intestinal epithelial cell (Figure. 2.3) (Miller *et al.*, 2002; Kay, 2004) งานวิจัยทั้งในคนและในสัตว์ทดลองรายงานตรงกันว่าแอนโทไซยานินจะถูกดูดซึมในรูปแบบเดิม (Miyazawa *et al.*, 1999; Cao *et al.*, 2001; Matsumoto *et al.*, 2001; Mazza *et al.*, 2002; Suda *et al.*, 2002) เข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือด

ทาง portal circulation เพื่อทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อ (Tsuda *et al.*, 1999) แล้วเกิดกระบวนการ glucuronidation methylation และ sulfation ที่ตับ ก่อนขับออกนอกร่างกาย (Figure 2.5)

กระบวนการ glucuronidation และ sulfation เป็นกระบวนการเมทาบอลิซึมของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เกิดขึ้นในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยเฉพาะในคน ซึ่งจะเริ่มขึ้นที่ลำไส้เล็ก ดับ และไต โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ sulfotransferase และ UDP-glucuronosyltransferase โดยจะพบอยู่ใน glucuronide form มากที่สุดหลังได้รับแอนโทไซยานิน 24 ชั่วโมง (Felgines *et al.*, 2003) แต่งานทดลองในสัตว์ไม่พบรายงานถึงแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูป glucuronide และ sulfate conjugated form แต่พบ glucuronide conjugated form เล็กน้อยในปัสสาวะของคน (Wu *et al.*, 2002) อาจเนื่องมาจากเอนไซม์ของสัตว์ไม่เหมาะสมต่อการย่อยแอนโทไซยานินชนิดนั้นๆ (Miyazawa *et al.*, 1999) ส่วน methylation ของแอนโทไซยานินจะเริ่มที่ตับโดยการทำงานของเอนไซม์ catechol-O-methyltransferase (COMT) ทำให้ตรวจพบแอนโทไซยานินที่เป็น methylated form ในพลาสมาและปัสสาวะ (Figure 2.6 และ Figure 2.7) (Tsuda *et al.*, 1999; Wu *et al.*, 2002; Felgines *et al.*, 2003; Crozier *et al.*, 2004; Kay, 2004)



**Figure 2.5.** Potential mechanisms of anthocyanin absorption. C, cyanidin; CBG, cytosolic beta-glucosidase; C-3-gly, cyanidin 3-glycoside; C-gluc, cyanidin glucuronide; COMT, catechol-O-methyltransferase; LPH, lactate phlorizin hydrolase; SGULT, sodium-glucose co-transporter; SULT, sulfotransferase; UDP-GT, UDP-glucuronosyltransferase. (Kay, 2004)

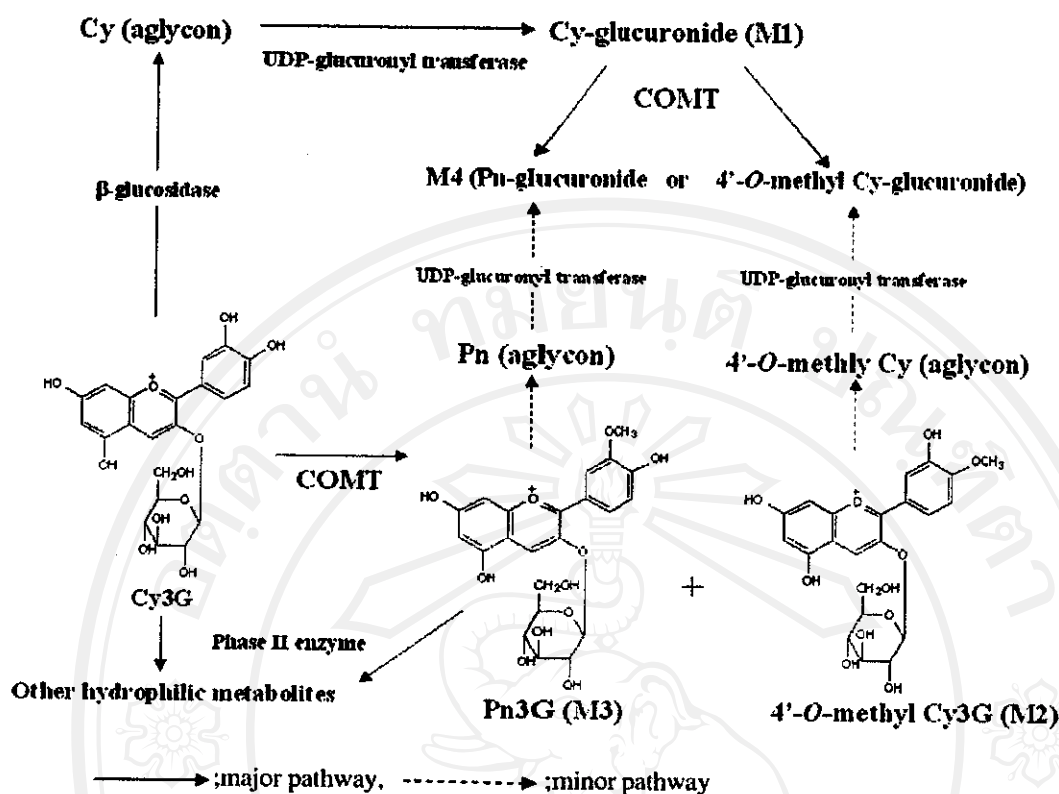


Figure 2.6. Possible pathway of cyanidin-3-glucoside metabolism (Ichiyanagi *et al.*, 2005)

ในส่วนของลำไส้ใหญ่ พบว่า 90% ของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่จะช่วยในการย่อยสลายแอนโทไซยานิน ได้เป็นอนุพันธ์ของแอนโทไซยานินหลายชนิด (Aura *et al.*, 2004; Keppler and Humpf, 2005) และส่วนที่ย่อยสลายไม่ได้ส่วนใหญ่จะถูกขับออกทางมูลทำให้มูลที่เกิดขึ้นมีสีม่วงดำ และพบแอนโทไซยานินในปัสสาวะ 0.05% ของปริมาณที่ได้รับ เมื่อนำไปทดสอบในสารละลายที่มีความเป็นกรดจะทำให้ได้สารละลายที่มีสีแดงของแอนโทไซยานิน (He *et al.*, 2005)

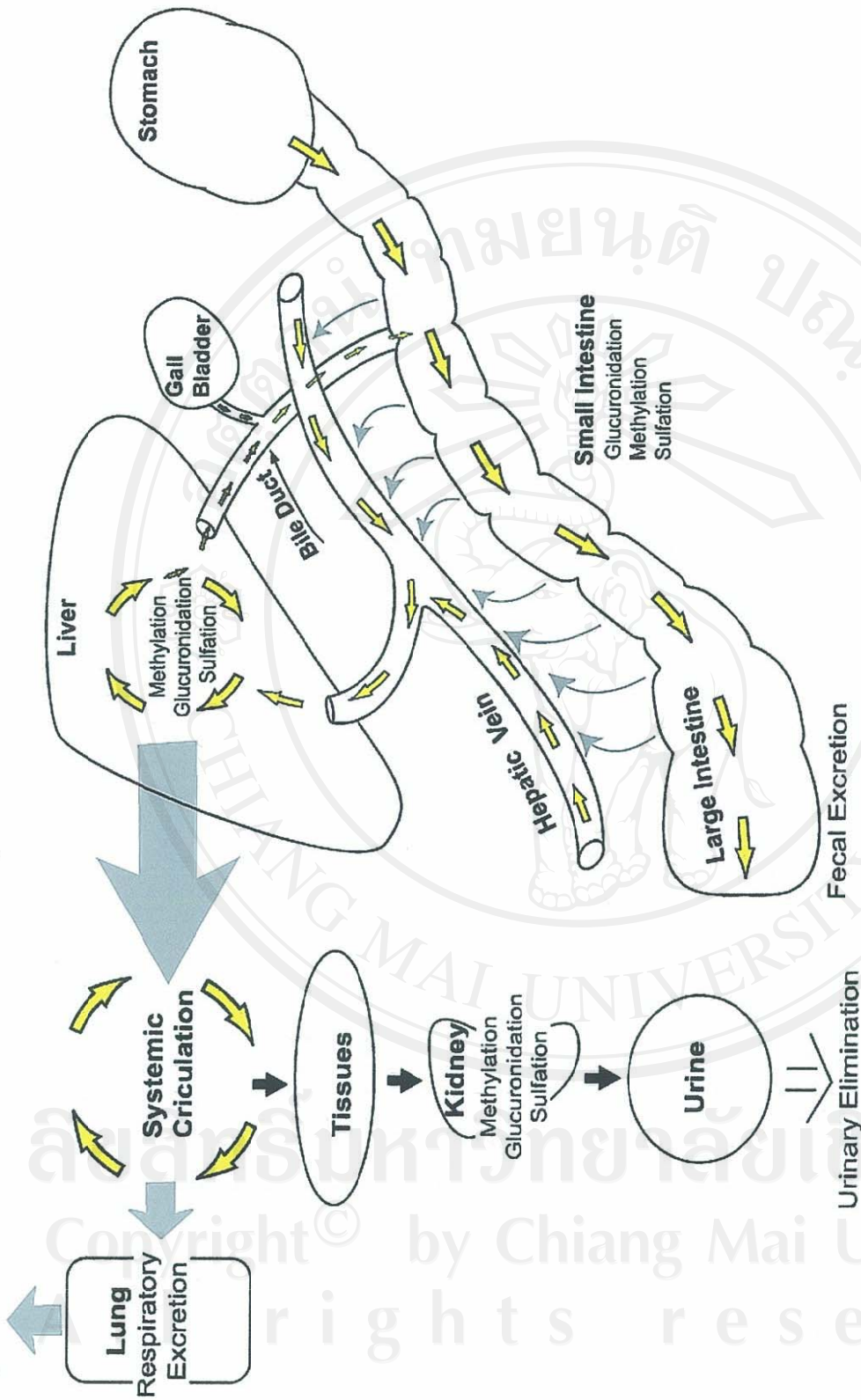


Figure 2.7 Potential route for anthocyanin metabolism and excretion. (Kay, 2004)

