

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 สารแอนติออกซิแดนต์ในผักและผลไม้

สารแอนติออกซิแดนต์ (antioxidant) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าสารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ทำหน้าที่ต่อต้าน หรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (มลศิริ, 2540) สารนี้อาจเรียกว่า free radical scavenger ซึ่งในที่นี้รวมถึงสารที่สามารถยับยั้ง และควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ และจะไปหยุดยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ทำให้คงตัว จึงทำให้หยุดการก่อตัวใหม่ นอกจากนั้นยังซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกาย อีกทั้งกำจัด และแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลาย เพราะสารเหล่านี้อาจเป็นพิษต่อร่างกายได้ สารแอนติออกซิแดนต์มีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ (natural antioxidant) มักพบในอาหารจำพวกผักและผลไม้ ได้แก่ phenolic compound, amino acid, ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, melanoidin, other organic acid, reductions, peptides, tannins, quercetin และ tocopherols เป็นต้น (Huang *et al*, 1992) และสารสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) ได้แก่ tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA), tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) และ tert-butylhydroquinone (TBHQ) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์หลักในระบบต้านอนุมูลอิสระประกอบด้วย superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase

สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 กลุ่มใหญ่ ๆ ดังนี้

1) Primary antioxidant สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ ได้แก่ สารประกอบฟีนอล (phenolic substance) ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลจากธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ (natural and synthetic tocopherol) alkyl gallate, BHA, BHT, TBHQ และอื่น ๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

2) Secondary antioxidant สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ dialcyl thiopropionate และ thiopropionic acid ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ lipid hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

3) Oxygen scavenger สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี, ascorbyl palmitate, erythorbic acid (isoascorbic acid) และ sodium erythorbate เป็นต้น สารกลุ่มนี้จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้

4) Enzymic antioxidant สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ เอนไซม์ต่าง ๆ ซึ่งแบ่งเป็น primary antioxidant enzyme และ ancillary antioxidant enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ )

5) Chelating agent หรือ sequestrant สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดซิตริก กรดอะมิโน และ ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA) เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริม และเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

เมื่อร่างกายได้รับสารแอนติออกซิแดนต์ จะมีกลไกการทำงานต่างๆเกิดขึ้นดังนี้ (Gutteridge and Halliwell, 1994)

1) เข้าจับกับ oxygen-derived species โดยใช้เอนไซม์ หรือเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ

2) ลดการเกิดของ oxygen-derived species

3) เข้าจับไอออนโลหะเพื่อทำให้ปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแปลง reactive species ลดลง เช่น  $O_2^{\bullet}$  และ  $H_2O_2$  ส่งผลให้เกิด  $OH^{\bullet}$  ได้น้อยลง

4) ช่วยซ่อมแซมส่วนที่ถูกทำลาย

5) ทำลายโมเลกุลที่ถูกทำลาย และเติมโมเลกุลใหม่เข้าไปแทนที่

การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมีการทดสอบได้หลายวิธี ตัวอย่างเช่น

1) ด้วยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) วิธีนี้เป็นการติดตามปริมาณสารประกอบอัลดีไฮด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ low density lipoprotein (LDL) กับโลหะไอออน เช่น  $Fe^{2+}$  และ  $Cu^{2+}$  เป็นต้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (Pokorny *et al*, 2001)

2) การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี 2, 2-azinobis ethylbenzothiazoline-6-sulphonate (ABTS) เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ABTS ในรูปของ  $ABTS^+$  ซึ่งใช้ทดสอบกับสารสกัดจากอาหาร วัดการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (Whiteman and Guan, 2003)

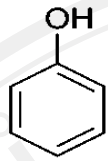
3) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในรูปกรดแกลลิก เป็นการทดสอบสารฟีนอลทั้งหมด โดยใช้ Folin-ciocalteu reagent ทำปฏิกิริยากับตัวอย่างสารละลาย และทำการ

เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (Zoecklein *et al.*, 1995)

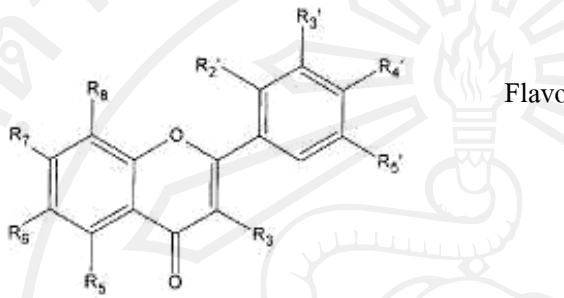
4) การทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ติดตามผลการทดลองโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 517-520 นาโนเมตร (สันติ และวรวรรณ, 2544)

สารแอนติออกซิแดนต์มีอยู่มากมายหลายชนิด แต่ที่มีความสำคัญและพบมากในผักและผลไม้ คือ สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) ซึ่งเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวน hydroxyl group อย่างน้อยหนึ่ง หรือมากกว่าหนึ่งหมู่ในโมเลกุล สามารถละลายได้ในน้ำ ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลมักพบอยู่ร่วมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่ม และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน เช่น flavone, flavanone, flavanol และ anthocyanidin (ภาพที่ 2.1) กลุ่มใหญ่ที่พบจะเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