ลิขสิทธิ์ © โดย Chiang Mai University  
rights reserved

## 2.2.2 แกมมาโอไรซานอล ( $\gamma$ -oryzanol)

### 2.2.2.1 ลักษณะทางเคมีของแกมมาโอไรซานอล

ในน้ำมันรำโดยทั่วไปจะมี saponifiable lipids เป็นองค์ประกอบประมาณ 90-96% ซึ่งมีอยู่หลายชนิด ได้แก่ neutral lipids triglycerides diglycerides monoglycerides free fatty acids, waxes glycolipids phospholipids ส่วนที่เหลือเป็น unsaponifiable lipid (Rong *et al.*, 1997) ประกอบด้วย plant sterols triterpene alcohols 4-methyl sterols oryzanol tocopherols และ tocotrienol ดัง Table 2.4 (Nakamura, 1996; Sugano and Tsuji, 1997)

**Table 2.4.** Composition of rice bran oil (Dai, 2004)

Component	%
<b>Saponifiable lipids</b>	<b>90-96</b>
Neutral Lipids	88-89
Triglycerides	83-86
Diglycerides	3-4
Monoglycerides	6-7
Free fatty acids	2-4
Waxes	3-4
Glycolipids	6-7
Phospholipids	4-5
<b>Unsaponifiable lipids</b>	<b>4.2</b>
Phytosterols	43
Sterolesters	10
Triterpene alcohols	28
Hydrocarbons	18
Tocopherols	1

### 2.2.3.2 แหล่งของแกมมาโอไรซานอล

แกมมาโอไรซานอล พบครั้งแรกในน้ำมันรำข้าว จึงมีชื่อเรียกตามชื่อทางวิทยาศาสตร์ของข้าว (*Oryza Sativa* L.) ว่าโอไรซานอล (oryzanol) เป็นสารผสมระหว่าง ferulic acid ester ของ sterol และ triterpene alcohol มีหลายอนุพันธ์ ทั้งแอลฟา ( $\alpha$ ) เบตา ( $\beta$ ) และแกมมา ( $\gamma$ ) แต่แกมมาโอไรซานอลเป็นอนุพันธ์ที่พบมากที่สุด (Huang, 2003) ในรำข้าวถึง 1-3 % (Scavariello and Arellano, 1998) ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว สิ่งแวดล้อม (Bergman and Xu, 2003, Iqbal *et al.*, 2005) และวิธีการสกัด (Chen and Bergman, 2005) มีองค์ประกอบหลักที่สำคัญ 3 ชนิด (Figure 2.8) คือ cycloartenyl ferulate 24-ethylenecycloartanyl ferulate and campesteryl ferulate (Xu and Godber, 1999) พบมากในน้ำมันรำข้าวเก่า โดยเฉพาะในรำข้าวเก่าคั่วสะเด็ด (2.854%) รองลงมาคือ รำข้าวขาว พบเล็กน้อยในข้าวโพด งา เมล็ดลินินสีด กากเรปส์ดีด กากฝ้าย ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และรำสาตี (ธวัชชัย และคณะ, 2547) ดังแสดงใน Table 2.5

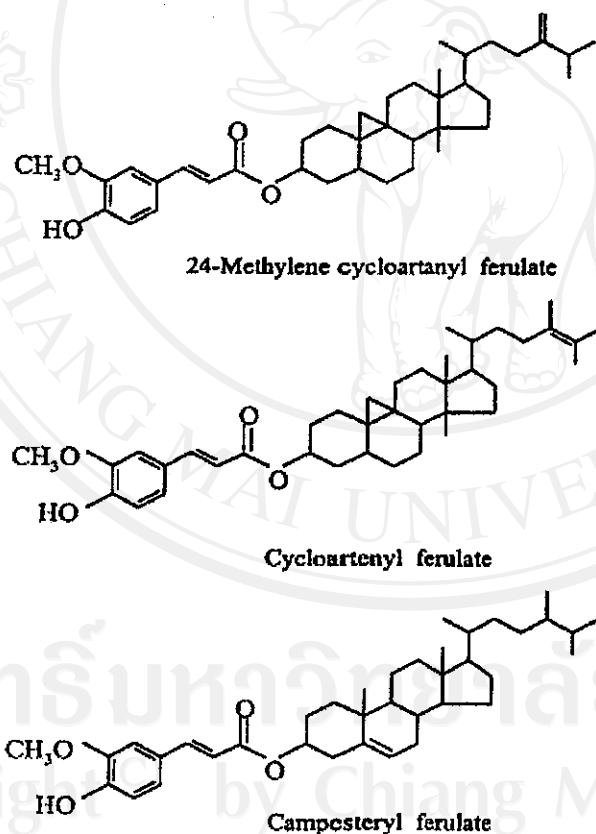


Figure 2.8. Structure of three major  $\gamma$ -oryzanol component. (Xu *et al.*, 2001)

**Table 2.5.** Sterol and triterpene contents in different edible oils (Teltathum, 2004)

Oil	Campesterol	Stigmasterol	$\beta$ -Sitosterol	Cycloartanol	Cycloartenol	24-Methylene-cycloartenol
Rice bran	506	271	885	106	482	494
Safflower	45	31	181	1	34	7
Corn	410	110	1180	4	8	11
Sunflower	31	31	235	-	29	16
Cottonseed	17	4	400	-	10	17
Sesame	117	62	382	4	62	107
Soybean	72	72	191	-	156	8
Peanut	36	21	153	1	11	16

แกมมาโอโรซานอลเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับวิตามินอี และมีประสิทธิภาพดีกว่าวิตามินอีถึง 10 เท่า โดยเฉพาะอนุพันธ์ 24-ethylenecycloartanyl ferulate (Xu *et al.*, 2001) ทำให้แกมมาโอโรซานอลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ปัจจุบันมีการใช้แกมมา-โอโรซานอล เพื่อลดการเกิดออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษาอาหาร เวชภัณฑ์ และเครื่องสำอางค์ (Lloyd *et al.*, 2000; Nanua *et al.*, 2000)

### 2.2.2.3 การดูดซึมและเมแทบอลิซึมของแกมมาโอโรซานอล

เมื่อแกมมาโอโรซานอลเข้าสู่ทางเดินอาหาร จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร ทั้งเปปซิน แพนครีเอติน และเอนไซม์จากลำไส้เล็กให้อยู่ในรูป micellar solution มากกว่าในรูป crystalline และถูกย่อยต่อโดยเอนไซม์ Cease lipase และ phospholipase A<sub>2</sub> จากตับอ่อน ซึ่งจะเข้าย่อยที่พันธะเอสเทอร์ของแกมมาโอโรซานอล โดยเฉพาะใน campesteryl ferulate และ sitosteryl ferulate แล้วจึงถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด (Huang, 2003) ก่อนที่จะถูกขับออกนอกร่างกาย ซึ่งพบว่าหลังได้รับแกมมาโอโรซานอล 72 ชั่วโมงพบสารกัมมันตภาพรังสี C<sup>14</sup> 9.8% ในปัสสาวะ และ 84.5% ในมูลของหนูที่ได้รับอาหารเสริม  $\gamma$ -oryzanol-C<sup>14</sup> ซึ่งแกมมาโอโรซานอลที่ขับออกมาในปัสสาวะอยู่ในรูปของสารเมทาโบไลต์ กล่าวคือ ferulic acid dihydroferulic acid *m*-hydroxyphenylpropionic acid *m*-coumeric acid *m*-hydroxyhippuric hippuric acid รวมถึงพวกที่อยู่ในรูป conjugated กับ glucuronide หรือ sulfate (Fujiwara *et al.*, 1983 อ้าง โดย Huang, 2003)



## 2.3 ความสัมพันธ์ของระบบภูมิคุ้มกันกับแอนโรไซยานิน โปรแอนโรไซยานิน และแกมมาโอไรซานอล

### 2.3.1 ระบบภูมิคุ้มกัน

ในแต่ละวันร่างกายอาจได้รับสิ่งแปลกปลอมต่างๆ มากมาย อาทิเช่น อาหาร ผุ่นละออง และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น แต่ร่างกายก็ยังคงมีสุขภาพปกติ เนื่องมาจากร่างกายมีกลไกในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ที่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างสิ่งที่ร่างกายได้รับเข้าไปกับเนื้อเยื่อในร่างกาย และเมื่อพบความแตกต่าง ร่างกายก็จะมีการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมนั้น เพื่อป้องกันตัวเองและเพื่อกำจัดหรือทำลายสิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจนนั้นๆ เช่น การไอ การจาม การอักเสบ เป็นต้น ซึ่งจัดเป็นภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (innate immunity) มีฤทธิ์อ่อนและใช้เวลาสั้นในการทำลายสิ่งแปลกปลอม ดังนั้นร่างกายจึงต้องมีกลไกของภูมิคุ้มกันที่จำเพาะ และมีประสิทธิภาพดีกว่าภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด ที่เรียกว่า ภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (specific acquired immunity หรือเรียกว่า adaptive immunity) จะเกิดขึ้นหลังจากได้รับเชื้อโรคเข้ามา และมีความจำเพาะต่อเชื้อโรคนั้นๆ (Abbas *et al.*, 1994) ซึ่งสามารถแบ่งย่อยตามเซลล์ที่เกี่ยวข้องในการตอบสนองได้เป็น 2 แบบ คือ

#### 2.3.1.1) ภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (natural or innate immunity)

ภูมิคุ้มกันโดยกำเนิดเป็นระบบภูมิคุ้มกันที่พร้อมจะทำงานได้ทันทีเมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอม เช่น การไอ หรือจาม มีฤทธิ์อ่อน และใช้เวลาสั้นในการทำลายสิ่งแปลกปลอม (Abbas *et al.*, 1994) ระบบนี้ไม่มีความจำเพาะเจาะจง และไม่มีการจดจำ เซลล์ที่ทำงานในระบบนี้ได้แก่ ฟาโกไซต์ (phagocyte) ซึ่งมีความสามารถในการกินและย่อยทำลายสิ่งแปลกปลอมหรือเชื้อโรคต่างๆ ได้ เช่น นิวโทรฟิลล์ (neutrophils) โมโนไซต์ (monocytes) หรือ เอนเค เซลล์ (NK cells/ natural killer cells) ที่สามารถทำลายเซลล์ที่มีความผิดปกติได้โดยไม่มีการกิน รวมถึงไลโซโซม (lysosome) อินเตอร์เฟอรอน (interferon) และคอมพลีเมนต์ (complement) การทำงานของระบบนี้บ่อยครั้งจะทำให้เกิดอาการอักเสบ (Inflammation) มีอาการบวม แดง ร้อน เจ็บ ที่เกิดจากการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันกับเชื้อโรค เช่น ฝีหนอง ที่เกิดขึ้น (สิชล, 2544)

#### 2.3.1.2) ภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการกระตุ้น (acquired immunity or specific immunity)

ภูมิคุ้มกันระบบนี้จะทำงานต่อเนื่องจากระบบแรก (innate immunity) มีจุดเด่นคือ มีความจำเพาะเจาะจง และจดจำสิ่งที่มากระตุ้นได้ ถ้ามีเชื้อโรคตัวเดิมเข้ามารุกรานอีก จะมีการตอบสนองอย่างรุนแรงและรวดเร็ว (สิชล, 2544) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

### ก) เซลล์ภูมิคุ้มกัน (cell-mediated immunity: CMI)

เป็นเซลล์ที่สร้างภูมิคุ้มกันเพื่อดำเนินการเชื้อไวรัส เชื้อรา พยาธิ และสิ่งแปลกปลอมต่างๆ เซลล์ภูมิคุ้มกันชนิดนี้จะสร้างที่ต่อมไทมัส (Thymus gland) จึงเรียกว่า ที ลิมโฟไซต์ หรือที เซลล์ (T Lymphocyte or T cell)

### ข) ฮิวเมอรัล ภูมิคุ้มกัน (humoral immunity: HMI)

เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่สัตัวเลี้ยงลูกด้วยนมสร้างขึ้นในไขกระดูก (bone marrow) จึงเรียกว่า บี ลิมโฟไซต์ หรือบี เซลล์ (B lymphocyte or B cell) ส่วนในสัตว์ปีกเซลล์นี้จะถูกสร้างขึ้นที่เบอร์ซา ออฟ ฟาบรีเซียส (bursa of fabricius) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อน้ำเหลืองที่เป็นเซลล์ผิวของทางเดินอาหาร ส่วนที่เกือบถึงโคลอคา (cloaca) จะทำหน้าที่เช่นเดียวกับต่อมไทมัส กล่าวคือ เซลล์เหล่านี้จะทำงานต่อต้านพวกแบคทีเรียและไวรัส ที่อยู่ในช่วงเอ็กซ์ตราเซลล์ลาร์ (extra cellular phase) โดยสร้างสารที่เรียกว่า แอนติบอดี (antibody) ออกมาหลายชนิด โดยมีโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบที่เรียกว่า อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) แสดงใน Figure 2.9 (พันทิพา, 2541)

อิมมูโนโกลบูลิน ใช้เรียกสารคัดหลั่งทุกชนิดที่หลังจาก B cell แบ่งออกเป็น 5 ชนิด ซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิดของเฮฟวีเชน (heavy chain) ใน โมเลกุล ดังนี้

ข.1 อิมมูโนโกลบูลินจี (IgG) ผลิตและหลังจากพลาสมาเซลล์ในม้าม ต่อมน้ำเหลือง และไขกระดูก เป็นอิมมูโนโกลบูลินที่พบมากที่สุด ในเลือด และมีหน้าที่หลักในการทำงานเพื่อต่อต้านสิ่งแปลกปลอม มีขนาดโมเลกุล 180 kDa จึงเป็นอิมมูโนโกลบูลินที่มีขนาดเล็กที่สุด และเป็นชนิดเดียวที่สามารถผ่านจากรกแม่ไปสู่ลูกทางรก โดยขบวนการเอนโดไซโตซิส (Tizard, 2000)

ข.2 อิมมูโนโกลบูลินเอ็ม (IgM) ผลิตและหลังจากพลาสมาเซลล์ในม้าม ต่อมน้ำเหลือง และไขกระดูก เช่นเดียวกัน เป็นอิมมูโนโกลบูลินที่พบในเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมากเป็นอันดับสอง ไอจีเอ็มในรูป monomer จะมีขนาดโมเลกุล 180 kDa แต่จะหลั่งออกมาในรูป polymer ที่ประกอบด้วย 5 monomer ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ disulfide และมีโพลีเปปไทด์ J chain เชื่อมปลายของทั้งสองให้เป็นวงกลม ไอจีเอ็มเป็นอิมมูโนโกลบูลินตัวแรกที่ผลิตขึ้น เมื่อร่างกายได้รับสิ่งแปลกปลอม (Tizard, 2000) ซึ่งจะใช้เวลา 2-3 วัน ภายหลังจากที่ร่างกายได้รับสิ่งแปลกปลอม ไม่สามารถผ่านทางรกถึงลูกได้ และไม่พบในเลือดของตัวอ่อน ขณะอยู่ในท้องแม่ในช่วงแรกของการตั้งท้อง แต่จะปรากฏตัวเมื่อตัวอ่อนในท้องอายุมากขึ้น ตัวอ่อนแรกเกิดจะสร้างไอจีเอ็มได้เร็วกว่าไอจีจี และไอจีเอมาก (พันทิพา, 2541)

ข.3 อิมมูโนโกลบูลินเอ (IgA) หลังจากพลาสมาเซลล์พบมากที่สุดที่ผนังทางเดินอาหาร ท่อทางเดินหายใจ ระบบปัสสาวะ ผิวหนัง และต่อมน้ำนม (Tizard, 2000) และเป็นอิมมูโนโกลบูลินหลักของ external secretions โดยเฉพาะการตอบสนองครั้งที่สอง (secondary immune response) เมื่อ

ได้รับแอนติเจนที่ผิวเยื่อเมือก (mucosal surface) (Todd and Spickett, 2005) ไอจีเอจะถูกขนส่งผ่าน intestinal epithelial cells โดยจับกับตัวรับที่เรียกว่า polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) หรือ secretory component ได้เป็น โมเลกุลเชิงซ้อนที่เรียกว่า secretory IgA (sIgA) ซึ่งจะป้องกันไอจีเอจากการย่อยสลายโดยเอนไซม์โปรตีเอสในทางเดินอาหาร (intestinal protease) (Tizard, 2000)

ข.4 อิมมูโนโกลบูลินอี (IgE) สามารถรวมตัวกับ M cells และ basophil ได้ดี ปกติจะพบอยู่ในเลือดปริมาณน้อย และสามารถตรวจพบได้ที่ผิวหนัง เยื่อเมือก ต่อมไฝในทางเดินอาหาร (mesenteric nodes Peyer's patches) ม้าม ในของเหลวที่อยู่ในทางเดินอาหาร และในมด แต่จะถูกทำลายได้ง่ายในทางเดินอาหาร ของ ไอจีอีจะเพิ่มขึ้นถึงถึงระดับหนึ่งเมื่ออายุเพิ่มมากขึ้น ปกติจะเคลื่อนอยู่ที่ผิวของ M cells (connective tissue cell) ใช้ต่อต้านพวกพยาธิ อาหารเป็นพิษหรือแพ้อาหาร ผลการทำงานจะทำให้เกิดการบวม ผื่น คัน การมีพยาธิและอาหารที่เป็นพิษจะทำให้มีการจับไอจีอีเข้าสู่ทางเดินอาหารมาก เพราะปกติจะพบในทางเดินอาหารน้อย (พันทิพา, 2541)

ข.5 อิมมูโนโกลบูลินดี (IgD) เป็นอิมมูโนโกลบูลินที่พบในเลือดปริมาณต่ำ และจะเพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่งเมื่ออายุเพิ่มขึ้น (พันทิพา, 2541) พบในพวก primates และ rodents อาจพบได้บ้างในสุนัข แต่ไม่พบในสุกร กระจ่าง และ โค (Tizard, 2000)

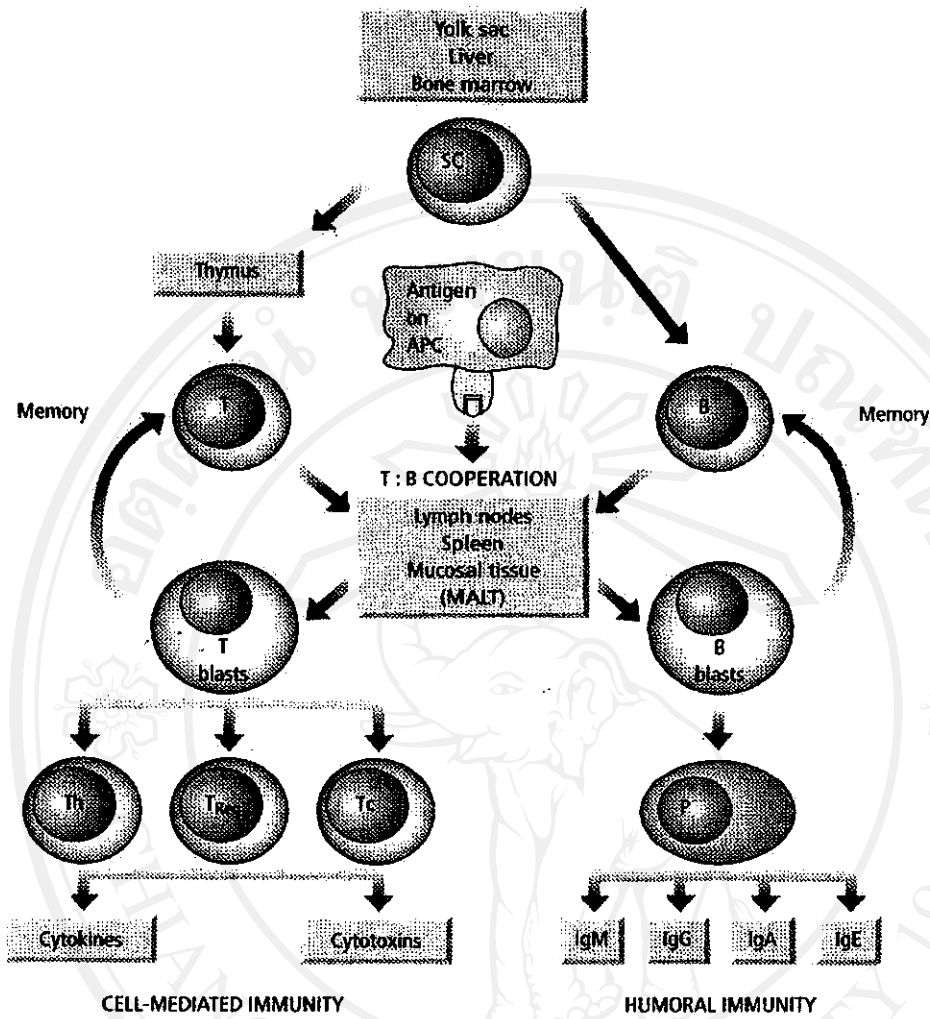


Figure 2.9. The immune system: cell-mediated and humoral immunity. (Todd and Spickett, 2005)