หน้าที่ของสารประกอบฟีนอลเหล่านี้ บางชนิดก็ทราบแน่ชัด เช่น ลิกนิน ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช สารในกลุ่มแอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นสารที่ให้สีในดอกไม้ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญของพืชจำพวกถั่ว เป็นต้น สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนต์ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแทนนิน เป็นต้น ซึ่งสารประกอบฟีนอลจะเป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูล peroxy (Packer *et al.*, 1999) โดยมีกลไกในการกำจัดอนุมูลอิสระ 2 แบบ คือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลจะหน่วงเหนี่ยว หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ (propagation) ได้ สารประกอบฟีนอลยังทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ เป็นตัวให้อิโคโรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอกทีฟ สารประกอบฟีนอลมีประโยชน์ในการรักษาโรค ได้แก่ ช่วยยับยั้งการแข็งตัวของเกล็ดเลือดต่อต้านอาการอักเสบและบวม รักษาแผลในกระเพาะอาหาร และต่อต้านการแพ้จากการหลังของฮีสตามีน (Middleton and Kandaswami, 1994)



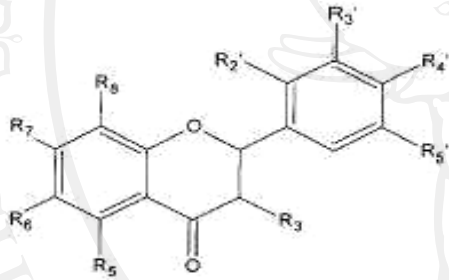
Phenol



Flavone/ Flavonol

Quercetin = OH : 3, 5, 7, 3', 4'

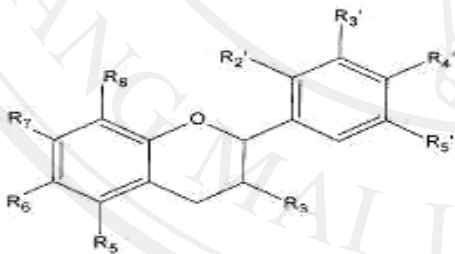
Kaempferol = OH : 3, 5, 7, 4'



Flavanone/ Flavanonol

Taxifolin = OH : 3, 5, 7, 3', 4'

Naringenin = OH : 5, 7, 4'

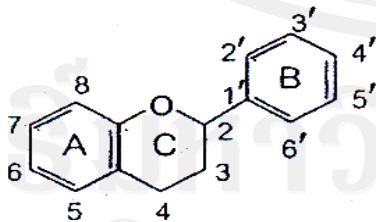


Flavanol

Catechin = OH : 3, 5, 7, 3', 4'

Anthocyanidin

Cyanidin = OH : 3, 5, 7, 3', 4'



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของโมเลกุลฟีนอล และสารประกอบฟีนอลบางชนิด

ที่มา: Dzyubak, 2007

ในผัก ผลไม้ มีสารในกลุ่มของฟีนอลที่สำคัญ คือ สารแอนโทไซยานิน และสารเคอร์ซีทีน ซึ่งแต่ละชนิดมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

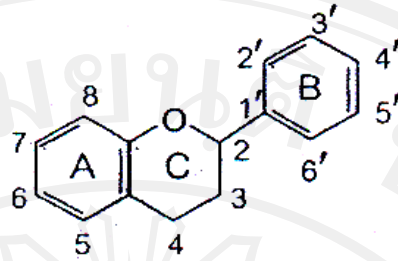
1) สารแอนโทไซยานิน (anthocyanins) แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบในผัก ผลไม้ ดอกไม้ และผลของพืชชนิดต่าง ๆ ละลายอยู่ใน vacuolar sap ของพืช เช่น มะเขือม่วง กะหล่ำปลีสีม่วง แอปเปิล กระจับปี่ องุ่น และผลไม้ประเภทเบอร์รี่ เป็นต้น สามารถละลายน้ำได้แต่ไม่ละลายใน non-hydroxy solvent จะมีสีแดงที่ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำ และมีสีม่วงหรือสีน้ำเงินที่ pH เป็นกลางหรือเป็นด่าง มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น ฟลาวิลเลียมแคทไอออน (flavylium cation) หรือเกลือของ 2-phenylbenzopyrylium ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม จัดเรียงตัวในระบบ 3 วงเรียกว่า A B และ C โดยวง A และ B เป็นวงของเบนซีนเรียกว่า วงฟีนิล (phenyl ring) ส่วนวง C เป็นวงแลคโตน (lactone ring) (ภาพที่ 2.2) และแอนโทไซยานินเป็นไกลโคไซด์ (glycoside) ของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) (เกียรติศักดิ์, 2535)