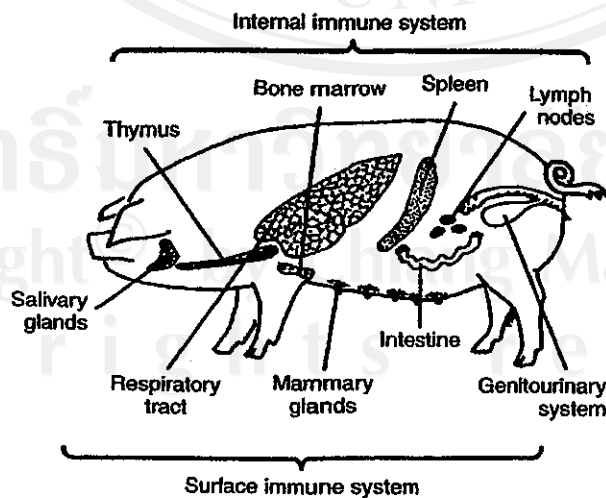


Figure 2.10. The major lymphoid tissue of animals. (Tizard, 2000)

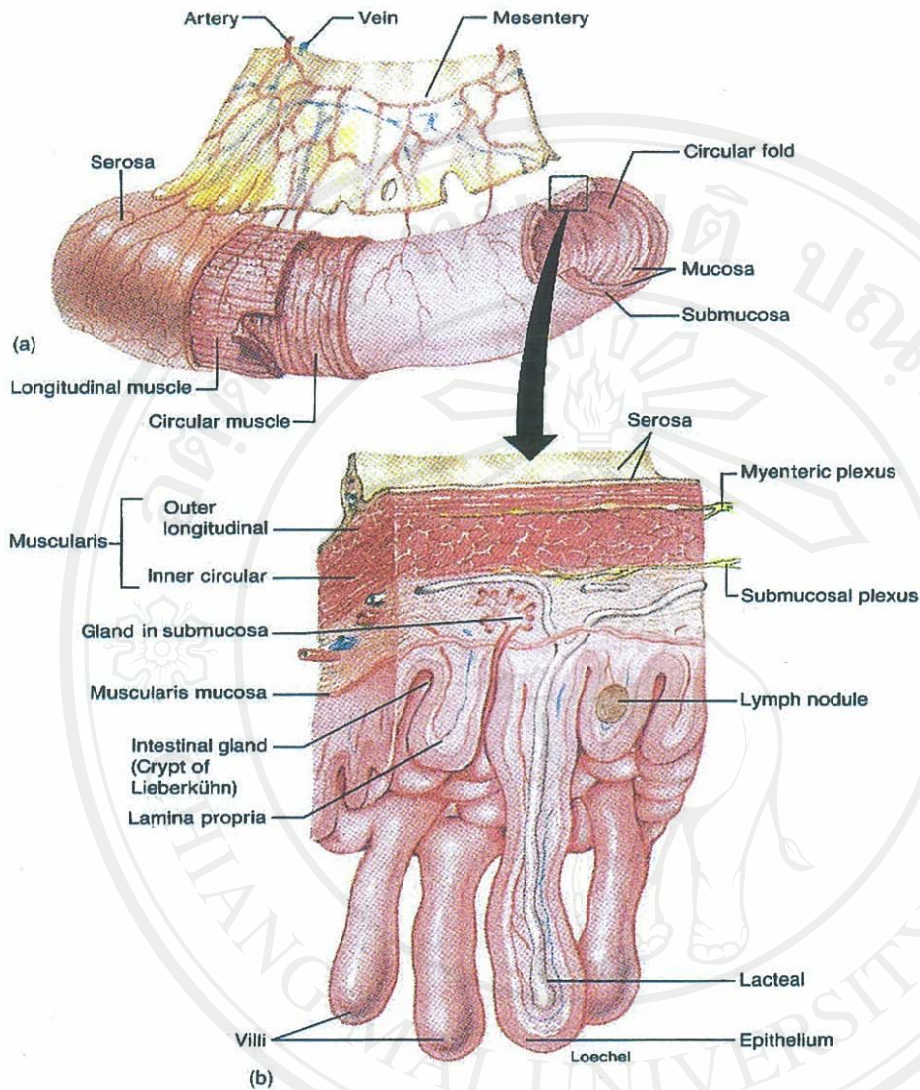
### 2.3.1.3) ระบบภูมิคุ้มกันในทางเดินอาหาร

จัดได้ว่ามีความสำคัญยิ่ง เนื่องจากสัตว์มีโอกาสได้รับสิ่งแปลกปลอมเข้าทางปากวันละหลายๆ ครั้ง ดังนั้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในทางเดินอาหารจำเป็นต้องมีประสิทธิภาพและใช้ได้ผลทันทีที่สัมผัสกับสิ่งแปลกปลอม (local immune system of intestinal tract) หากให้อาหารที่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยการให้กินจะมีประสิทธิภาพยิ่งกว่าการฉีด (พันทิพา, 2541) และเมื่อสิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจนเข้าสู่ร่างกายทางเยื่อเมือก (mucous surface) ที่บุอยู่ตามระบบหายใจและระบบทางเดินอาหาร (Figure 2.10) ชั้นผิวเยื่อเมือกในระบบทางเดินอาหารจะมีเซลล์พิเศษชนิดหนึ่งที่เรียกว่า M cell (microfold หรือ membranous cell) แทรกอยู่ระหว่าง epithelial cell ของทางเดินอาหาร (Figure 2.12) เซลล์นี้ค่อนข้างบาง ผิวด้านบนชิดกับโพรงลำไส้มีหยักเล็กๆ ซึ่งค่อนข้างเรียบแบนเมื่อเทียบกับ epithelial cell ที่อยู่ข้างๆ ส่วนด้านล่างของเซลล์จะอยู่ชิดกับลิ้มโฟซัยท์ M cell จะทำหน้าที่เป็นทางผ่านของแอนติเจนจากโพรงลำไส้ไปให้ลิ้มโฟซัยท์และเป็นทางออกของลิ้มโฟซัยท์ไปสู่โพรงลำไส้ (สุทธิพันธ์, 2543) โดยในทางเดินอาหารจะมีบริเวณที่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อน้ำเหลือง (lymphoid tissues) 3 ส่วน ซึ่งจะทำงานร่วมกัน คือ

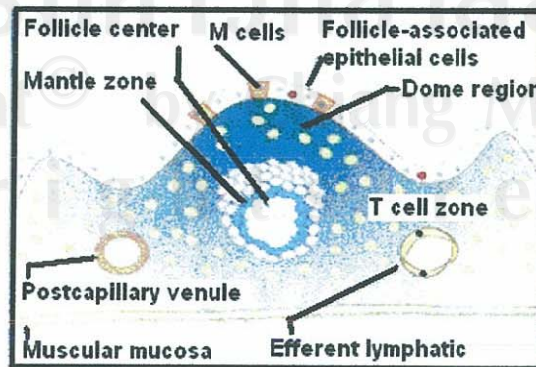
ส่วนที่ 1 นับตั้งแต่คอบริเวณต่อมทอนซิล ต่อมน้ำลายและบริเวณลำไส้ได้เซลล์ผิว จะมีกลุ่มของเซลล์น้ำเหลืองเกาะกันอยู่ (mesenteric lymph peripheral lymph nodes) กลายเป็นต่อมน้ำเหลืองที่เรียกว่า ปิเยอร์แพทช์ (Peyer's patch) (พันทิพา, 2541)

ส่วนที่ 2 จะอยู่บริเวณฐานของวิลโลสขึ้นไปถึงส่วนยอดของวิลโลส โดยอยู่ในชั้นมิวโคซาและชั้นมิวโคซา เรียกว่าเบสเมนต์ เมมเบรน หรือลามินา โพรเปรีย (basement membrane or lamina propria) (Figure 2.11) เป็นเซลล์ที่สร้างลิ้มโฟซัยท์ทั้งชนิดเฮลเปอร์ที-เซลล์ (helper T cell) ซัพเพรสเซอร์ ที-เซลล์ (suppressor T cells) และไซโตท็อกซิก ที-เซลล์ (cytotoxic T cells) และพลาสมาเซลล์ (plasma cells) ซึ่งเป็นบี-เซลล์ชนิดหนึ่งที่ผลิตไอดีถึง 70-90% (พันทิพา, 2541)

ส่วนที่ 3 เป็นเซลล์น้ำเหลืองที่อยู่ระหว่างเซลล์ผิว (epithelial cells) ในชั้นมิวโคซา นอกจากทั้ง 3 ส่วนนี้แล้วยังมีเซลล์และสารอื่นๆ มาทำงานร่วมกัน เพื่อทำหน้าที่ผลิตเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด บี-เซลล์ และที-เซลล์ (พันทิพา, 2541)



**Figure 2.11** The tunics (layers) of the GI tract. (a) A section of the small intestine with each of the four tunics exposed, and (b) a section showing the detailed structure and relative thickness of each tunic. (Van De Graaff *et al.*, 1997)



**Figure 2.12** Mucosa-associated lymphoid tissue. (Burmester and Pezzutto, 2003)

กล่าวโดยสรุปคือ เมื่อแอนติเจนเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ในทางเดินอาหาร แอนติเจนส่วนมากจะถูกเคลือบด้วยเมือก (mucous) ดังนั้นจึงมีแอนติเจนบางส่วนที่มีโอกาสสัมผัสกับเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน เมื่อแอนติเจนผ่านเข้าไปถึงลำไส้เล็กจะถูก endocytose เข้ามาอยู่ใน M cell (Figure 2.12) แล้วผ่านไปให้ลิ้มโฟไซต์ที่อยู่ระหว่าง epithelial cell และในชั้น lamina propria แอนติเจนจะทำปฏิกิริยาโดยตรงกับ B-cell ที่อยู่ในบีเยอร์แพทช์ ในชั้น lamina propria ของลำไส้และโดยความช่วยเหลือของเฮลเปอร์ที-เซลล์ ส่วน บี-เซลล์ จะกลายเป็นลิมโฟบลาสต์และเดินทางไปยัง mesenteric lymph node เพื่อแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและเปลี่ยนรูป แล้วกลับมาชั้น lamina propria ของลำไส้เพื่อสร้าง IgA ซึ่งเป็นสารคัดหลั่งที่พบมากในลำไส้ของคนปกติ เมื่อมีแอนติเจนผ่านเข้ามาในระบบทางเดินอาหาร โดยเฉพาะพวกจุลชีพหรือสารพิษจากแบคทีเรีย จะทำปฏิกิริยากันทันทีบนผิวของเซลล์ชั้น epithelium เพื่อป้องกันไม่ให้แอนติเจนดังกล่าวจับกับเซลล์ epithelium และไม่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (สุทธิพันธ์, 2543)

### 2.3.2 อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และระบบภูมิคุ้มกัน

#### 2.3.2.1 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระ (Free radicals) และ Reactive Oxygen Species (ROS) ที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกาย ซึ่งเกิดจากการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด phagocyte ที่สร้าง ROS เพื่อทำลายแบคทีเรีย หรือเชื้อราบางชนิด หรือได้รับ ROS โดยตรงจากอาหาร (Table 2.6) (ธวัชชัย และคณะ, 2547) แต่ในขณะเดียวกันอนุมูลอิสระและ ROS ก็สามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล ทั้งไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และดีเอ็นเอในร่างกายจึงต้องมีกลไกในการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระและ ROS โดยการใช้อนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นเอง และได้รับจากอาหาร (Calder *et al.*, 2002)

**Table 2.6. Endogenous and exogenous antioxidants (Papas, 1999)****Endogenous components of the antioxidant system include:**

Glutathione (GSH, also present in foods) and Se-glutathione peroxidase  
 Fe-catalase  
 NADPH  
 Uboquinol-10 (reduced coenzyme Q<sub>10</sub>)  
 Mn, Cu, Zn-superoxide dismutase(SOD)  
 Uric acid  
 Lipoic acid  
 Hormones with antioxidant activity (melatonin, DHEA, etc.)  
 Metal binding proteins including albumin (and albumin bound thiols and bilirubin), Fe and Cu-binding proteins (transferring, ceruloplasmin) and Fe-complex binding proteins (heptoglobin, hemopexin)

**Dietary and exogenous antioxidants include:**

Tocopherols and tocotrienols (vitamin E)  
 Ascorbate (vitamin C)  
 Vitamin A and carotenoids ( $\beta$ -carotene, lycopene, lutein, etc.)  
 Se (and other metals essential for the function of antioxidant enzymes)  
 Phytochemicals with antioxidant activity  
 Dietary and other supplements (CoQ<sub>10</sub>, glutathione, lipoic acid, etc.)  
 Food antioxidants (BHA, BHT, propyl gallate, TBHQ, rosemary extract)

อาจแบ่งตามคุณสมบัติการละลายได้เป็น กลุ่มที่ละลายน้ำ และกลุ่มที่ละลายในไขมัน หรือแบ่งตามลักษณะทางเคมีและทางกายภาพ (โปรตีน เอนไซม์ และไม่ใช่เอนไซม์)

**2.3.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระกับระบบภูมิคุ้มกัน**

บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระในระบบภูมิคุ้มกัน คือการป้องกันเซลล์จากการทำลายของอนุมูลอิสระ ซึ่งปกติอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในกระบวนการเมทาบอลิซึมในร่างกายจะมีความจำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอม แต่ถ้าในร่างกายมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นมากเกินไป ก็จะส่งผลกระทบต่อเซลล์และการทำหน้าที่ของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน



สารต้านอนุมูลอิสระทั้งกลุ่มที่ละลายได้ในน้ำ (วิตามินซี และกลูตาไธโอน) และกลุ่มที่ละลายได้ในไขมัน (เช่น วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน) นอกจากจะช่วยในการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพแล้วยังเกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานในระบบภูมิคุ้มกันด้วย ทั้งในส่วนของเมทาบอลิซึมของเซลล์ การส่งสัญญาณของเซลล์ การกระตุ้นและการถอดรหัสของยีน ซึ่งการทำงานในระบบภูมิคุ้มกันของสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป (Papass, 1999) กล่าวคือ

### ก. ป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์

ในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการจดจำแอนติเจน การแสดงออกของตัวรับสัญญาณ การหลั่งแอนติบอดีและไซโตไคน์ (cytokine) การเปลี่ยนแปลงของลิมโฟไซต์ (lymphocyte) การทำให้เซลล์แตก เมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ จะทำให้ความคงรูปของเยื่อหุ้มเซลล์ลดลง ส่งผลต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน แต่ถ้ามีสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่ละลายได้ในไขมัน เช่น วิตามินอี ก็จะช่วยป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์จากอนุมูลอิสระได้ (Papass, 1999)

### ข. กระตุ้นให้มีการผลิตสารคัดหลั่งของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน

ในเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันจะมีการผลิตสารคัดหลั่งที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน เช่น interleukin-2 (IL-2) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการทำงานของ helper T cell ให้ผลิต IL-2 และ cytokine ชนิดอื่น เช่น IL-4 และ interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ซึ่ง IL-2 นี้จะมีผลต่อ T cell ที่หลั่งเอง และ T cell ที่อยู่ข้างเคียง (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2543) ถ้ามีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นมาก อนุมูลอิสระก็จะจะไปยับยั้งการสร้าง IL-2 ซึ่งสามารถป้องกันได้โดยการใช้วิตามินอี หรือกลูตาไธโอน ส่วนเบต้าแคโรทีนพบว่าไม่มีผลต่อการผลิต IL-2 แต่จะไปเพิ่มการผลิต (tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ซึ่งจะไปกระตุ้นการทำงานของ NK cell (Papass, 1999)

นอกจากนี้สารเมทาโบไลต์ใน arachidonic acid (AA) cascade ที่เกิดจากการทำงานของ phospholipase  $A_2$  ถูกเร่งโดยเอนไซม์ cyclooxygenase หรือ lipoxygenase ที่ membrane phospholipids ทำให้ได้เป็น eicosanoids ชนิดต่างๆออกมา (prostaglandins leukotrienes และ hydroxyeicosanoic acids) ซึ่ง PGE $_2$  ที่ระดับต่ำจะทำให้เซลล์ในระบบ CMI ทำงานปกติ แต่ถ้ามีมากเกินไป PGE $_2$  ก็จะไปยับยั้งการทำงานของ T cell ทั้งในส่วนของเพิ่มจำนวนและการผลิต IL-2 และการเสริมวิตามินอีก็จะช่วยลดการผลิต PGE $_2$  โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cyclooxygenase ที่ใช้ในการสังเคราะห์ PGE $_2$  (Papass, 1999)

### 2.3.3 ผลของแอนโธไซยานินและโปรแอนโธไซยานินต่อระบบภูมิคุ้มกัน

โปรแอนโธไซยานิน มีโครงสร้างพื้นฐานที่จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิล อยู่ในโมเลกุล สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมได้ดี จึงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ สามารถป้องกันเซลล์จากการทำลายของอนุมูลอิสระ และเพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลิก จะช่วยเพิ่มจำนวนเซลล์ลิมโฟไซท์ชนิดที หรือทีเซลล์ (T lymphocyte หรือ T-cell) กล่าวคือเมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจนเข้าสู่ร่างกาย T-cell จะสร้างสาร interleukin-2 (IL-2) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ (cytokine) ที่ทำให้ร่างกายสามารถต้านทานต่อสิ่งแปลกปลอมได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยจะไปกระตุ้นการเจริญและเพิ่ม cytolytic function ของ natural killer cells (NK cells) (Bub *et al.*, 2003) ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่กำจัดเซลล์ของร่างกายที่ติดเชื้อไวรัสและเซลล์ของร่างกายที่ผิดปกติไป เช่น เซลล์มะเร็ง โดย NK cells จะจับที่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมาย แล้วหลั่งสารพวก cytolytic ทำให้เซลล์เป้าหมายแตก อีกทั้งยังเป็น growth factor และ stimulator ของ B-cells (Abbas *et al.*, 1994) มีรายงานว่าแอนโธไซยานินและโปรแอนโธไซยานินสามารถเพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้ โดยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ B cells และ T cells สัดส่วนของ CD4+/CD8+ และ cytokine ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของ CMI (Zhang *et al.*, 2005b) ยับยั้งการสร้าง IL- $\gamma$  และ IL-2 (Lin *et al.*, 2002) รวมถึงการแสดงออกของอินและเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างและหลั่ง tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Nair *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2002) สาร TNF- $\alpha$  ที่หลั่งออกมานี้ก็จะเป็นไปกระตุ้นให้เกิดการสร้าง interleukin-1 $\beta$  จาก mouse peritoneal exudates cells และ human peritoneal blood mononuclear cells (h-PBMC) (Feldman *et al.*, 1999) สาร IL-1 $\beta$  เป็นสารคัดหลั่งที่ทำหน้าที่ต่อต้านแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการอักเสบ (Abbas *et al.*, 1994)