จากการวิเคราะห์โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบกระดาษ พบว่าในผลหม่อนมีสารแอนโทไซยานิน ชนิด cyanidin 3 – glucoside ซึ่งอยู่ในรูปไกลโคไซด์ (glycoside) เกิดจากส่วนที่เป็นอะไกลโคน (aglycone) คือ ไซยานิดิน (cyanidin) มีหมู่ไฮดรอกซี (hydroxy, -OH) เกาะอยู่ที่วงฟีนิล A ตรงตำแหน่งที่ 5 และ 7 ส่วนวง B หมู่ (-OH) เกาะตำแหน่งที่ 3 และ 4 โดยมีน้ำตาลกลูโคส (glucose) เชื่อมต่ออยู่ที่ C-3 ซึ่งจะมีสีแดงม่วง และโดยทั่วไปแอนโทไซยานินจะมีสีแตกต่างกัน เกิดจากโครงสร้างของจำนวนหมู่ไฮดรอกซีที่วง B

มีการนำแอนโทไซยานินไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมผลไม้กระป๋อง นมเปรี้ยว และไวน์แดง ซึ่งสีของแอนโทไซยานินจะคงสภาพได้ดีที่ความชื้นไม่เกินร้อยละ 3 และการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดจะให้สีคงทน ตลอดจนใช้เป็นสีผสมอาหารได้ อีกทั้งสารแอนโทไซยานิน ยังมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนต์ได้อีกด้วย

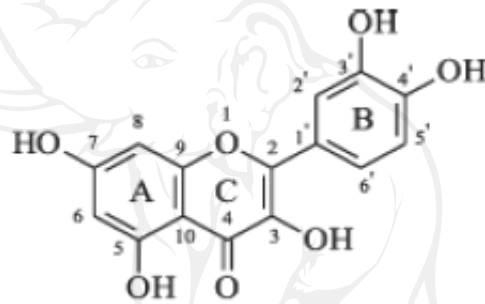
2) สารเคอร์ซีทีน (Quercetin) สารเคอร์ซีทีนเป็นสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับแอนโทไซยานิน (ภาพที่ 2.3) มีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนต์ที่พบในแอปเปิล ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ และหัวหอม สารเคอร์ซีทีนทำหน้าที่เป็นสารที่รวมตัวกับโลหะ (chelating agent) ดักจับไอออนของโลหะเข้าไปในโมเลกุล โดยโครงสร้างของสารเคอร์ซีทีนมีตำแหน่งที่สามารถดักจับไอออนของโลหะ (binding site) เช่น ทองแดง ได้ 3 บริเวณ คือ บริเวณ 3,4-dihydroxy ของวงแหวน B บริเวณ 3-hydroxy, 4-keto ของวงแหวน C และบริเวณระหว่างตำแหน่ง 5-hydroxy ของวงแหวน A กับตำแหน่ง 4-keto วงแหวน C (ภาพที่ 2.4)





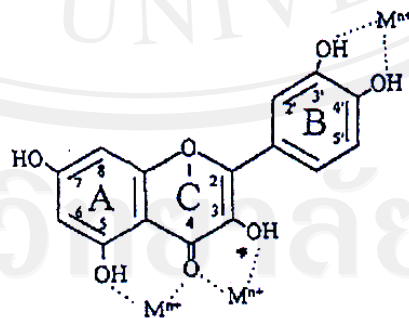
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

ที่มา: Dzyubak, 2007



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของเคอร์ซีทิน

ที่มา: Castaeda-Ovando *et al.*, 2009



ภาพที่ 2.4 บริเวณ binding site ของสารเคอร์ซีทินที่จับกับไอออนของโลหะ

ที่มา: Packer *et al.*, 1999

มีรายงานการวิจัยพบว่าสารเคอร์ซีทินสามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ และเส้นเลือดสมองตีบ การเสริมสารเคอร์ซีทินช่วยลดความดันโลหิตในสัตว์ที่มีความดันโลหิตสูง มีการศึกษาการเสริมสารเคอร์ซีทินในผู้ป่วยทั้งชายและหญิงที่เริ่มมีความดันโลหิตสูง (n=19) และเป็นความดันโลหิตสูงขั้น 1 (ความดันโลหิตช่วงหัวใจบีบตัว 140 – 159 มม.ปรอท และความดันโลหิตช่วงหัวใจคลายตัว 90 – 99 มม.ปรอท) ด้วยวิธี randomized, doubleblind, placebo control และ crossover โดยเสริมสารเคอร์ซีทินวันละ 730 มิลลิกรัม เป็นเวลา 28 วัน พบว่าหลังการเสริมสารเคอร์ซีทิน ความดันโลหิตในกลุ่มผู้ป่วยที่เริ่มมีความดันโลหิตสูงไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งตรงข้ามกับกลุ่มผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูงขั้น 1 ความดันโลหิตจะลดลง (Nutrition update, 2007)

Pietta and Simonetti (1999) ได้ศึกษาปริมาณการดูดซึมของสารเคอร์ซีทินในอาสาสมัครที่ทำศัลยกรรมสร้างทางผ่านเข้าไปในลำไส้เล็กตอนปลาย โดยทางผนังช่องท้อง (ileostomy) เพื่อป้องกันการสูญเสียสารประกอบฟลาโวนอยด์เนื่องจากแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ และได้รับสารเคอร์ซีทินจากหัวหอมทอด ซึ่งมีสารเคอร์ซีทินกลูโคไซด์ในปริมาณสูง (เทียบเท่ากับอะโกลโคน 89 มิลลิกรัม) สารเคอร์ซีทินรูตินโนไซด์บริสุทธิ์ ซึ่งเป็นสารเคอร์ซีทินหลักในชา เทียบเท่ากับอะโกลโคน 10 มิลลิกรัม หรือสารเคอร์ซีทิน อะโกลโคนบริสุทธิ์ 100 มิลลิกรัม พบว่าภายใน 13 ชั่วโมง สารเคอร์ซีทิน หรือโกลโคไซด์ของสารเคอร์ซีทินในของเหลวจากทางเดินอาหารมีการสลายตัวน้อยมาก มีการดูดซึมของสารเคอร์ซีทินกลูโคไซด์จากหัวหอมทอดร้อยละ 52 สารเคอร์ซีทินรูตินโนไซด์ร้อยละ 17 และหรือสารเคอร์ซีทินอะโกลโคนบริสุทธิ์ร้อยละ 24 การขับออกของสารเคอร์ซีทิน หรือโกลโคไซด์ของสารเคอร์ซีทินเป็น ร้อยละ 5 ของปริมาณที่ถูกดูดซึม แสดงว่าสารเคอร์ซีทินกลูโคไซด์จากหัวหอมถูกดูดซึมได้ในลำไส้เล็ก จึงสรุปว่าอะโกลโคนเอื้อประโยชน์ดีกว่าโกลโคไซด์ โดยอะโกลโคนดูดซึมได้ทั้งในลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่

## 2.2 ผลกระทบของสารอนุมูลอิสระต่อสุขภาพของมนุษย์

อนุมูลอิสระ หรือ free radical หมายถึง สารใด ๆ ที่มีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ (unpaired electron) มากกว่าหรือเท่ากับหนึ่งอิเล็กตรอนในวงโคจรของโมเลกุล ในพจนานุกรมศัพท์วิทยาศาสตร์ของราชบัณฑิตยสถาน ใช้คำว่า อนุมูลเสรี ซึ่งหมายถึง โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนในวงโคจรชั้นนอกสุดปราศจากคู่ เกิดขึ้นเมื่อวงโคจรของอิเล็กตรอนชั้นนอกสุดของโมเลกุลหนึ่ง ๆ ได้รับอิเล็กตรอนเข้ามา หรือสูญเสียอิเล็กตรอนออกไปหนึ่งอิเล็กตรอน การเขียนสัญลักษณ์ของอนุมูลอิสระโดยการใช้จุดที่ตำแหน่งบนขวาของสูตรโมเลกุลเดิม เพื่อแสดงถึงอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ ปกติจะใช้สัญลักษณ์ R แสดงถึงอนุมูลอิสระที่ไม่เฉพาะเจาะจง โดยทั่วไปอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นอนุมูลประจุบวก เรียกว่า อนุมูลแคทไอออน (cation radical) ใช้สัญลักษณ์ (R)<sup>+</sup> เช่น

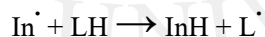
อนุมูล pyridinyl ส่วนอนุมูลประจุลบ เรียกว่า อนุมูลแอนไอออน (anion radical) ใช้สัญลักษณ์  $(R)^{\bullet-}$  เช่น อนุมูล superoxide  $(O_2)^{\bullet-}$  และอนุมูลที่มีประจุเป็นกลาง (neutral radical) ใช้สัญลักษณ์  $(R)^{\bullet}$  เช่น อนุมูล hydroxyl  $(OH)^{\bullet}$  อนุมูล alkoxy  $(C_nH_{(2n+1)}O)^{\bullet}$  อนุมูล alkylperoxy  $(C_nH_{(2n+1)}OO)^{\bullet}$  และอนุมูล alkylthiyl  $(C_nH_{(2n+1)}S)^{\bullet}$  เป็นต้น (Roberfroid and Calderon, 1995)

อนุมูลอิสระแบ่งได้เป็น 4 ชนิด (สุวดี, 2549) ได้แก่

- 1) ซุปเปอร์ออกไซด์ (super oxide) อนุมูลอิสระชนิดนี้เกิดขึ้นเมื่อไมโทคอนเดรียในเซลล์นำออกซิเจนออกมาใช้เป็นพลังงาน ดังนั้นถ้ายังมีชีวิตอยู่ย่อมหนีไม่พ้นที่จะเกิดอนุมูลอิสระชนิดนี้
- 2) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogene peroxide) เป็นสารที่มีความเสถียรพอสมควร คือ มากกว่าซิงเลตออกซิเจน และไฮดรอกซิล เรดิคัล จึงปล่อยออกซิเจนออกมาทำให้มีพิษ
- 3) ซิงเลตออกซิเจน (singlet oxygen) เป็นอนุมูลอิสระที่สามารถก่อปฏิกิริยาออกซิเดชันรุนแรง เกิดขึ้นในร่างกายเมื่อได้รับรังสีเอ็กซ์ และรังสีอัลตราไวโอเลต ซึ่งจะเกิดซิงเลตออกซิเจนจำนวนมาก
- 4) ไฮดรอกซิล เรดิคัล (hydroxyl radical) เป็นอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ก่อปฏิกิริยาออกซิเดชันรุนแรงที่สุด ทำให้ร่างกายแก่เร็ว เกิดโรคมะเร็ง และโรคต่าง ๆ ในผู้สูงอายุ