### 2.3.4 ผลของแกมมา-โอโรซานอลต่อระบบภูมิคุ้มกัน

แกมมา-โอโรซานอลมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมี ferulic acid ในโครงสร้างที่สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ดี ทั้งจาก phenolic hydroxyl group และ methoxyl group โดยเฉพาะ 24-methylene cycloartanyl ferulate ซึ่งมีความต้านทานอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินอี (Huang, 2003; Juliano *et al.*, 2005) และจากคุณสมบัตินี้ จึงได้มีการนำแกมมา-โอโรซานอลมาใช้ในการป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid: PUFA) และโคเลสเตอรอลในร่างกาย โดยเฉพาะเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีความสำคัญต่อการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันทั้ง B cells และ T cells เมื่อได้รับแอนติเจน ตั้งแต่การจดจำแอนติเจน การส่งสัญญาณภายในเซลล์-ระหว่างเซลล์ การสร้างและหลั่งแอนติบอดี ของ B cells หรือการสร้างและหลั่ง cytokine ของ T cells รวมถึงควบคุมการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกัน เพื่อให้ระบบภูมิคุ้มกัน

มีการตอบสนองต่อแอนติเจนได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ดังจะเห็นได้จากงานทดลองของ Teltathum (2004) ที่ทดลองเสริมแกมมา-โอโรซานอลบริสุทธิ์ที่ระดับ 0 280 800 และ 1340 มก./กก. ลงในอาหารหนู mice เพื่อดูการตอบสนองของ humoral immunity (HMI) จากระดับแอนติบอดีที่สร้างโดย B cells พบว่าการเสริมแกมมาโอโรซานอลที่ระดับ 800 มก./กก. มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยสี่อฐานสองของ IgA และ IgG titer สูงกว่ากลุ่มอื่น และเมื่อเสริมในรูปแบบของข้าวดำ พบว่ากลุ่มที่เสริมรำข้าวดำ 8 % มีค่าเฉลี่ยสี่อฐานสองของ IgA และ IgG titer สูงกว่ากลุ่มอื่น ส่วนระดับ IgM พบว่าในกลุ่มควบคุมจะมีค่าเฉลี่ยสี่อฐานสองของ IgM สูงกว่ากลุ่มที่เสริมแกมมา-โอโรซานอลหรือรำข้าวดำ ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงแรกเกิดร่างกายจะมีการสร้าง IgM แต่เมื่อผ่านไประยะหนึ่งร่างกายก็จะมีการสร้าง IgG ขึ้นมาทดแทน IgM ซึ่งมีปริมาณลดลงและมีประสิทธิภาพในการจับกับแอนติเจนได้ต่ำกว่า IgG (Lydyard *et al.*, 2004) จึงกล่าวได้ว่าแกมมา-โอโรซานอลที่เสริมลงไป ส่งผลให้ร่างกายมีการผลิต IgG เร็วขึ้นกว่าเดิม

## 2.4 ความสัมพันธ์ของโปรตีนฮีโมโกลบินกับการดูดซึมธาตุเหล็ก

### 2.4.1 ความสำคัญของธาตุเหล็กในลูกสุกร

ธาตุเหล็กเป็นธาตุที่สัตว์ต้องการในปริมาณน้อย แต่มีความสำคัญมาก โดยเฉพาะในกระบวนการชีวเคมีในร่างกาย ทั้งการนำพาอิเล็กตรอน การควบคุมการแสดงออกของยีน การจับและขนส่งออกซิเจน รวมถึงการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Beard, 2001) ธาตุเหล็กในร่างกายปกติจะอยู่ในรูป oxygen-carrying chromoprotein เช่น ฮีโมโกลบิน (มีเหล็ก 65%) มัยโอโกลบิน (3-5%) และเอนไซม์ต่างๆ เช่น ไซโตโครมออกซิเดส (cytochrome oxydase) เปอร์ออกซิเดส (peroxydase) และคะตะเลส (catalase) (น้อยกว่า 1%) ส่วนที่เหลือจะเก็บสำรองไว้ที่ตับม้าม และไขกระดูกในรูปแบบของเฟอร์ริติน (ferritin) และฮีโมซีเดอริน (hemosiderin) (Underwood and Woo, 1999; Andrews, 2005) ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากการรวมตัวกันของโปรตีนกับเหล็ก เฟอร์ริตินเป็นสารประกอบระหว่างโปรตีนกับเหล็ก มีความสามารถในการละลาย และมีเหล็กอยู่ 20% แต่ฮีโมซีเดอรินไม่มีความสามารถในการละลาย และมีเหล็กอยู่ 35% เหล็กที่อยู่ในรูปของเฟอร์ริตินและฮีโมซีเดอรินนี้เป็นแหล่งสะสมธาตุเหล็กที่ร่างกายนำไปใช้สร้างเม็ดเลือดแดง หรือเป็นรูปที่ใช้สำหรับลำเลียงผ่านผนังของรกไปยังทารกได้ (ไพโชค, 2541)

ฮีโมโกลบินมีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตและกระบวนการหายใจของเซลล์ (Papanikolaou and Pantopoulos, 2005) ถ้าร่างกายมีฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงต่ำกว่าปกติ จะส่งผลให้เกิดโรคโลหิตจางชนิดที่ขนาดเม็ดเลือดแดงเล็กกว่าปกติ ทำให้ประสิทธิภาพในการขนถ่ายออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆ ในร่างกายลดลง ส่งผลให้สุกร โตช้า เชื่องซึม ขนหยาบขาว หน้าเขียวอ่อน หูและหางตก

อาจตามมาด้วยอาการท้องเสีย หายใจแรงเป็นช่วงๆ และอาจตายได้ ซึ่งปัญหาที่ไม่ค่อยพบในสุกรที่หย่านมแล้ว เนื่องจากลูกสุกรสามารถกินอาหารที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบได้ (วันดี, 2546)

อาการขาดธาตุเหล็กมักพบในลูกสัตว์ระยะหย่านม ทั้งนี้เพราะในน้ำนมมีธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบอยู่น้อย ปกติแล้วสัตว์จะมีการสะสมธาตุเหล็กตั้งแต่ออยู่ในท้องแม่อย่างพอเพียงจนกระทั่งกินอาหารได้ภายหลังคลอดแล้ว ในลูกสุกรจะมีการสะสมธาตุเหล็กไว้ใช้ได้ประมาณ 3-4 วัน หลังคลอด และมักพบว่าเกิดการขาดธาตุเหล็กเพราะยังกินอาหารไม่เป็น ซึ่งการขาดธาตุเหล็กในลูกสุกรที่พบทั่วไป (ไพโชค, 2541) จะเกิดจากสาเหตุดังต่อไปนี้

2.4.1.1 ในระยะอู้มท้อง แม่สุกรได้รับอาหารที่ขาดธาตุเหล็ก จะทำให้ธาตุเหล็กที่เก็บสะสมไว้ในตัวลูกสุกรที่อยู่ในท้องมีปริมาณน้อย การเพิ่มธาตุเหล็กในระยะที่แม่สุกรกำลังให้น้ำนม จะไม่มีผลต่อการเพิ่มธาตุเหล็กในน้ำนม

2.4.1.2 ในระยะก่อนคลอด ระยะช่วงสุดท้ายก่อนคลอด ซึ่งเป็นช่วงระยะที่ลูกสุกรกำลังเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในท้อง ถ้าหากแม่สุกรได้รับธาตุเหล็กไม่เพียงพอ จะมีผลทำให้การสะสมธาตุเหล็กในลูกสุกร โดยเฉพาะในระดับลดลง

การที่แม่สุกรมีลูกมากเกินไป มีผลทำให้ลูกสุกรขาดธาตุเหล็ก ทั้งนี้เนื่องจากลูกสุกรได้รับปริมาณน้ำนมต่อตัวลดลง ทำให้ได้รับธาตุเหล็กลดลงไปด้วย

การป้องกันการขาดธาตุเหล็ก ทำได้โดยการฉีดธาตุเหล็กให้ลูกสุกรในช่วงสัปดาห์แรกของการคลอด โดยนิยมฉีดครั้งแรกเมื่ออายุ 3 วัน และครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 7-10 วัน (ไพโชค, 2541)

ความเป็นพิษของธาตุเหล็ก เมื่อได้รับธาตุเหล็กในปริมาณสูง คือ ธาตุเหล็กจะไปเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โปรตีน และองค์ประกอบอื่นของเซลล์ในร่างกาย ทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical) และ organic reactive species ในปฏิกิริยาเฟนตอน (Fenton reaction) ซึ่งถ้าเกิดขึ้นในปริมาณมากก็จะเป็นอันตรายต่อเซลล์ในร่างกาย เนื่องจากอนุมูลอิสระชนิดนี้มีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย โดยเฉพาะในส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุของการตายพันธุ์และการเกิดโรคมะเร็ง โดยเฉพาะมะเร็งตับ (Papanikolaou and Pantopoulos, 2005) นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน กล่าวคือ การได้รับธาตุเหล็กปริมาณสูงจากอาหาร จะทำให้การทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยวิธี phagocytic function ลดลง (Lewis and Southern, 2001)

#### 2.4.2 แหล่งของธาตุเหล็ก

ธาตุเหล็กจะมีอยู่ในอาหารประเภทนมเพียงเล็กน้อย เช่น นมผง และหางนมผง ธาตุเหล็กมีทั่วไปในวัตถุดิบอาหารสัตว์เกือบทุกชนิด และมีมากในพืชใบเขียว (ไพโซค, 2541) โดยเฉพาะถั่ว และพวกเปลือกเมล็ดพืช มีอยู่ในอาหารหลายรูป บางรูปสัตว์ดูดซึมไปใช้ยาก นอกจากนี้ยังนิยมเสริมลงในอาหารสัตว์ในรูปอนินทรีย์ เช่น Ferric Ammonium Citrate ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) Ferric Chloride ( $\text{FeCl}_3$ ) และ Ferric Formate ( $\text{Fe}(\text{HCO}_2)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) (พันทิพา, 2547)