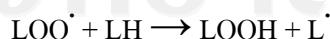
ปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (free radical chain reaction) ระหว่างไขมันชนิดไม่อิ่มตัวและออกซิเจน การเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวถูกเร่งโดยตัวกระตุ้น (initiator) ได้แก่ ไอออนของโลหะ (metal ion) สารที่ไวต่อแสง (photosensitizers) แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet light) และเอนไซม์จำเพาะ กลไกทั้งหมดของปฏิกิริยาออกซิเดชันมี 3 ขั้นตอน (Chaiyasit *et al.*, 2007) คือ

1. ขั้นการเกิดอนุมูลอิสระ (Initiation)



ขั้นตอนนี้เป็นการเกิดอนุมูลอิสระของกรดไขมันหรืออนุมูลอัลคิล (alkyl radical;  $L^{\bullet}$ ) ซึ่งเกิดจากการที่ไฮโดรเจนแตกออกจากกรดไขมัน (LH) ในสภาวะที่มีตัวกระตุ้น ( $In^{\bullet}$ )

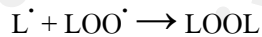
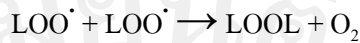
2. ขั้นการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ (Propagation)



ขั้นตอนนี้เกิดจากการรวมตัวของออกซิเจนกับอนุมูลอัลคิล เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxy radical;  $LOO^{\bullet}$ ) ซึ่งมีพลังงานสูงกว่าอนุมูลอัลคิล ดังนั้นอนุมูลเปอร์ออกซิลจึงสามารถดึงเอาไฮโดรเจนมาจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวอื่นมาเกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide; LOOH) และเกิดอนุมูลอัลคิลใหม่



### 3. ขั้นตอนการเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (Termination)



ขั้นตอนนี้เกิดจากการที่อนุมูลอิสระ 2 ตัวทำปฏิกิริยากันเอง เกิดเป็นสารที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาก็จะหยุดลง

โดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นใน 2 รูปแบบ คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนมาจากสารโมเลกุลอื่นที่อยู่ข้างเคียง และโดยการเพิ่มโมเลกุลของออกซิเจนเข้าไปเพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (peroxy radical) (Steven and Harry, 1997) เนื่องจากอนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่อยู่ในโมเลกุล จึงมีความไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ทำลายสมดุลของระบบต่างๆ ในร่างกายของมนุษย์ โดยการไปทำลายองค์ประกอบหลักของเซลล์ เช่น ทำลายหน้าที่ของเซลล์เมมเบรนอันนำไปสู่การตายของเซลล์ ทำลายดีเอ็นเอโดยไปจับกับหมู่ฟอสเฟตและน้ำตาลดีออกซีไรโบส อนุมูลอิสระยังสามารถแตกพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้โปรตีนไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ อนุมูลอิสระมีที่มาจากแหล่งภายนอกในร่างกาย ได้แก่ มลพิษในอากาศ โอโซน ในครัวออกไซด์ ในโตรเจนไดออกไซด์ ฝุ่นควันบุหรี่ อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหรือธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ยาบางชนิด สารปรุงแต่งอาหาร แบคทีเรียไวรัส ยากำจัดแมลงและศัตรูพืช เป็นต้น ทั้งนี้การออกกำลังอย่างหักโหมจะทำให้อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้ด้วย และแหล่งภายในร่างกาย ได้แก่ ออกซิเจน ซึ่งจะทำปฏิกิริยาเคมีโดยตรงกับองค์ประกอบภายในร่างกาย สามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นได้ (Gutteridge, 1993) ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดสภาวะทางพยาธิสภาพ และทำให้เกิดการติดเชื้ออักเสบ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคที่สำคัญ ได้แก่ โรคหัวใจ ไขมันอุดตันในเส้นเลือด ไช้อักเสบ ต้อกระจก เป็นต้น อีกทั้งยังพบว่า อนุมูลอิสระเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคประสาท และโรคพิษสุราเรื้อรัง

### 2.3 ความสำคัญของผลหมอน และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลหมอนเป็นผลิตภัณฑ์จากต้นหมอนที่มีศักยภาพในการใช้ประโยชน์สูง เป็นผลพลอยได้จากการปลูกหมอนเลี้ยงไหม สามารถรับประทานสดได้ และมีสรรพคุณทางด้านยาสมุนไพร เช่น ใช้แก้โรคไขข้ออักเสบ โรครูมาติก โรคโลหิตจาง ชาตามแขนขา นอนไม่หลับ อาการท้องผูก เวียนศีรษะ หูอื้อ บำรุงประสาท บำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต บำรุงไต บำรุงสายตา บำรุงเส้นผมให้ดกดำ ขับเสมหะ ขับความร้อนออกจากร่างกาย และลดการอักเสบลำคอ (คณาจารย์ภาควิชา