#### 2.4.3 การดูดซึมและการขนส่งธาตุเหล็ก

ธาตุเหล็กที่มีในอาหารส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปเฟอร์รัส (ferrous:  $\text{Fe}^{2+}$ ; non-haem-iron) และเฟอร์ริก (ferric:  $\text{Fe}^{3+}$ ; haem-iron) แต่ส่วนใหญ่ที่ถูกดูดซึมผ่าน mucosal cells จะอยู่ในรูปเฟอร์รัส (ferrous:  $\text{Fe}^{2+}$ ) เมื่ออาหารที่มีธาตุเหล็กผ่านเข้าสู่ทางเดินอาหาร จะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้เล็กน้อยที่กระเพาะอาหาร และถูกดูดซึมได้ดีที่สุดที่ลำไส้เล็กส่วนต้นและส่วนกลางบริเวณ microvillous brush border (Conrad and Umbreit, 2002; Morgan and Oates, 2002; Andrews, 2005) โดยที่การดูดซึมธาตุเหล็กจะเป็นไปตามหลักการ mucosal block ปัจจัยที่กำหนดความต้องการธาตุเหล็กของร่างกายคือ ปริมาณธาตุเหล็กที่จะถูกนำไปใช้สร้างเม็ดเลือดแดงเท่านั้น และเมื่อเฟอร์รัสไอออนถูกดูดซึมผ่าน mucosal cells แล้ว (Lewis and Southern, 2001; McDowell, 1992) จะถูกออกซิไดซ์ให้อยู่ในรูปเฟอร์ริก เพื่อนำไปเก็บไว้ในรูปเฟอร์ริติน (ferritin) จากนั้นเฟอร์ริตินจะเปลี่ยนเป็นทรานสเฟอร์ริน (transferrin) ที่จับกับธาตุเหล็กในรูปของเฟอร์ริกไอออน 2 โมเลกุล สำหรับการขนส่งธาตุเหล็กเข้าสู่ผ่านทางกระแสเลือด (Anderson and Easter, 2005; Lewis and Southern, 2001) เพื่อนำไปใช้ประโยชน์หรือเก็บสะสมไว้ในร่างกาย (Figure 2.13) และเมื่อระดับของเฟอร์ริตินใน mucosal cells ลดลง ร่างกายก็จะดูดซึมธาตุเหล็กที่ได้รับจากอาหารเพิ่มขึ้น (Andrews, 2000; Anderson and Easter, 2005)

กลไกการดูดซึมธาตุเหล็ก จะมีกลไก 2 แบบ คือ จับ transferrin เข้ามาใน lumen เพื่อจับกับเหล็กก่อนนำเข้าไป mucosal cell ในรูป transferrin receptor-iron-transferrin complex หรือรวมกับ mucin ก่อนจะปล่อยเหล็กให้กับ glycoprotein ในผนังเซลล์ ผ่าน mobilferrin ในลำไส้ ไปยัง apoferrin และเก็บไว้ในรูปของ ferritin ซึ่งจะถูกรอกซิไดซ์ให้เป็นเฟอร์ริกทันทีที่ mucosal cells แล้วเก็บไว้ในรูป  $\text{Fe}^{3+}$ -ferritin ที่ mucosal cells ชั่วคราว และหยุดการดูดซึมเมื่อร่างกายเก็บสะสมธาตุเหล็กจนเต็มที่แล้ว เมื่อร่างกายต้องการใช้ธาตุเหล็ก ก็จะมีการปลดปล่อยธาตุเหล็กออกมาในรูป  $\text{Fe}^{3+}$  ที่จับกับ apotransferrin เป็น transferrin เพื่อทำหน้าที่ขนส่งเหล็กไปให้เซลล์ hepatocytes (ในตับ) และ reticuloendothelial macrophages (ในม้ามและตับ) (Emerit *et al.*, 2001) ดังแสดงใน Figure 2.13

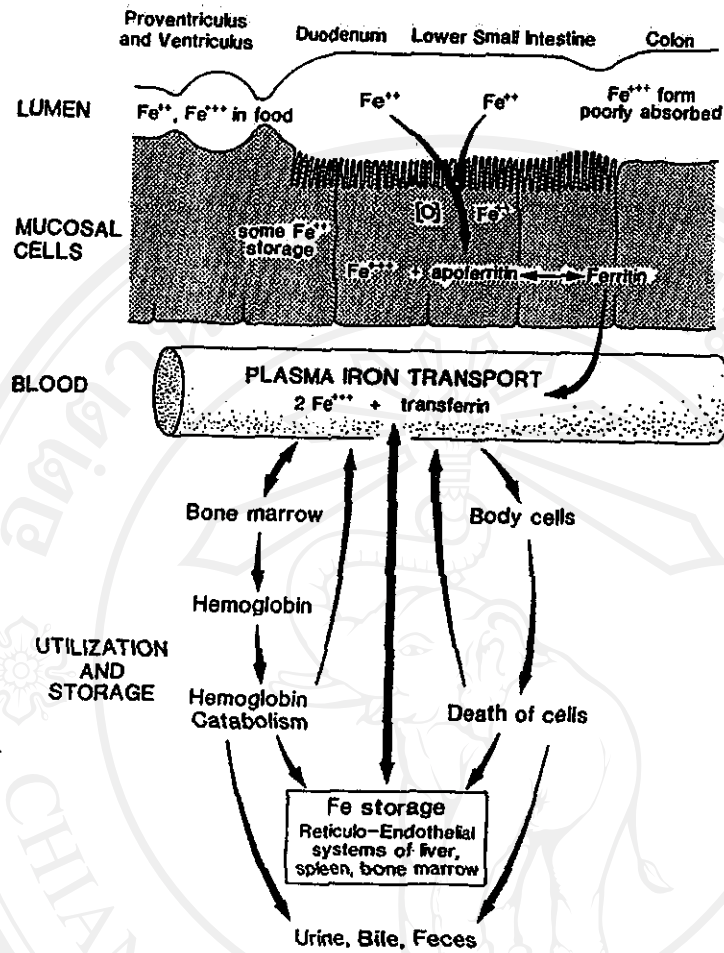


Figure 2.13. Iron metabolism. (McDowell, 1992)

#### 2.4.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการดูดซึมและการใช้ประโยชน์ได้ของธาตุเหล็ก

##### 2.4.4.1. อายุ ระดับของธาตุเหล็ก และสุขภาพของสัตว์

การดูดซึมธาตุเหล็กจะเกิดขึ้นที่ท่อทางเดินอาหารในส่วนลำไส้เล็กตอนต้นและลำไส้เล็กตอนปลาย (Figure 2.13) ในเด็กและคนที่ขาดธาตุเหล็ก ร่างกายจะดูดซึมธาตุเหล็กเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ รวมถึงความเข้มข้นของธาตุเหล็กในเซลล์เยื่อเมือกของลำไส้เล็กส่วนต้น ซึ่งพบว่าในสัตว์ที่ขาดธาตุเหล็ก จะมีการดูดซึมธาตุเหล็กเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง มีเพียงส่วนน้อยที่เก็บอยู่ในเซลล์เยื่อเมือก แต่ในสัตว์ปกติ พบว่าจะมีการดูดซึมธาตุเหล็กจะมีการดูดซึมธาตุเหล็กเข้าสู่กระแสเลือดโดยผ่านเซลล์เยื่อเมือกเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (McDowell, 1992) (Table 2.7)

#### 2.4.4.2. สภาพะของท่อทางเดินอาหาร

ในกระเพาะอาหารของสัตว์มีสารคัดหลั่งที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยอาหาร ธาตุเหล็กในรูปอินทรีย์จะเกิดปฏิกิริยากับน้ำย่อยในกระเพาะอาหารได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน ที่ละลายได้เมื่อสภาพความเป็นกรด-ด่างในกระเพาะอาหารมีค่าเป็นกลาง และการดูดซึมธาตุเหล็กจะสูงขึ้น เมื่อสภาพความเป็นกรดเพิ่มขึ้น

#### 2.4.4.3. ปริมาณและรูปแบบของธาตุเหล็กที่มีอยู่ในอาหาร

สารประกอบคีเลตในอาหาร เช่น ไฟเตท แทนนิน และกรดเอธิลีนไดเอมีนเตตระอะซีติก (ethylenediaminetetraacetic acid; EDTA) จะมีกระทบต่อการดูดซึมธาตุเหล็กที่ไม่ได้อยู่ในรูปของฮีม กล่าวคือ สารคีเลตจะไปลดการดูดซึมธาตุเหล็กในร่างกายของสัตว์ ส่วนวิตามินซี ฮีสติดีน ไกลซีน และซิสเทอีน จะช่วยกระตุ้นการดูดซึมธาตุเหล็ก (Figure 2.13 และ Table 2.7)

#### 2.4.4.4. ปริมาณและสัดส่วนของโภชนะอื่นๆ ที่มีอยู่ในอาหาร

ในอาหารที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบสูงจะทำให้การดูดซึมธาตุเหล็กลดลง เนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างฟอสฟอรัสและเหล็กจะได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนเฟอร์ริกฟอสเฟต และไฟเตท รวมถึงระดับของทองแดง แมงกานีส ตะกั่ว และแคดเมียมในอาหารปริมาณสูง จะไปเพิ่มความต้องการธาตุเหล็กที่เกิดบริเวณเยื่อบุลำไส้ (Figure 2.14 และ Table 2.7)