เก๊สซ์วินิจัย, 2534) เป็นต้น ผลหม่อนสุกจะมีลักษณะอวบน้ำ มีสัดส่วนความเปรี้ยว (tartness) กับหวาน (sweetness) ที่สมดุลกัน รสชาติอร่อย กลิ่นหอม มีสีแดงเข้มจนถึงสีดำทั้งผล เนื่องจากมีสารสีในกลุ่มของแอนโทไซยานินอยู่สูง และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหาร และอาหารเสริมสุขภาพ นอกจากนี้มีการวิจัยพบว่าในผลหม่อนมีสารประกอบเคอร์ซีทิน ที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Du *et al.*, 2008) โดยมีปริมาณเคอร์ซีทินในผลหม่อนสุกสดมีอยู่ 3.42 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ในผลหม่อนสุกแห้งมีอยู่ 17.63 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งมีสมบัติในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ low density lipoprotein (LDL) ในร่างกายมนุษย์ อีกทั้งยังอาจช่วยป้องกันการเกิดโรคที่เกิดจากภาวะเสื่อมภายในร่างกาย เช่น โรคเบาหวาน โรคหัวใจ และความดันโลหิตสูง เป็นต้น (Frankel *et al.*, 1998)

จากผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลหม่อนพบว่า มีคาร์โบไฮเดรต 21.35 กรัมต่อ 100 กรัม เหล็ก 43.48 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม วิตามินบี 1 50.65 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และวิตามินบี 6 930.10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ต่อน้ำหนักแห้งของผลหม่อน (วสันต์, 2546) มีแอนโทไซยานินซึ่งเป็นรงควัตถุที่ให้สีแดง น้ำเงิน และม่วง สมบัติที่สำคัญคือ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โรคมะเร็ง แก้วเวียงเวียงศิริยะ และบำรุงสายตา (Chen *et al.*, 2006) การศึกษาคุณภาพของผลหม่อนสุกได้มีการศึกษาทั้งในและต่างประเทศ ในประเทศไทยได้มีรายงานว่าผลหม่อนสุกพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณสารแอนโทไซยานิน และปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ สูงกว่าผลหม่อนสุกพันธุ์เชียงใหม่ และผลหม่อนสุก (สีม่วงดำทั้งผล) มีปริมาณสารต่าง ๆ ดังกล่าวสูงกว่าผลหม่อนห้าม (สีแดงร้อยละ 50 และสีม่วงดำร้อยละ 50) (สุรินทร์, 2548) นอกจากนี้ยังพบว่าผลหม่อนสุกพันธุ์เชียงใหม่ มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมด สารแอนโทไซยานินทั้งหมด สารเคอร์ซีทิน และดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาสุกที่เพิ่มขึ้น ในผลหม่อนสุกพบสารกลุ่มนี้มีปริมาณสูงสุด (3,654.97±7.59; 2,512.40±11.32; 1.81±1.00 ไมโครกรัมต่อกรัม และ 6.89±0.53 ตามลำดับ) (สมชาย และคณะ, 2550)

จินตนาภรณ์ และคณะ (2551) ได้ศึกษาฤทธิ์ของผลหม่อนต่อการเรียนรู้และความจำตลอดจน การตายของเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส ในภาวะปกติ และในแบบจำลองของโรคสมองเสื่อม หนูขาวเพศผู้จะได้รับการป้อนผงหม่อนแห้งในขนาด 2, 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว วันละครั้ง ทั้งในภาวะปกติและภาวะความจำบกพร่องที่จำลองโรคสมองเสื่อมพบว่า ผลหม่อนมีศักยภาพในการเพิ่มการเรียนรู้และความจำทั้งในภาวะปกติและในภาวะที่มีความจำบกพร่อง โดยผลหม่อนขนาด 2 และ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวจะมีฤทธิ์

เพิ่มการทำงานของ เอนไซม์ที่สามารถจับกับอนุโมลอิสระ ทำให้ปริมาณอนุโมลอิสระลดลงและทำให้ความหนาแน่นของเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสเพิ่มขึ้น ในขณะที่ผลหม่อนขนาด 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว จะมีฤทธิ์ลดการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase ทำให้ปริมาณ acetylcholine เพิ่มขึ้นและเพิ่ม การเรียนรู้

สุภาพร และคณะ (2551) ได้ศึกษาฤทธิ์ของผลหม่อนต่อความบกพร่องการเรียนรู้และความจำตลอดจนการตายของเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำภาวะพิษสุราเรื้อรัง แล้วป้อนผลหม่อนแห้งในขนาด 2 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว วันละครั้งเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าผลหม่อนทุกขนาดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถลดความบกพร่องในเรื่องการเรียนรู้และความจำ และลดการตายของเซลล์ในฮิปโปแคมปัสที่เกิดจากพิษสุราได้

การนำเอาผลหม่อนไปใช้ประโยชน์นั้นได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง ได้มีรายงานการศึกษาจากประเทศจีนว่าสามารถสกัดเอาสารแอนโทไซยานินในผลหม่อนเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหาร น้ำผลหม่อนที่สกัดได้มีปริมาณสารแอนโทไซยานินเท่ากับ 384.07 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ macroporous resin จากนั้นนำไปทำให้เข้มข้น และสามารถใช้เป็นสีผสมอาหารได้ (Xueming *et al*, 2004) สำหรับในประเทศไทยมีการศึกษาโดยการนำผลหม่อนสุกพันธุ์เชียงใหม่ไปสกัดเป็นสีผสมอาหารด้วยเช่นกัน โดยพบว่าสามารถผลิตสีผสมอาหารได้ 3 รูปแบบ คือ สีน้ำเข้มข้น สีผงเคลือบน้ำตาล และสีผงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สีผลหม่อนที่ได้ทุกรูปแบบสามารถใช้แต่งสีแดงในอาหารได้เกือบทุกชนิด เช่น ไวน์ น้ำผลไม้ และอาหารหวาน เป็นต้น (สมชาย และคณะ, 2550)

เครื่องดื่มจากผลหม่อนเป็นผลิตภัณฑ์อีกชนิดหนึ่งที่ได้มีการศึกษาอย่างแพร่หลาย โดยพบว่าหม่อนสุกพันธุ์บุรีรัมย์ 60 สามารถนำไปผลิตไวน์ที่มีคุณภาพดี การปรับปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเป็น 3.5 กรัมต่อลิตร และการใช้ยีสต์ผงทางการค้าสายพันธุ์ *Fermivin 7013* ทำให้ไวน์มีคุณภาพมากที่สุด ไวน์ที่ได้มีสีม่วงแดง มีเอทานอลร้อยละ 13.27 โดยปริมาตร ปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 5.47 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.76 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 7.77 องศาบริกซ์ ปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์เท่ากับร้อยละ 89.2 (สุรินทร์, 2548)

ได้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำผลหม่อนผงโดยวิธีการอบแห้งแบบโพนัมเมท โดยคัดเลือกสารที่ก่อให้เกิดโพนัมเมทในน้ำผลหม่อนสกัด 3 ประเภท คือ methocel, glyceryl monostearate (GMS), และ carboxy methyl cellulose (CMC) พบว่าการใช้สารละลาย methocel ในปริมาณร้อยละ 45 โดยน้ำหนักของน้ำผลหม่อนสกัดเป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด น้ำผลหม่อนที่ได้มีสีแดงเข้มอมม่วง

( $L = 13.74$ ,  $a^* = 39.82$ ,  $b^* = 21.20$ ) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 14 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.4 ปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 0.12 โดยน้ำหนัก และปริมาณ แอนโทไซยานินเท่ากับ 152.29 มิลลิกรัมต่อลิตร (อัจฉรรย์ และปิยาภรณ์, 2548)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการนำผลหม่อนไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ โดยพบว่าผลหม่อนห้าม (สีแดงร้อยละ 50 และสีม่วงดำร้อยละ 50) นั้นเหมาะสำหรับผลิตเป็นผลหม่อนแช่แข็ง ส่วนการผลิตลูกอมผลหม่อนพบว่าสามารถใช้ได้ทั้งผลหม่อนแก่ (สีแดงทั้งผล) และผลหม่อนห้าม (สีแดงร้อยละ 50 และสีม่วงดำร้อยละ 50) สำหรับการผลิตผลหม่อนอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าผลหม่อนห้าม เหมาะสมที่สุดในการใช้เป็นตัวดูดซับ คุณภาพของผลหม่อนอบแห้งที่ได้คล้ายผลหม่อนสด แต่มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมด สารแอนโทไซยานินทั้งหมด สารเคอร์ซีทิน และ คีซนีสารต้านอนุมูลอิสระ สูงกว่าผลหม่อนสดประมาณ 5-10 เท่า โดยมีค่าเท่ากับ ( $12,110.50 \pm 60.96$   $6,090.91 \pm 65.9$   $7.61 \pm 1.00$  ไมโครกรัมต่อกรัม และ  $11.90 \pm 1.40$  ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ) (สมชาย และคณะ, 2550)

#### 2.4 ความสำคัญของเกสรดอกไม้จากผึ้ง และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เกสรดอกไม้จากผึ้ง หรือ เกสรผึ้ง (bee pollen) คือ เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของดอกไม้ที่ผึ้งไปเก็บรวบรวมโดยวิธีการเข้าไปคลุกเคล้ากับอับเกสรของผึ้ง ทำให้เกสรติดตามตัว และใช้ขาปิดเขี่ยรวมกันเป็นก้อนติดไว้ที่ขาหลัง บริเวณอวัยวะที่เรียกว่าตะกร้าเก็บเกสร และนำมาเก็บยั้งรัง เพื่อใช้เป็นอาหารประเภทโปรตีนสำหรับประชากรในรัง และโดยเฉพาะใช้เลี้ยงตัวอ่อน เกสรที่นำมาบ่มในรังจนเกสรนุ่ม จะถูกนำไปเลี้ยงผึ้งงานตัวอ่อนที่อายุมากกว่า 3 วัน โดยผึ้งจะผสมผสมกับน้ำผึ้ง องค์ประกอบในเกสรพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน แต่โดยทั่วไปแล้วมีโปรตีนเป็นพื้นฐาน และมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เอนไซม์ แร่ธาตุต่างๆ และวิตามิน เป็นต้น ผู้เลี้ยงผึ้งเป็นอุตสาหกรรม นิยมการดักเก็บเกสรที่ผึ้งชนเข้ารัง และนำเกสรไปทำให้แห้ง โดยกรรมวิธีที่ไม่สูญเสียคุณค่าทางอาหาร บางบริษัททำเป็นเม็ดเล็กๆ และนิยมเรียกว่า เกสรดอกไม้จากผึ้ง เป็นอาหารเสริมที่มีคุณค่าทางอาหาร สามารถกระตุ้นร่างกายที่เมื่อยล้าจากการทำงานหนักให้ปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวกับระบบย่อยอาหาร เพราะเกสรดอกไม้จากผึ้ง มีฤทธิ์ต่อการทำงานของแบคทีเรีย และช่วยควบคุมแบคทีเรียในลำไส้ (ศิริวัฒน์, 2529)

Almeida *et al.* (2005) ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางพฤกษศาสตร์ของเกสรดอกไม้จากผึ้ง จากประเทศบราซิล โดยใช้เกสรดอกไม้จากผึ้ง 10 ตัวอย่างจากแหล่งที่แตกต่างกัน โดยเกสรดอกไม้จากผึ้ง ที่วิเคราะห์ได้เป็นค่าเฉลี่ยโดยมีปริมาณความชื้น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเถ้า ร้อยละ 7.4 40 20 6 และ 2.2 ตามลำดับ



Hannelie and Sue (2006) ทำการวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของเกสรดอกไม้จากฝั้ว จาก เกสรดอกไม้สด เกสรดอกไม้ที่ติดมากับข่าฝั้ว และเกสรดอกไม้จากฝั้ว จากการสุ่มเก็บจาก ฟาร์ม จากผลการทดลองพบว่าคุณค่าทางโภชนาการ กรดอะมิโน และ กรดไขมัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) โดยเกสรดอกไม้ที่ติดมากับข่าฝั้ว และเกสรดอกไม้จากฝั้วจะมีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น (ร้อยละ 13 – 21 ของน้ำหนักเปียก) และคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 35- 61 ของน้ำหนักแห้ง) ส่วน crude โปรตีน จะมีปริมาณลดลง (ร้อยละ 51- 28 ของน้ำหนักเปียก) และไขมัน (ร้อยละ 10 – 8 ของน้ำหนักเปียก) และปริมาณของกรดอะมิโนจำเป็น ตรวจพบในระดับที่เท่ากันทั้ง 3 ประเภทยกเว้น tryptophan ส่วนปริมาณไขมัน พบว่าในเกสรดอกไม้สดจะมีปริมาณของกรดไขมันในอัตราส่วนที่มากกว่าเกสรดอกไม้ที่ติดมากับข่าฝั้ว และเกสรดอกไม้จากฝั้ว จากการสุ่มเก็บจากฟาร์ม

Abarca *et al.* (2007) ได้ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้จากเกสรดอกไม้จากฝั้ว ด้วยเอทานอล แล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้ง lipid peroxidation ที่พบได้ในร่างกาย ดังนั้นเกสรดอกไม้จากฝั้ว จึงเป็นแหล่งที่มีสารต้านอนุมูลอิสระอีกแห่งหนึ่งที่มีในธรรมชาติ

ในด้านความปลอดภัยของเกสรดอกไม้จากฝั้วนั้น ได้มีการรายงานว่ามีพิษต่อสัตว์ปีกและสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ซึ่งหากฝั้วได้รับสารเคมีดังกล่าวจะตายทันที จึงไม่สามารถที่จะนำเกสรดอกไม้จากฝั้วมาที่รังได้ ซึ่งเกสรดอกไม้จากฝั้วส่วนใหญ่ที่ฝั้วจะนำมาได้คือดอกไม้ป่าที่ไม่มีสารพิษตกค้างหรือมีน้อยมากและปลอดภัยต่อฝั้วได้แก่ ดอกสาบเสือ โดยจากการตรวจสอบสารเคมีที่มีพิษสูงสุดต่อฝั้วคือพวกออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphate, OPP) ของเกสรฝั้วในจังหวัดภาคเหนือของประเทศไทยนั้นตรวจไม่พบสารเคมีพวก OPP (ศิริวัฒน์, 2529) ดังนั้นเกสรดอกไม้จากฝั้วจึงมีความปลอดภัยและสามารถนำไปบริโภคได้