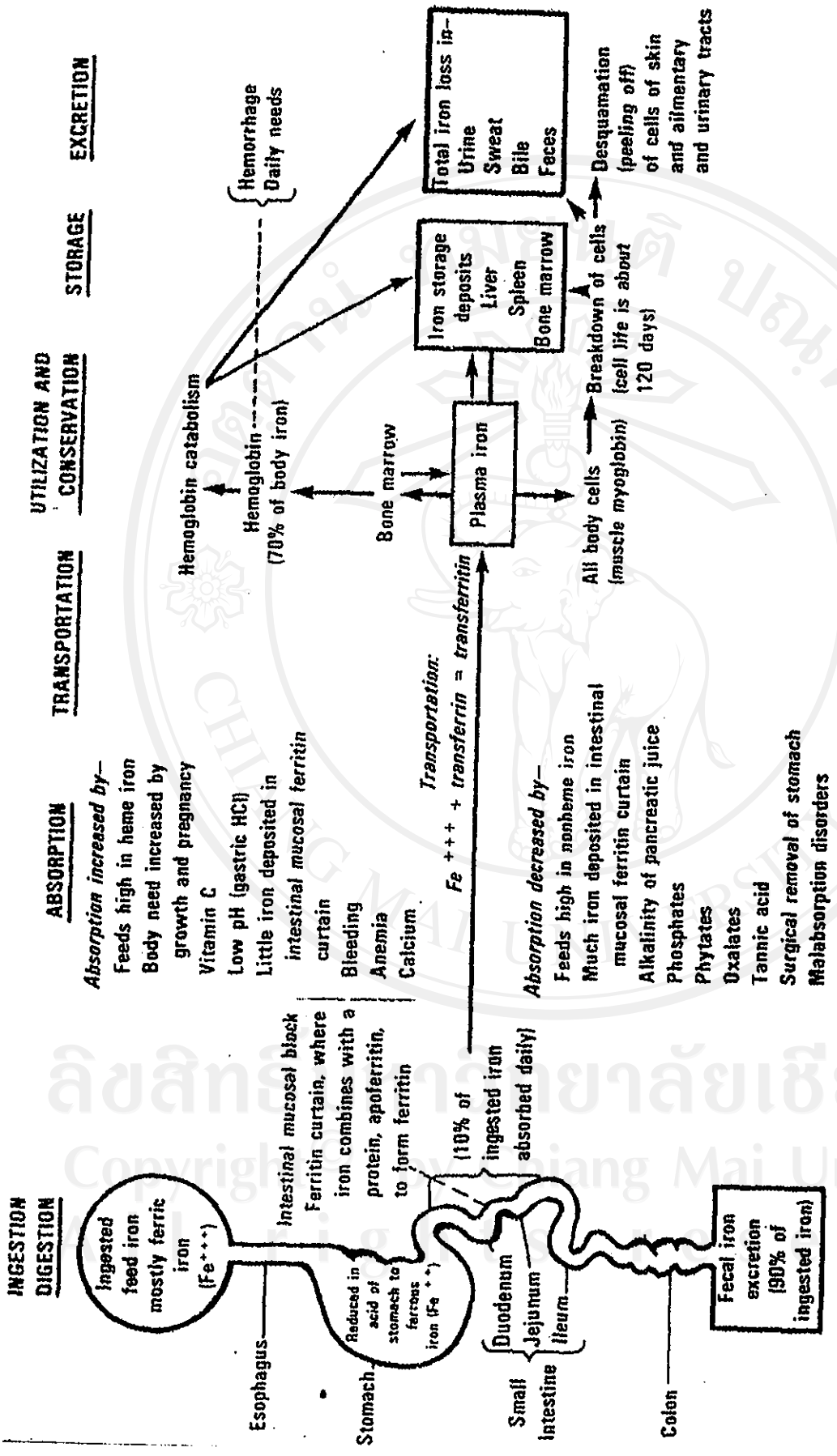


Figure 2.14 Iron absorption, metabolism and excretion. (Berthoin, 1995)



**Table 2.7. Factors influencing dietary iron absorption (World Health Organization, 2004)**

<p><b>Haem iron absorption</b></p> <p>Factors determining iron status of subject:</p> <p>Amount of dietary haem iron, especially from meat</p> <p>Content of calcium in meal (e.g. from milk, cheese)</p> <p>Food preparation (e.g. time, temperature)</p> <p><b>Non-haem iron absorption</b></p> <p>Factors determining iron status of subject:</p> <p>Amount of potentially available non-haem iron (includes adjustment for fortification iron and contamination iron)</p> <p>Balance between the following enhancing and inhibiting factors:</p> <p><i>Enhancing factors</i></p> <p>Ascorbic acid (e.g. certain fruit juices, fruits, potatoes and certain vegetables)</p> <p>Meat, fish and other seafood</p> <p>Fermented vegetables (e.g. sauerkraut), fermented soy sauces etc.</p> <p><i>Inhibiting factors</i></p> <p>Phytate and other lower inositol phosphates (e.g. bran products, bread made from high-extraction flour, breakfast cereals, oats, rice-especially unpolished rice-pasta products, cocoa, nuts, soya bean and peas)</p> <p>Iron-binding phenolic compounds (e.g. tea, coffee, cocoa, certain vegetables and most red wines)</p> <p>Calcium (e.g. from milk, cheese)</p> <p>Soya</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### 2.4.5 ผลของโปรแอนโทไซยานินต่อการดูดซึมธาตุเหล็ก

มีรายงานว่าในธัญพืชหลายชนิดที่ใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์โดยเฉพาะในรำ มีไฟเตท และโปรแอนโทไซยานิน ที่ลดการดูดซึมธาตุเหล็ก (Hallberg *et al.*, 1987) บริเวณเชื่อมของท้องก่อนผ่านเข้าสู่เส้นเลือด portal vein โดย orthodihydroxyl (catechol) groups ใน B ring และ keto structure 4-keto 3-hydroxy หรือ 4-keto, 5-hydroxy ใน C ring ของโปรแอนโทไซยานินหรือสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Miller *et al.*, 2002) จะจับกับเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส ( $Fe^{2+}$ ) เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เรียกว่า คีเลต (chelate) ในรูป  $(Fe^{2+})_n$ -PA ทำให้ระดับธาตุเหล็กในซีรัมลดลง (Wren *et al.*, 2002) ส่งผลให้การใช้ประโยชน์ได้ของธาตุเหล็กต่ำลง (Hurrell *et al.*, 1999; Matuschek *et al.*, 2001) แต่  $(Fe^{2+})_n$ -PA ที่เกิดขึ้นนี้ สามารถยับยั้งปฏิกิริยาเฟนตอนที่ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกายได้ (Bruyne *et al.*, 1999; Lopes *et al.*, 1999; Toyokuni *et al.*, 2002; Khokhar and Apenten, 2003) และพบว่าสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ที่จับกับ  $Fe^{3+}$  มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระมากกว่าที่จับกับ  $Fe^{2+}$  (Moridani *et al.*, 2003)

#### 2.5 ความสัมพันธ์ของธาตุเหล็กกับระบบภูมิคุ้มกัน

เซลล์สิ่งมีชีวิตทุกชนิดทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัว รวมทั้งเซลล์ในเนื้อเยื่อต่างๆ ในร่างกายสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเฉพาะเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันทั้ง T cell และ B cell มีความต้องการธาตุเหล็กเพื่อช่วยในการทำงานของเอนไซม์ ribonucleotide reductase สังเคราะห์ deoxyribonucleotide ในกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ และธาตุเหล็กยังทำหน้าที่เป็น cofactor ที่ช่วยในการทำงานเซลล์ในระบบหายใจ การต้านอนุมูลอิสระ (เอนไซม์ catalase) รวมถึงการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน (Kuvibidila and Baliga, 2002) โดยทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์ peroxide-generating enzyme และ nitrous oxide-generating enzyme ในระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงการสร้างและกลไกการทำงานของ cytokine ตลอดจนการทำงานของ protein kinase C ใน second-messenger system ที่เชื่อมหุ้มเซลล์ (Kuvibidila and Baliga, 2002) เมื่อร่างกายขาดธาตุเหล็กจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ และเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรค (Hentze *et al.*, 2004) แต่เนื่องจากธาตุเหล็กเป็นธาตุที่มีความไวในการเกิดปฏิกิริยา โดยเฉพาะในปฏิกิริยาออกซิเดชันในไขมัน โปรตีน และสารชีวโมเลกุลอื่นๆ ในร่างกาย (Iqbal *et al.*, 2005) ดังนั้นสมดุลของธาตุเหล็กจึงมีความสำคัญต่อการทำงานของเซลล์ในระบบต่างๆ โดยเฉพาะในระบบภูมิคุ้มกันที่ทำหน้าที่ต้านทานสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย (Lewis and Southern, 2001)

ธาตุเหล็กมีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบ CMI มากกว่า HMI (Beard, 2001) กล่าวคือเมื่อร่างกายมีระดับธาตุเหล็กมากหรือน้อยกว่าปกติ จะทำให้สัดส่วนของ T cell ทั้ง helper T cell

cytotoxic/suppressor T cell (Kuvibidila and Baliga, 2002) CD4+ T cells CD4/CD8 ratios ลดลง (Bowlus, 2003) และยังส่งผลต่อการทำงานของเซลล์ macrophage ที่สร้าง reactive oxygen species (ROS) (Vyoral and Petrak, 2005) ทำให้เซลล์สร้าง ROS เพิ่มขึ้น สมดุลของธาตุเหล็กจะมีผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน กล่าวคือ ถ้าร่างกายได้รับธาตุเหล็กเพิ่มขึ้น จะส่งผลให้ T Cell (Th1) สร้าง IL-1 และ TNF- $\alpha$  เพิ่มขึ้น ทำให้ transferrin receptor ที่ทำหน้าที่จับกับเหล็กเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในร่างกายมีการแสดงออกเพิ่มขึ้น (Weiss *et al.*, 1995) แต่ใน B cell การได้รับธาตุเหล็กที่มากผิดปกติ ไม่มีผลกระทบต่อหลั่งแอนติบอดีทั้งชนิดไอจีเอ็ม ไอจีเอ และ ไอจีจี (Kuvibidila and Baliga, 2002)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved