**บทที่ 2**

**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

**เชียงดา**

เชียงดาหรือผักเชียงกา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gymnema inodorum* (Lour.) Decne. จัดอยู่ในวงศ์ของตีนเป็ด (Apocynaceae) และอยู่ในวงศ์ย่อยนมตำเลีย (Asclepiadoideae หรือ Asclepiadaceae) ผักเชียงดาที่พบโดยทั่วไปจะเป็นไม้เถาเลื้อยลักษณะของใบเป็นใบเดี่ยวมีสีเขียวเข้ม ปลายใบแหลม ฐานใบมน ผิวเรียบ ไม่มีขน ส่วนของลำต้นมีสีเขียวและมีน้ำยางสีขาวโดยทั่วไปนิยมปลูกตามรั้วบ้านและขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ดหรือปักชำ แสดงลักษณะของผักเชียงดา แสดงสรรพคุณของผักเชียงดา ในส่วนใบของผักเชียงดาเมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์พบว่ามีสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน แซนโธฟิลล์แทนนิน คลอโรฟิลล์ และสารประกอบฟินอลลิก โดยสารสำคัญเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารอนุมูลอิสระนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดมะเร็งตับ มะเร็งในกระเพาะอาหาร โรคอ้วน โรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน และโรคต้อกระจกในผู้สูงอายุ นอกจากนี้ยังช่วยในการบำรุงสายตา ควบคุมการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ นอกจากใบของผักเชียงดาแล้ว ส่วนของลำต้นยังมีสารออกฤทธิ์ที่มีสรรพคุณช่วยบรรเทาอาการไอ แก้หลอดลมอักเสบและปอดอักเสบ แก้ริดสีดวงทวาร โรคบิด อีกทั้งยังใช้เป็นยาขับปัสสาวะอีกด้วย (จักรพันธุ์ เนรังษี, 2558)

**1. ลักษณะทั่วไป**

ผักเชียงดา จัดเป็นไม้เถาเลื้อย ความยาวของเถาขึ้นอยู่กับอายุ ลำต้นเป็นสีเขียว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-5 เซนติเมตร ทุกส่วนที่อยู่เหนือดินของต้นจะมีน้ำยางสีขาวคล้ายน้ำนม ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ดและวิธีการปักชำ เจริญเติบโตได้ดีในดินร่วน ระบายน้ำดี ใบผักเชียงดาเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว ลักษณะของใบเป็นรูปรีหรือรูปกลมรี ปลายใบแหลม โคนใบแหลม ส่วนขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น แผ่นใบเป็นสีเขียวเข้ม ท้องใบมีสีอ่อนกว่า ผิวใบเรียบไม่มีขน ก้านใบยาวประมาณ 3.5-6 เซนติเมตร ดอกผักเชียงดา จะออกดอกเป็นช่อแน่นสีขาวอมเขียวอ่อน ดอกย่อยมีขนาดเล็กกลม ส่วนผลผักเชียงดาออกผลเป็นฝัก ซึ่งในฤดูแล้งรสชาติของผักเชียงดาจะหอม หวาน ส่วนฤดูฝนจะติดเฝื่อนนิดๆ รสชาติโดยทั่วไปขมนิดๆ ดังภาพที่ 2.1

|  |  |
| --- | --- |
| (ก) | (ข) |
| (ค) | (ง) |

**ภาพที่ 2.1** ลักษณะทั่วไปของผักเชียงดา (ก) ลักษณะลำต้น (ข) ลักษณะใบผักเชียงดา (ค) ลักษณะดอกผักเชียงดา และ (ง) ลักษณะผลผักเชียงดา

**ที่มา :** MedThai (2014)

**2. สรรพคุณของผักเชียงดา**

1) ผักเชียงดามีสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นต้นเหตุทำให้เกิดโรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน โรคมะเร็งในกระเพาะอาหาร มะเร็งตับ โรคต้อกระจกในผู้สูงอายุ ช่วยป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดง และการเสียของ DNA ข้ออักเสบรูมาตอยด์และเก๊าท์

2) ผักเชียงดามีสารออกฤทธิ์ที่ช่วยควบคุมการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ และชาวบ้านยังนิยมกินผักเชียงดาหน้าร้อน เพื่อช่วยลดความร้อนในร่างกายอีกด้วย

3) หมอยาพื้นบ้านจะใช้ผักเชียงดาเป็นยาบำรุงกำลัง แก้อาการปวดเมื่อยอันเนื่องมาจากการทำงาน

4) ช่วยทำให้เจริญอาหาร

5) ช่วยชำระล้างสารพิษตกค้างในร่างกาย

6) ใช้รักษาเบาหวาน ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ปรับระดับอินซูลินในร่างกายให้สมดุล ช่วยสร้างเนื้อเยื่อใหม่ให้ตับอ่อน

7) ช่วยควบคุมและปรับระดับความดันโลหิตให้เป็นปกติ

8) ช่วยลดและควบคุมปริมาณไขมันในร่างกายให้สมดุล

ปัจจุบันมีการใช้ผักเชียงดาเป็นทั้งยาสมุนไพรและเป็นอาหารเพื่อรักษาโรคโดยกลุ่มหมอเมืองทางภาคเหนือมานานแล้ว กล่าวคือ การใช้เป็น “ยาแก้หลวง” (คล้ายยาครอบจักรวาลของแผนปัจจุบัน) ถ้าคิดไม่ออกก็บอกผักเชียงดา เช่น แก้เบาหวาน เวียนศีรษะ ปวดศีรษะตัวร้อน แก้ไข้สันนิบาต (ชักกระตุก) แก้หวัด ภูมิแพ้ หอบหืด แก้แพ้ยา แพ้อาหาร ปวดข้อ เป็นยาระบาย ช่วยระงับประสาท หรือเมื่อมีอาการคิดมากหรือจิตฟั่นเฟือน ฯลฯ ส่วนการนำมาใช้เป็นยาก็ให้นำผักเชียงดามาสับแล้วนำไปตากแห้งบดเป็นผง ใช้ชงเป็นชาดื่ม หรือจะนำมาบรรจุลงในแคปซูลก็ได้ การนำมาใช้เป็นยาในหน้าแล้งให้นำรากมาทำยา ส่วนในหน้าฝนให้ใช้ส่วนของเถาและใบ โดยนำมาสับตากแห้งแล้วบดให้เป็นผง ใช้ชงเป็นชาดื่ม

**ชา**

ชาเป็นผลผลิตทางเกษตรกรรมจากใบ ยอดอ่อน และก้าน ของต้นชา (*Camellia sinensis*) นำมาผ่านกรรมวิธีแปรรูปหลากหลาย "ชา" ยังหมายรวมถึงเครื่องดื่มกลิ่นหอม ที่ทำจากพืชตากแห้งชนิดต่างๆ นำมาชงหรือต้มกับน้ำร้อน นอกจากนี้ ชายังเป็นเครื่องดื่มที่มีการบริโภคมากที่สุดเป็นอันดับ 2 รองจากน้ำเปล่า ซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคของคนทั่วโลกเช่นเดียวกับ กาแฟ และโกโก้ โดยจีนเป็นประเทศแรก ที่เริ่มนำชามาทำเป็นเครื่องดื่มเมื่อกว่า 2,000 ปี ที่แล้ว จากนั้นความนิยมในการดื่มน้ำชา ก็ได้แพร่กระจายไปทั่วโลก ทั้งในทวีปอเมริกา ยุโรป เอเชีย และในบางประเทศของทวีปแอฟริกา ชามาจากพืชตระกูลคาเมลเลีย (Camelliea) ซึ่งมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Camelliea sinensis* ถิ่นกำเนิดอยู่ในอินเดียและจีน มีลักษณะเป็นไม้พุ่ม ใบแหลมสีเขียว ดอกสีขาว มีกลิ่นหอม เมื่อปล่อยให้โตตามธรรมชาติสามารถสูงได้ถึง 20 เมตร แต่ในการทำไร่ชามักจะเลี้ยงไว้ที่ความสูง 3-5 เมตร และตัดแต่งกิ่งให้ส่วนบนเป็นพื้นราบ เพื่อสะดวกในการ เก็บยอดชาที่จะผลิออกมาใหม่ ถึงแม้ว่า ประเทศในเขตร้อน ใกล้เส้นศูนย์สูตรจะเป็นประเทศที่ปลูกชาได้ดี เนื่องจากสภาพอากาศที่เหมาะสม แต่ปริมาณน้ำฝนและสภาพดินยังเป็นปัจจัยหลักๆ ที่ส่งเสริมการเพาะปลูกและการเติบโตของต้นชา และยังมีผลต่อรสชาติชาอีกด้วย ชาที่มีคุณภาพดีส่วนใหญ่จะต้องปลูกอยู่ที่ความสูงไม่เกิน 1,500 เมตร หรือ 5,000 ฟุต ซึ่งต้นชาจะมีการเติบโตช้าแต่ให้รสชาติที่ดี ส่วนของต้นชาที่นำมาใช้ทำเครื่องดื่มจะอยู่ส่วนบนสุดของต้น 1-2 นิ้วของยอดชา ซึ่งเป็นตำแหน่งของการผลิใบอ่อน และการแตกหน่อ ซึ่งเป็นส่วนที่มีคุณภาพที่ดีที่สุด (สารานุกรมเสรี, 2559)

ชาถูกจัดประเภทตามกระบวนการแปรรูป หลังจากการเก็บเกี่ยวใบของชาจะถูกทิ้งให้สลดและบ่ม โดยทำให้เอนไซม์ในใบชาเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ ใบชาจะมีสีเข้มขึ้น คลอโรฟิลล์ในใบชาจะแตกตัว กลายเป็นสารแทนนินที่ให้รสฝาด ต่อจากนั้นต้องหยุดการทำงานของเอนไซม์ โดยใช้ความร้อนเพื่อให้หยุดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในชาดำกระบวนการนี้จะดำเนินคู่กันไปกับการทำให้แห้ง หากไม่ระมัดระวังในการควบคุมความชื้นและอุณหภูมิระหว่างกระบวนการผลิต ใบชาอาจขึ้นรา เกิดปฏิกิริยาสร้างสารพิษที่อาจเป็นสารก่อมะเร็งขึ้นได้ ทำให้รสชาติเสียไป และอันตรายต่อการบริโภค (Balentine *et al*., 1997)

ชา สามารถจัดประเภทตามกระบวนการแปรรูปต่างๆ ได้ดังนี้ต่อไปนี้

1. ชาขาว คือ ยอดอ่อนชาที่ถูกทิ้งให้สลด แต่ไม่ได้บ่ม เมื่อชงชาแล้วจะได้เครื่องดื่มที่มีสีเหลืองอ่อน ชาขาวเป็นเครื่องดื่มที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (functional food) มีสารที่มีสรรพคุณเป็นโภชนเภสัช (nutraceutical) ได้แก่ สารพอลิฟีนอล โดยเฉพาะคาเทชิน (catechin) ในปริมาณสูงกว่าชาชนิดอื่น โดยสารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยป้องกันโรคและความบกพร่องต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับอนุมูลอิสระ เช่น มะเร็ง โรคหัวใจ โรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด โรคอัลไซเมอร์การดื่มชาขาวช่วยให้ร่างกายรู้สึกสดชื่น กระปรี้กระเปร่า ช่วยสร้างความรู้สึกผ่อนคลาย ลดอาการตึงเครียดจากการทำงานหนัก อุดมไปด้วยแร่ธาตุและวิตามินต่างๆ ในปริมาณสูง (Serio *et al*., 2010)
2. ชาเหลือง คือ ใบชาที่ไม่ได้ถูกทิ้งให้สลด และไม่ได้บ่ม แต่ทิ้งใบชาให้เป็นสีเหลือง
3. ชาเขียว คือ ใบชาที่ไม่ได้ถูกทิ้งให้สลดและไม่ได้บ่ม เมื่อชงจะได้เครื่องดื่มสีเขียวอ่อน ในชาเขียวอุดมไปด้วยสารพอลิฟีนอลในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น  คาเทชิน ซึ่งสารที่พบมากที่สุดในชาเขียว คือ epigallocatechin-3-gallate (EGCG) ซึ่งพบประมาณร้อยละ 35-50 ซึ่งพบสูงกว่าชาดำ (ประมาณร้อย 10 ) และชาอู่หลง (ประมาณร้อยละ 8 - 20)  เนื่องจากฟลาโวนอยด์ในชาดำและชาอู่หลงถูกเปลี่ยนไปเป็นธีอะฟลาวินส์ (theaflavins) และทีอะรูบิจินส์ (thearubigind) ขณะผ่านกระบวนการหมักใบชาให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลด้วยเอนไซม์ (enzymatic browning reaction) แต่ชาดำมีสารประกอบที่ให้กลิ่นมากกว่าชาเขียว (Cabrera *et al*., 2006)

สารพอลิฟีนอลในชาเขียวมีคุณสมบัติเป็นโภชนเภสัชสามารถออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยคาเทชินซึ่งสารที่พบมากในชาเขียวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติเช่นเดียวกับเบตา-แคโรทีน วิตามินอี และวิตามินซี ซึ่งช่วยกำจัดอนุมูลอิสระที่เป็นพิษต่อร่างกาย ช่วยให้สุขภาพดีขึ้น ช่วยลดโคเลสเตอเรล ลดการเกิดของหลอดเลือดแข็งตัว (arthrosclerosis) โรคหลอดเลือดหัวใจ และมะเร็ง นอกจากนี้ยังช่วยในการเพิ่มการเผาผลาญพลังงานและไขมัน ซึ่งมีผลต่อการลดน้ำหนัก (Vaya and Auiranm, 2001) สารต้านอนุมูลอิสระในชา มีผลยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) ป้องกันการเกิดกลิ่นหืนในอาหารได้ด้วย (Guo *et al*., 1996)

1. ชาแดง คือ ใบของชาเขียวที่ผ่านกระบวนการออกซิเดชันหรือการหมัก จนได้เป็นใบชาสีเข้ม เมื่อชงจะได้เครื่องดื่มสีน้ำตาลแดง
2. ชาอูหลง คือ ใบชาที่ทิ้งให้สลด นวด และบ่มเล็กน้อย เครื่องดื่มที่ได้จะมีสีเขียวทอง
3. ชาดำ คือ ใบชาที่ทิ้งให้สลด (อาจมีการนวดอย่างแรง) และผ่านการบ่มเต็มกระบวนการ เครื่องดื่มที่ได้มีสีแดงเข้มจนถึงสีดำ
4. ชาหมัก คือ ชาเขียวที่ผ่านกระบวนการหมักนานนับปี
5. ชาผู่เอ๋อร์ คือ ชาชนิดหมักที่หมักในช่วงระยะเวลาหนึ่ง แล้วสามารถพัฒนาอายุด้วยการบ่มด้วยตัวของมันเอง ชาผู่เอ๋อร์มีกรรมวิธีการผลิตโดยการหมักไว้ในเข่งตะกร้าสานด้วยไม้ไผ่และรอง ด้วยใบตอง หมักแล้วอัดเป็นก้อนตั้งแต่ขนาดเท่าหัวแม่มือ ไปจนถึงขนาดเท่าโต๊ะกลมๆ แล้วเก็บไว้ตั้งแต่ 1 ปี 5 ปี 10 ปี ไปจนถึง 20 ปี (Balentine *et al*., 1997)

สี กลิ่น รสของชา ขึ้นอยู่กับปริมาณสารคาเทชินในชา ฤดูการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว มีผลต่อระดับของคาเทชินในใบชา ชาในฤดูใบไม้ผลิ (ชารุ่นแรก) มีคาเทชินประมาณร้อยละ 12-13 ขณะที่ชาในฤดูร้อน (ชารุ่นสองหรือสาม) มีคาเทชินประมาณร้อยละ 13-14  ใบชาอ่อนมีคาเทชินมากกว่าใบชาแก่ (Cabrera *et al*., 2006) นอกจากนี้ในใบชายังพบแทนนิน ซึ่งทำให้เกิดรสฝาด ขม และประกอบด้วยคาเฟอีนร้อยละ 2.5-4.5 โดยประมาณร้อยละ 80 ของคาเฟอีนเป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ จะถูกสกัดออกมาจากการชงชาในแต่ละครั้ง (Cabrera *et al*., 2006)

สารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่พบในชา คือ สารประกอบพอลิฟีนอล เช่น คาเทชิน ธีอะฟลาวินส์ (theaflavin) ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันหลายฟอร์ม ดังนี้ อิพิคาเทชิน แกลเลต หรืออีซีจี ((-)-epicatechin gallate ; (ECG)) อิพิแกลโลคาเทชิน หรืออีจีซี ((-)-epigallocatechin ; EGC) อิพิแกลโลคาเทชินแกลเลต หรืออีจีซีจี ((-)-epigallocatechin gallate ; EGCG) ทรีฟาวิน หรือทีเอฟ (theaflavin ; TF) ทรีฟาวินโมโนแกลเลตเอ หรือทีเอฟ-1 เอ (theaflavin monogallate A ; TF-1A) ทรีฟาวิน โมโนแกลเลตบี หรือทีเอฟ-1 บี (theaflavin monogallate B ; TF-1B) และทรีฟาวินไดแกลเลต หรือ ทีเอฟ-2 (theaflavin digallate ; TF-2) (Peterson, 2005; Cabrera *et al*., 2006) ดังภาพที่ 2.2 แต่คาเทชินเป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุดในชา และชาแต่ละชนิดมีสารประกอบที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2.1) เนื่องจากกระบวนการผลิตชาแต่ละชนิดมีกระบวนการผลิตที่แตกต่างกัน เช่น กระบวนการหมักชามีผลต่อปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ในชา พบว่าระดับการหมักที่แตกต่างกันจากน้อยไปมาก (จากชาเขียว ไปเป็นอูหลงและชาดำ) ทำให้ปริมาณคาเทชินทั้งหมด และอิพิแกลโลคาเทชิน 3-แกลเลตลดลง ดังตารางที่ 2.2

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | | |
| R1 = OH, R2 = H | | 1- epicatechin galate (ECG)  1-epigalocatechin (EGC)  1- epigalocatechin galate (EGCG) |
|  | | |
| R3, R4 = H | | Theaflavin (TF)  Theaflavin monogallate A (TF-1A)  Theaflavin monogallate B (TF-1B) |
|  |  | Theaflavin digallate (TF-2) |

**ภาพที่ 2.2** สารประกอบพอลิฟีนอลที่พบในชา

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| สารประกอบสารประกอบ\*  **ตารางที่ 2.1** ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่พบในชา  ฟลาโวนอยด์ที่พบในชา | ชาดำ | | ชาเขียว | | ชาอูหลง | | ชาผู่เอ๋อร์ | |
| เฉลี่ย | ช่วง | เฉลี่ย | ช่วง | เฉลี่ย | ช่วง | เฉลี่ย | ช่วง |
| ฟลาแวน-3-ออลส์ |  |  |  |  |  |  |  |  |
| คาเทชิน | 167 | 35–480 | 24 | 0–80 | 17 | 0–70 | 0 | 0 |
| อิพิคาเทชิน | 316 | 60–1100 | 793 | 190–2000 | 259 | 120-450 | 81 | 0–250 |
| อิพิคาเทชิน 3-แกลเลต | 923 | 280–2380 | 1755 | 328–4630 | 707 | 170–1210 | 40 | 0–120 |
| อิพิแกลโลคาเทชิน | 1257 | 29–3870 | 1712 | 100–5440 | 510 | 180–1640 | 157 | 12–400 |
| อิพิแกลโลคาเทชิน 3-แกลเลต | 1393 | 140–5090 | 8975 | 1182–18 810 | 3861 | 736–7110 | 120 | 0–370 |
| แกลโลคาเทชิน | 126 | 56–278 |  |  |  |  |  |  |
| แกลโลคาเทชิน 3-แกลเลต |  |  | 316 | 160–1380 | 93 | 40–160 | 13 | 0–50 |
| คาเทชินทั้งหมด (ผลรวมค่าเฉลี่ย) | 4182 |  | 13 575 |  | 5447 |  | 411 |  |
| คาเทชินทั้งหมด | 3937 | 1019–12480 | 15 667 | 7820–24 110 | 6037 | 2100–8870 | 493 | 140–940 |
| ธีอะฟลาวินส์ | 162 | 40–527 |  |  |  |  |  |  |
| ธีอะฟลาวินส์ 3-แกลเลต | 105 | 7–260 |  |  |  |  |  |  |
| ธีอะฟลาวินส์ 3’-แกลเลต | 178 | 13–413 |  |  |  |  |  |  |
| ธีอะฟลาวินส์ 3,3’-ไดแกลเลต | 144 | 7–496 |  |  |  |  |  |  |
| ธีอะฟลาวินส์ทั้งหมด (ผลรวมค่าเฉลี่ย) | 589 |  |  |  |  |  |  |  |
| ธีอะฟลาวินส์ทั้งหมด | 568 | 67–1448 |  |  |  |  |  |  |
| The arubigins | 12 490 | 4530–16 933 |  |  |  |  |  |  |
| ฟลาแวน-3-ออลส์ทั้งหมด | 17 262 |  | 13 576 |  | 5447 |  | 411 |  |
| ฟลาโวนอล |  |  |  |  |  |  |  |  |
| คีมปเฟอรอล | 132 | 44–213 | 130 | 91–150 |  | 90 |  | 23 |
| ไมริสติน | 25 | 0–80 | 101 | 52–131 |  | 49 |  | 40 |
| เคอซิติน | 210 | 89–416 | 175 | 140–230 |  | 130 |  | 52 |
| ฟลาโวนอลทั้งหมด | 367 |  | 406 |  | 269 |  | 115 |  |
| ฟลาโวน |  |  |  |  |  |  |  |  |
| อะพิจินิน | 54 | 21–91 | 77 | 25–128 |  | 109 |  | 0 |
| สารประกอบสารประกอบ\*  **ตารางที่ 2.1** (ต่อ)  ฟลาโวนอยด์ที่พบในชา | ชาดำ | | ชาเขียว | | ชาอูหลง | | ชาผู่เอ๋อร์ | |
| เฉลี่ย | ช่วง | เฉลี่ย | ช่วง | เฉลี่ย | ช่วง | เฉลี่ย | ช่วง |
| ลูทีโอลิน | 5 | 3–9 | 8 | 2–14 |  | 9 |  | 5 |
| ฟลาโวนทั้งหมด | 59 |  | 85 |  | 119 |  | 5 |  |
| ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด | 17 687 |  | 14 066 |  | 5834 |  | 531 |  |

**ที่มา:** Lakenbrink (2000)

**หมายเหตุ:** \* แสดงหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

**ตารางที่ 2.2** ผลของกระบวนการหมักต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในชา

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| สารประกอบฟลาโวนอยด์\* | ชาเขียว | ชาอูหลง | ชาดำ | ชาผู่เอ๋อร์ |
| **ฟลาแวน-3-ออลส์** |  |  |  |  |
| คาเทชิน | 24 | 17 | 167 | 0 |
| อิพิคาเทชิน | 793 | 259 | 316 | 81 |
| อิพิคาเทชิน 3-แกลเลต | 1755 | 707 | 923 | 40 |
| อิพิแกลโลคาเทชิน | 1712 | 510 | 1,257 | 157 |
| อิพิแกลโลคาเทชิน 3-แกลเลต | 8975 | 3861 | 1,393 | 120 |
| แกลโลคาเทชิน 3-แกลเลต | 316 | 93 | 126 | 13 |
| คาเทชินทั้งหมด (ผลรวมค่าเฉลี่ย) | 13,576 | 5447 | 4,183 | 411 |
| คาเทชินทั้งหมด | 15,667 | 6037 | 3,937 | 493 |
| **ฟลาโวนอล**  แคมเฟอรอล | 30 | 90 | 132 | 23 |
| ไมริสติน | 101 | 49 | 25 | 40 |
| เคอซิติน | 175 | 130 | 210 | 52 |
| **ฟลาโวน** |  |  |  |  |
| อะพิจินิน | 77 | 110 | 54 | 0 |
| ลูทีโอลิน | 8 | 9 | 5 | 5 |

**ที่มา:** Lakenbrink (2000)

**หมายเหตุ :** \* แสดงหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

นอกจากนั้นยังมีปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในชา 2 ประการคือ องค์ประกอบของชาและลักษณะการชง โดยองค์ประกอบของชาจะขึ้นอยู่กับชนิดและกระบวนการผลิตชา ส่วนลักษณะการชง ได้แก่ ขนาดของชา อัตราส่วนของชาต่อปริมาณน้ำ เวลา และอุณหภูมิที่ใช้ในการชง ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดคือชนิดและน้ำหนักของชาที่ใช้ชง (Lou and Robert, 2010)

**ชาอื่นๆ**

คำว่า ชา นอกจากจะหมายถึงผลผลิตจากต้นชาแล้ว ยังหมายรวมถึงเครื่องดื่มกลิ่นหอม ที่ทำจากพืชตากแห้งชนิดต่างๆ นำมาชงหรือต้มกับน้ำร้อนอีกด้วย และคำว่า "ชาสมุนไพร" นั้น หมายถึง น้ำที่ชงจากสมุนไพร ใบไม้ ดอกไม้ หรือผลไม้ ของพืชอื่นๆ ที่ไม่มีส่วนผสมจากต้นชา เช่น

ชามะลิ

ชามะลิ เป็นชาที่นำชาเขียว (หรืออาจเป็นชาอื่นๆ) มาใส่ดอกมะลิที่รีดน้ำ และกลิ้งแล้ว ใส่ลงไป ปกติถ้าเป็นชาที่คุณภาพต่ำ จะไม่ใช้มะลิแท้ๆ มาทำ เพียงแค่แต่งกลิ่นประกอบเพิ่มเท่านั้น ส่วนชามะลิแท้ๆ จะใส่มะลิอบแห้งไปด้วย ทำให้ได้รส และกลิ่นมะลิเต็มตัว ทำให้ราคาของชามะลิแท้จะค่อนข้างแพง ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระในชามะลิจะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากชานั่นเอง (Kim *et al*., 1999)

ชาตะไคร้เตยหอม

ชาตะไคร้เตยหอม เป็นชาที่ไม่ได้ใช้ส่วนผสมจากต้นชาเลย แต่ว่านำพืชที่มีกลิ่นหอม มาหั่นพอประมาณ และอบแห้ง เป็นชาที่มีกลิ่นค่อนข้างแรง และราคาถูกกว่าชาแท้ๆ แต่รสชาติจะสู้ไม่ได้ ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จะขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้ เช่นสารต้านอนุมูลอิสระในคะไคร้ ได้แก่ เทอร์พีนีออล คริโทรนิลลอล ไลโมนีน เจอร์รัลออย ไดเพนทีน เมทิลเฮบทีนอน และนีรอล (Simon *et al*., 1984)

ชาใบหม่อน

ชาใบหม่อน เป็นชาที่กำลังได้รับความนิยม ไม่แพ้ชาชนิดอื่น โดยสรรพคุณของใบหม่อนจะช่วยป้องกันรักษา โรคเบาหวาน ลดระดับน้ำตาลในเส้นเลือด และช่วยขจัดไขมันส่วนเกินในร่างกายได้ดี อีกทั้งยังมีราคาค่อนข้างถูกเมื่อเทียบกับชาชนิดอื่นๆ ชาใบหม่อนมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญหลายชนิด เช่น เควอซิติน แคมเฟอรอล (kaempferol) และรูทิน (rutin) นอกจากนั้นยังพบว่าชาใบหม่อนมีสารดีเอ็นเจ (1-deoxynojirimycin) มีสรรพคุณลดระดับน้ำตาลในเลือด มีสารกาบา (gamma amino-butyric acid) ลดความดันโลหิต มีสารกลุ่มไฟโตสเตอรอล (Phytosterol) ลดไขมันในเลือด (Arabshahi and Urooj, 2007; Katsube, 2006) อีกทั้งชาใบหม่อนไม่มีรายงานผลข้างเคียงจึงถือว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภค

รูปแบบการบรรจุใบชาที่ขายในท้องตลาดมีดังนี้

1) ใบชาผงในภาชนะปิดสนิท (Loose tea)

ใบชาผงในภาชนะปิดสนิท เป็นใบชาแห้งที่บรรจุในกระป๋องหรือภาชนะปิดสนิท ซึ่งผู้ชงสามารถตวงปริมาณใบชาแห้งเองได้ตามต้องการ ในการชงจะต้องมีอุปกรณ์ช่วยในการกรองกากชาออกด้วย

2) ใบชาแห้งอัด (Compressed tea)

ใบชาแห้งอัด เป็นใบชาแห้งที่อัดแน่นเพื่อสะดวกในการเก็บรักษา โดยเฉพาะชาชนิดผู่เอ๋อ (Pu-Erh) จะถูกอัดเป็นก้อน เวลาจะนำใบชามาชงให้ใช้ปลายมีดเขี่ยใบชาออกมาในปริมาณที่ต้องการ ใบชาแห้งอัดนี้สามารถเก็บไว้ได้นานกว่าใบชาแห้งธรรมดา เนื่องจากมีส่วนที่สามารถสัมผัสกับอากาศน้อยกว่า

3) ชาแท่งหรือชาแผ่น (Tea sticks)

ชาแท่งหรือชาแผ่น เป็นการบรรจุใบชาสำหรับการบริโภคในรูปแบบใหม่ แท่งชานี้กำเนิดในประเทศฮอลแลนด์ช่วงปี ค.ศ. 1990 โดยบริษัท Venezia Trading ได้ผลิตแท่งชาที่เรียกว่า “Ticolino” ซึ่งเป็นแท่งบรรจุชาสำหรับ 1 ที่ ภายในบรรจุใบชาหรือใบชาผสมสมุนไพรหรือกลิ่นรสตามต้องการ วิธีใช้คือใส่แท่งชาลงในแก้ว เทน้ำร้อนลงไป แช่ไว้นาน 90 วินาทีเพื่อสกัดกลิ่นรสของใบชาที่อยู่ภายในออกมา จากนั้นก็คนเล็กน้อย แล้วดึงแท่งชาออก

4) ชาสำเร็จรูป (Instant tea)

ชาสำเร็จรูป เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดละลายน้ำ โดยการทำการสกัดสารในใบชาออกมาเป็นชาเข้มข้น น้ำชาเข้มข้นถูกทำให้แห้งเป็นของแข็ง โดยการฉีดพ่นสารละลายชาเข้มข้นผ่านอากาศร้อน หรือความเย็น ระเหยน้ำออกไปภายใต้สุญญากาศ เมื่อจะดื่มนำมาชงสามารถละลายน้ำได้ทันที สะดวกต่อการบริโภค การผลิตชาสำเร็จรูปสามารถใช้เครื่องจักรกลในการเก็บเกี่ยวมากขึ้น สามารถขนส่งไปยังประเทศผู้บริโภค ได้สะดวก ช่วยลดต้นทุนการขนส่ง เช่น ชาผงสำเร็จรูปเนสที เป็นต้น

5) ชาถุง (Tea bags)

ชาถุง เป็นใบชาที่บรรจุถุงกระดาษหรือถุงผ้าไหมขนาดเล็ก ข้อดีของชาถุงคือ ง่ายและสะดวกต่อการชง แต่มีข้อด้อยคือ อากาศสามารถผ่านเข้าออกได้ ใบชาแห้งซึ่งสัมผัสกับอากาศจะสูญเสียกลิ่นรสได้ง่ายและรวดเร็ว นอกจากนี้ใบชาที่นำมาบรรจุด้วยวิธีการนี้ส่วนใหญ่จะเป็นชาเกรดต่ำลงมา อย่างไรก็ตาม ผู้ผลิตบางรายก็สร้างความแตกต่างให้กับผลิตภัณฑ์ชาถุงด้วยการบรรจุใบชาเต็มใบชั้นดีลงในถุงชา ทั้งนี้ผู้บริโภคสามารถสังเกตได้จากราคาที่มีความแตกต่างกันค่อนข้างมา

6) ชาพร้อมดื่ม (Ready-to-drink teas)

ชาพร้อมดื่ม เป็นการผลิตน้ำชาบรรจุก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำชาธรรมดา น้ำชาที่เติมกลิ่นและสี เช่น กลิ่นรสมะนาว รสเบอรี่ พีช เป็นต้น บางครั้งเติมน้ำตาลบรรจุในกระป๋องหรือขวด ทำให้สะดวกต่อการบริโภคและการขาย น้ำชาประเภทนี้เป็นที่นิยมของวัยรุ่น โดยเฉพาะประเทศที่มีอากาศร้อน และนิยมดื่มชาเย็น

**สารต้านอนุมูลอิสระ**

**1. ความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ**

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรงยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระเข้าจับ (chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิด เช่น สารประกอบ ฟีนอลิก (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโร- ทีนอยด์ (carotenoid)

บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ ของมนุษย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็น สาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ปัจจุบันองค์กรที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยา ได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ เช่น สาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อราและพืชชั้นสูง อย่างไรก็ตาม ในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือเบตาแคโรทีน (β-carotene) รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น เอนไซม์คะตะเลส (catalase) กลูตาไธโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) และซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือสารประกอบโปรตีนบางอย่าง เช่น อัลบูมิน (albumin), บิลิรูบิน (bilirubin), เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) กลูตาไธโอน (glutathione) ทรานสเฟอริน (transferrin) ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมือใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้น ภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสมในปริมาณมากๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554)

**2. ความสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ**

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) นับว่ามีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันทั้งในระบบของอาหาร (food system) และร่างกายมนุษย์ (human body) ในระบบของอาหารนั้นสารต้านอนุมูลอิสระ (free radical) จะช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหารและลดหรือกำจัดอนุมูลอิสระจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นทุติยภูมิ ซึ่งจะช่วยรักษาคุณภาพของอาหารด้านต่างๆ เช่น กลิ่นรส เนื้อสัมผัส คุณค่าทางโภชนาการและสีของอาหารในระหว่างการแปรรูปและเก็บรักษา นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระยังช่วยลดการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนและอันตรกิริยา (interaction) ระหว่างหมู่คาร์บอนิลของอนุพันธ์ลิพิดกับโปรตีน (Elias *et al*., 2008) สำหรับในร่างกายมนุษย์นั้นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายจะทำหน้าที่ป้องกันความเสียหายของเซลล์ต่างๆ จากการเกิดออกซิชันโดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่างๆ และความแก่ชรา (Fang *et al*., 2002)

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนซึ่งไม่มีคู่อยู่ในวงรอบของอะตอมหรือโมเลกุล ทำให้ไม่เสถียรและสามารถไปจับกับอะตอมหรือโมเลกุลอื่นเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ เช่น อนุมูลไฮดรอกซี (hydroxy radical) อนุมูลซุปเพอร์ออกไซด์ (superoxide) อนุมูลเพอร์ออกซี (peroxy radical) อนุมูลแอลคอกซี (alkoxy radical) และอนุมูลไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide radical) เป็นต้น ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดได้จากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกาย ปัจจัยภายในร่างกาย เช่น การเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกาย การติดเชื้อ และความเครียด ส่วนปัจจัยภายนอกร่างกาย ได้แก่ อาหารที่เกิดการออกซิไดซ์ในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา สารกันบูด ยาฆ่าแมลง แสงยูวี และมลพิษต่างๆ เป็นต้น (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

โดยปกติหากเกิดอนุมูลอิสระในร่างกายหรือร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จากภายนอก ร่างกายจะมีกลไกในการกำจัดอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้ 2 วิธี คือ ใช้เอนไซม์ในร่างกายที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ซุปเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismultase) เอนไซม์กลูต้าไธโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) และเอนไซม์คะตาเลส (catalase) เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ วิตามินอี (tocopherol) เบตา-แคโรทีน (beta-carotene) และวิตามินซี เป็นต้น แต่เนื่องจากกลไกของร่างกายมีข้อจำกัดในการกำจัดอนุมูลอิสระเหล่านี้ให้หมดไปได้ จึงมีความจำเป็นต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งภายนอกโดยเฉพาะอย่างยิ่งจากอาหาร เพื่อให้เพียงพอต่อความจำเป็นของร่างกาย ปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งของที่ควรพิจารณา คือ การหลีกเลี่ยงการรับอนุมูลอิสระจากภายนอกเข้าไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากอาหารที่เราจำเป็นต้องบริโภคทุกวัน ดังนั้นการป้องกันการเกิดออกซิเดชันในอาหารจึงจำเป็นอย่างยิ่ง นอกจากนี้การแสวงหาแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยต่อผู้บริโภคจึงมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารและวิทยาศาสตร์สุขภาพ (Fang *et al*., 2002)

นอกจากนั้นอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบสามารถเสื่อมเสียได้ง่าย โดยกระบวนการเสื่อมเสียนั้นสามารถเกิดขึ้นได้หลายแบบ ไม่ว่าจะเป็นการเกิดปฏิกิริยาจากความร้อนหรือการเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานาน สาเหตุหลักของกระบวนการเสื่อมเสียที่มักเกิดขึ้นในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ คือ กระบวนการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งส่งผลให้คุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ลดลง ดังนั้นการชะลอหรือยืดระยะเวลาการเกิดออกซิเดชันจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ผู้มีส่วนเกี่ยวข้องในห่วงโซ่การผลิตอาหารไปจนถึงผู้บริโภคจะต้องให้ความสำคัญอย่างมาก (Pokorny *et al*., 2008)

สารต้านอนุมูลอิสระมีการนำมาใช้ครั้งแรกตั้งแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 เพื่อใช้เป็นวัตถุกันเสีย แต่ในปัจจุบันได้รับความนิยมและมีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย ด้วยเหตุผลที่สำคัญ 4 ประการคือ (Chhajer, 2006)

1) เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียจากปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา ซึ่งมีการนำมาใช้ทั้งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เช่น บิวทิลเลเทตไฮดรอกซีโทลูอีนหรือบีเอชที (butylated hydroxytoluene; BHT) บิวทิลเลเทตไฮดรอกซีอะนิโซลหรือบีเอชเอ (butylated hydroxyanisole; BHA) โพรพิลแกลเลต (propyl gallate; PG) เทอร์เทียรี บิวทิลไฮโดรควิโนน หรือทีบีเอชคิว(tertiary butylhydroquinone; TBHQ) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น สารพอลิฟีนอล (polyphenol) วิตามินอี ฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds) เป็นต้น

2) ร่างกายมนุษย์สามารถดูดซึมสารต้านอนุมูลอิสระมาใช้ประโยชน์ได้

3) สามารถใช้ประโยชน์จากอนุพันธ์ของสารต้านอนุมูลอิสระได้

4) ใช้ประโยชน์ในด้านการรักษาโรค เช่น ใช้เป็นสารต้านมะเร็ง (anti-cancer) สารต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) เป็นต้น

**3. ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระ**

การเกิดออกซิเดชันในอาหารเป็นปัญหาที่ต้องให้ความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากมีความยุ่งยากในการควบคุมและการจัดการ ทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ มีผลกระทบต่ออายุการเก็บรักษาและลักษณะทางประสาทสัมผัส อีกทั้งทำให้การเกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์จากการสลายตัวของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในระหว่างการเกิดออกซิเดชัน การยับยั้งการเกิดออกซิเดชันสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การป้องกันการสัมผัสกับอากาศ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ การยับยั้งเอนไซม์ที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันการกำจัดออกซิเจนออกจากระบบ การลดระดับความดันของออกซิเจนภายในระบบ การเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม และการกำจัดตัวเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ออกจากระบบ เป็นต้น (Wildman, 2001) นอกจากนั้นยังมีวิธีการที่มีความจำเพาะต่อการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันมากขึ้น โดยการใช้สารยับยั้งการเกิดออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสามารถจำแนกออกได้ตามโครงสร้างและกลไกการต้านการเกิดออกซิเดชันที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2.3) ดังนี้

**ตารางที่ 2.3** กลไกของกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **ชนิดของสารต้าน**  **อนุมูลอิสระ** | **กลไกของกิจกรรม**  **ต้านอนุมูลอิสระ** | **ตัวอย่างสารต้าน**  **อนุมูลอิสระ** |
| สารต้านอนุมูลอิสระทั่วไป | ยับยั้งอนุมูลอิสระ | สารพอลิฟีนอล |
| สารช่วยให้สารประกอบเพอร์ออกไซด์มีความคงตัว | ป้องกันการสลายตัวของสารประกอบเพอร์ออกไซด์  ไปเป็นอนุมูลอิสระ | สารพอลิฟีนอล |
| สารเสริมฤทธิ์ | เสริมกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ | กรดซิตริก  กรดแอสคอร์บิก |
| สารคีเลต | จับกับโลหะกลายเป็นสารประกอบที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยา | กรดฟอสฟอริก กรดซิตริก สารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด  (maillard reaction) |
| สารจับออกซิเจนซิงเกลต | เปลี่ยนจากซิงเกลตออกซิเจน  ไปเป็นทริปเลตออกซิเจน | แคโรทีนอยด์ |
| สารช่วยลดปริมาณสารประกอบไฮโดร-  เพอร์ออกไซด์ | ลดปริมาณสารประกอบ  ไฮโดรเพอร์ออกไซด์ใน  non-radical way | โปรตีน กรดอะมิโน |

**ที่มา:** Pokorny et al., 2008

1) สารต้านอนุมูลอิสระทั่วไป (general antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระจะมีบทบาทสำคัญในการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วกลายเป็นสารประกอบที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยา โดยทั่วไปกลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพอร์ออกซีและแอลคอกซี ที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบเพอร์ออกไซด์ (peroxide)

2) สารช่วยให้สารประกอบเพอร์ออกไซด์มีความคงตัว (peroxide stabilizer)

สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้จะมีบทบาทในการป้องกันหรือยับยั้งการสลายตัวของสารประกอบเพอร์ออกไซด์ไปเป็นอนุมูลอิสระ

3) สารเสริมฤทธิ์ (synergists)

สารเสริมฤทธิ์เป็นสารที่ไม่มีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ แต่มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมให้สารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำงานได้ดีขึ้น ในลักษณะการรวมพลังให้เกิดผลลัพธ์ที่ดีขึ้นกว่าเดิม

4) สารคีเลต (chelating agent)

สารคีเลตหรือสารจับโลหะจะเป็นสารที่ทำหน้าที่ในการจับกับโลหะที่เป็นตัวกระตุ้นให้สารประกอบเพอร์ออกไซด์สลายตัวไปเป็นอนุมูลอิสระ เมื่อสารคีเลตจับกับโลหะเกิดเป็นสารประกอบที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยาและทำให้โลหะไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาต่อได้

5) สารจับออกซิเจนซิงเกลต (singlet oxygen quencher)

สารจับออกซิเจนซิงเกลตหรือสารจับออกซิเจนเดี่ยว มีบทบาทในการเปลี่ยนซิงเกลต ออกซิเจนหรือออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (singlet oxygen) ที่อยู่ในสถานะถูกกระตุ้น (excited state) ไปเป็นทริปเลตออกซิเจนหรือออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว 2 ตัว (triplet oxygen) ที่อยู่ในสถานะพื้น (ground state) ซึ่งมีความเสถียรมากกว่า

นอกจากนั้นยังสามารถจำแนกตามกลไกการเข้าทำปฏิกิริยาในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้ดังนี้

1) สารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิ (primary antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่จับกับอนุมูลอิสระโดยการชะลอหรือยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในขั้นเริ่มต้น (initiation) หรือขัดขวางการเกิดออท๊อกซิเดชันในขั้นต่อเนื่อง (propagation) โดยในขั้นเริ่มต้นของการเกิดออท๊อกซิเดชัน ไฮโดรเจนอะตอมจะหลุดออกจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลายเป็นอนุมูลอิสระดังสมการที่ 1

RH R•+H• ………………………….. [1]

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเพอร์ออกซี (ROO•) ในขั้นต่อเนื่อง ดังสมการที่ 2

R•+O2 ROO• ………………………….. [2]

ในขั้นต่อเนื่องอนุมูลของเพอร์ออกซีจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันตัวอื่นเกิดเป็นสารประกอบไฮโดรเพอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระเกิดขึ้น อนุมูลอิสระของกรดไขมันที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลอิสระและสามารถกระตุ้นกลไกการเกิดออกซิเดชันต่อเนื่องได้อีก ดังสมการที่ 3

ROO•+RH ROOH+ R• ………………………….. [3]

สารประกอบไฮโดรเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะไม่คงตัวและสามารถสลายไปเป็นอนุมูลอิสระที่สามารถเหนี่ยวนำในขั้นต่อเนื่องได้อีก ดังสมการที่ 4 และ 5

ROOH RO•+OH• ………………………….. [4]

RO•+RH ROH+R• ………………………….. [5]

หน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิคือจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระและเปลี่ยนไปเป็นสารที่ไม่มีอนุมูลและมีความคงตัวมากกว่า โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระ ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระจะกลายเป็นอนุมูลอิสระเอง (A•) ที่มีความคงตัวมากกว่าและไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการออกซิเดชันต่อไปได้อีก ดังสมการที่ 6 – 8

ROO•+AH ROOH+A• ………………………….. [6]

RO•+AH ROH+A• ………………………….. [7]

R•+AH RH+A• ………………………….. [8]

อนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะมีความเฉื่อยต่อปฏิกิริยา เนื่องจากอิเล็กตรอนที่ไม่เสถียรของสารต้านอนุมูลอิสระจะเกิดการเรโซแนนซ์ภายในวงแหวนฟีนอลทำให้เกิดโครงสร้างที่มีความคงตัว ส่งผลให้ปฏิกิริยาในขั้นต่อเนื่องถูกยับยั้งหรือเกิดขึ้นได้ช้าลง นอกจากนั้นอนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบเพอร์ออกซี (สมการที่ 9) ออกซี (สมการที่ 10)

และอนุมูลของสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น (สมการที่ 11) เกิดโครงสร้างไดเมอร์และทำให้ปฏิกิริยาสิ้นสุดลง

ROO•+A• ROOA ………………………….. [9]

RO•+A• ROA ………………………….. [10]

A•+A• AA …………………………... [11]

สารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิแบบสังเคราะห์ที่มีการนิยมใช้ได้แก่ บีเอชเอ บีเอชที โพรพิลแกลเลต และทีบีเอชคิว อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีการนำสารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิจากธรรมชาติมาใช้ในอาหารมากขึ้น เช่น วิตามินอี โทโคฟีรอล และแคโรทีนอยด์ เป็นต้น

2) สารต้านอนุมูลอิสระขั้นทุติยภูมิ (secondary antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระขั้นทุติยภูมิเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอัตราการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันค่อนข้างช้าและกลไกในการยับยั้งหลายขั้นตอน แต่ไม่สามารถเปลี่ยนอนุมูลอิสระให้กลับไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรสูงกว่าได้ บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระขั้นทุติยภูมิมีหลายอย่างด้วยกัน เช่น สามารถจับกับโลหะ ให้อิเล็กตรอนกับสารต้านอนุมูลอิสระขั้นปฐมภูมิ ทำหน้าที่เป็นสารเสริมฤทธิ์ การสลายสารประกอบไฮโดรเพอร์ออกไซด์ไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียรและยับยั้งซิงเกลตออกซิเจน เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดซิตริก (citric acid) กรดแอสคอร์บิก แอสคอร์บิลปาล์มิเตต (ascorbyl palmitate) เลซิทิน (lecithin) กรดทาร์ทาริก(tartaric acid) และแคโรทีนอยด์ เป็นต้น กลไกการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระขั้นทุติยภูมิ (Akoh and Min, 2008) แสดงดังภาพที่ 2.3

 **ภาพที่ 2.3** กลไกการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระขั้นทุติยภูมิ

**ที่มา:** Akoh and Min (2008)

**4. แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ**

ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ได้มาจากพืชผัก เครื่องเทศ องุ่น และสมุนไพรได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากกระแสเรื่องความปลอดภัยของสารสกัดจากธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิดได้แก่

1) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกสังเคราะห์ 5 ชนิด ได้แก่ propyl gallate, BHA (2-butylated hydroxyanisole), BHA (3-butylate hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene) และ TBHQ (tertiarybutyl hydro-quinone) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิ-เดชันของไขมันอันเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และ รสชาติที่เปลี่ยนไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มี ประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติ แต่มีข้อจากัดของการใช้เนื่องจากปัญหา ด้านความปลอดภัยในการบริโภค

2) สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจาก ความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภค มากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืชซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบตา-แคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชั่น (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูล H• แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น นอกจากนี้สารประกอบพอลิฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล OH• ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชัน คือ Fe2+ และ Cu2+ เป็นตัวเหนี่ยวนาได้โดยการเข้าจับกับโลหะดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) (เจนจิรา จิรมย์ และ ประสงค์ สีหานาม, 2554)

**5. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร**

สารต้านอนุมูลอิสระมีการนำมาใช้ประโยชน์ในอาหารหลายชนิด ซึ่งความสามารถหรือกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ องค์ประกอบของอาหาร และปริมาณออกซิเจนภายในอาหาร โดยทั่วไปแล้วการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างอาหารประเภทต่างๆ สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณสารชนิดใดชนิดหนึ่งหรือกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งที่พบว่ามีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์ วิตามินเอ วิตามินซี หรือสารประกอบฟีนอล (Zulueta *et al*., 2007) แต่ในความเป็นจริงสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารหนึ่งๆ มักจะประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระหลายๆ ชนิดรวมกันอยู่ การวัดและแยกวิเคราะห์สารแต่ละชนิดจึงเป็นการยาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีสารผสมกันหลายชนิดในอาหารหรือเครื่องดื่ม ดังนั้นการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งการประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จึงอาจทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์และค่าใช้จ่าย เช่นในกรณีที่ต้องการทราบปริมาณหรือความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมอาจทำได้ไม่ยากโดยใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ แต่หากต้องการทราบชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่จำเพาะเจาะจง จำเป็นต้องใช้เทคนิคขั้งสูง เช่น เทคนิคโครมาโทรกราฟีหรืออิเลคโทรโฟรีซีส เป็นต้น ในที่นี้จะกล่าวถึงการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณ หรือชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้

5.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

เนื่องจากตัวอย่างอาหารแต่ละชนิดมีลักษณะเฉพาะตัว ดังนั้นก่อนการวิเคราะห์จำเป็นต้องทำการสกัดตัวอย่างเพื่อให้มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ ซึ่งต้องคำนึงถึงสิ่งต่างๆ ดังนี้

5.1.1 ชนิดของตัวอย่างหรืออาหารที่จะทำการวิเคราะห์

5.1.2 ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

5.1.3 องค์ประกอบของอาหาร

สำหรับการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในพืช นิยมบดให้ละเอียดและทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอลหรือเมทานอล เนื่องจากแอลกอฮอล์จะเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบพวกพอลิฟีนอล สามารถป้องกันการหดตัวของเซลล์ที่สกัดและสามารถกำจัดตัวทำละลายออกได้ง่าย สำหรับในพืชที่ผ่านกระบวนการทำแห้งมาก่อนแล้วจะต้องมีการทำให้ตัวอย่างดูดน้ำกลับก่อนการนำไปสกัด อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่สามารถละลายได้ในแอลกอฮอล์ เช่น ผลิตภัณฑ์ที่มีมอลโตเดกทรินเป็นองค์ประกอบและผ่านการทำแห้งด้วยวิธีพ่นฝอยผ่านลมร้อนจะทำให้สกัดได้ยาก ดังนั้นจึงต้องมีการปั่นผสมอาหารผงนั้นให้เปียกทั้งหมดก่อนการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ (Pokorny *et al*., 2008)

5.2 การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การประเมินกิจกรรมหรือฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นการวัดค่าการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน สามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์ปฏิกิริยาการถ่ายโอนไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen atom transfer; HAT) และการวิเคราะห์ปฏิกิริยาการถ่ายโอนอิเล็กตรอน (electron transfer; ET reaction) (Huang *et al*., 2005; โอภา วัชระคุปต์, 2549)

5.2.1 การวิเคราะห์ปฏิกิริยาการถ่ายโอนไฮโดรเจนอะตอม

การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้จะอาศัยหลักการถ่ายโอนไฮโดรเจนอะตอม ได้แก่ วิธี ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) และวิธี TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter) การวิเคราะห์วิธีนี้จะเป็นการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 12

X • + AH XH + A ………………………… [12]

เมื่อ X • = อนุมูลอิสระ

AH = สารต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดการถ่ายโอนไฮโดรเจนอะตอม สามารถทำได้โดยการวัดการเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นเมื่อเกิดการออกซิเดชัน แต่เมื่อระบบมีสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระ ทำให้ความเข้มของสารฟลูออเรสเซนซ์ลดลงและความเร็วของปฏิกิริยาในการเกิดสารฟลูออเรสเซนซ์ ช้าลงตามไปด้วย โดยสารที่ใช้เป็นสารอนุมูลตั้งต้นในการวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ คือสารกลุ่มเอโซ (azo compound) ได้แก่ 2,2’-อะโซบิส (2-อะมิดิโนโพรเพน) ไดไฮโดรคลอไรด์ หรือเอเอพีเอช (2,2’-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride ; AAPH) ซึ่งเอเอพีเอชจะได้รับพลังงานความร้อนสร้างอนุมูลเพอร์ออกซิลขึ้นมา เมื่อมีสารต้านอนุมูลอิสระจะเกิดการแข่งขันกันทำปฏิกิริยากับอนุมูลเพอร์ออกซิลอย่างรวดเร็ว ทำให้การเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนซ์ค่อยๆ ลดลง กลไกการแข่งขันในการทำปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระ แสดงดังสมการที่ 13-15

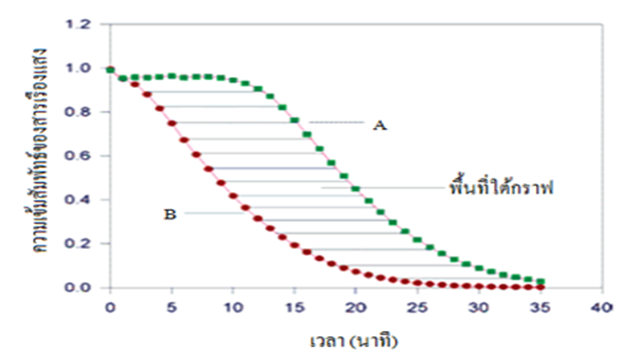
ROO• + AH ROOH + A• …………………………… [13]

A• + ROO ROOA …………………………… [14]

A•  + ROO • ROOA …………………………… [15]

5.2.1.1 การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC

การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการยับยั้งอนุมูลพอร์ออกซีไม่ให้ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไป ดังนั้นเมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปจะขจัดอนุมูลเพอร์ออกซีโดยการให้ไฮโดรเจนอะตอม ปัจจุบันนิยมใช้ฟลูออเรสซีนหรือไดคลอโรฟลูออเรสซีน (H2DCF-dA) ซึ่งมีความเสถียรและไม่ไวต่อปฏิกิริยาจนเกินไป การวิเคราะห์ใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาประมาณ 30 นาที แล้วสามารถวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลเพอร์ออกซีโดยการคำนวณพื้นที่ใต้กราฟ (area under curve ; AUC) ของการลดลงของสารเรืองแสง โดยอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้การลดลงของสารเรืองแสงเกิดได้ช้ากว่าอาหารที่ไม่มีสารต้านอนุมูลอิสระ ดังภาพที่ 2.4 (Prior *et al*., 2005)



**ภาพที่ 2.4** การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี ORAC คำนวณจากพื้นที่

ภายใต้กราฟของการลดลงของความเข้มสัมพัทธ์ของสารเรืองแสง เมื่อ A คือ ค่าการ

ดูดกลืนแสงของตัวอย่าง และ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ (blank)

5.2.1.2 การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TRAP

การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TRAP เกิดจากไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ไปกระตุ้นเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) ให้เกิดเป็นอนุมูลเฟอร์ริล ไมโอโกลบิน ซึ่งอนุมูลเฟอร์ริลไมโอโกลบินที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับกรด 2,2’-อะซิโนบิส(3-เอทิลเบนโซไทอะโซลี-6-ซัลโฟนิก (2,2’-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-suslfonic acid ; ABTS) เกิดเป็นอนุมูล ABTS•+ ที่มีสี ดังนั้นเมื่อเติมสารหรือตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ลงไปในการทดสอบ สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจะยับยั้งปฏิกิริยาทำให้สีจางลง ถ้าสารหรือตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง ก็จะทำให้อนุมูล ABTS•+ ลดลง โดยทั่วไปจะมีการรายงานเป็นค่า EC50 คือ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล ABTS•+ เหลืออยู่ร้อยละ 50 หรือ ค่า IC50 คือ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้อนุมูล ABTS•+ ลดลงร้อยละ 50 การคำนวณหาค่า IC50 ทำได้โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูล ABTS•+ (% inhibition ABTS•+) กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง แล้วคำนวณตามสมการที่ 16 เพื่อหาค่า IC50 (Ghiselli *et al*., 1995)

%inhibition ATBS• + = ………................. [16]

5.2.2 การวิเคราะห์ปฏิกิริยาการถ่ายโอนอิเล็กตรอน

การวิเคราะห์ปฏิกิริยาการถ่ายโอนอิเล็กตรอน วิธีการนี้เป็นการหาความสามารถในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนไปยังสารรีดิวซ์อื่น เช่น อนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 17 ปฏิกิริยานี้จะมีการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน โดยการเปลี่ยนสีมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ กล่าวคือ ถ้าสารต้านอนุมูลอิสระมีความเข้มข้นมาก สีของสารละลายก็จะลดลงอย่างรวดเร็ว วิธีการวิเคราะห์ปฏิกิริยาการถ่ายโอนอิเล็กตรอนเดี่ยวที่นิยมใช้ ได้แก่ TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), FRAP (ferric ion reducing antioxidant power), DPPH (2,2diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay) และ FCR (total phenols assay by Folin-Ciocaulteu reagent assay)

……………………………….. [17]

5.2.2.1 การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC

วิธี TEAC เป็นการวัดความสามารถในการขจัดอนุมูลสังเคราะห์ ABTS•+ ที่มีความคงตัว โดย ABTS จะถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลเพอร์ออกซีเกิดเป็นอนุมูลที่มีประจุบวก ABTS•+ ที่มีสี ดังนั้นเมื่อเติมสารหรือตัวอย่างที่มีสารต้านอนุมูลอิสระลงไปจะทำปฏิกิริยากับอนุมูล ABTS•+ และเกิดเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี ดังแสดงในภาพที่ 2.5 ผลการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สมมูลกับสารต้านอนุมูลมาตรฐานโทรล็อก (Miller *et al*., 1993)



λmax 734 nm

**ภาพที่ 2.5** กลไกของสารต้านอนุมูลอิสระในการทำปฏิกิริยากับอนุมูล ABTS•+

ข้อดีของการวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC คือ อนุมูล ABTS•+ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระภายในเวลา 30 นาที อนุมูล ABTS•+ สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ทำให้สามารถใช้ในการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารได้หลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นชนิดที่ละลายในน้ำหรือสารที่ละลายในไขมัน ส่วนข้อเสียของวิธี TEAC คือ ABTS•+ ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือในร่างกายเช่นเดียวกับ Fe3+-TPTZ (ferric tripyridyl triazine) (โอภา วัชระคุปต์, 2549)

5.2.2.2 การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มีหลักการว่าสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ทำหน้าที่โดยการให้อิเล็กตรอนจึงจัดเป็นสารรีดิวซ์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าเป็นการวัดความสามารถรวมในการรีดิวซ์ วิธีการนี้ใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe3+-TPTZ เป็นสารทดสอบ กล่าวคือ เมื่อสารประกอบเชิงซ้อน Fe3+-TPTZ ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระแล้วจะเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์รัส Fe2+-TPTZ (ferrous tripyridyl triazine) ที่มีสีน้ำเงิน ดังภาพที่ 2.6 ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (Benzie and Strain, 1996)

ข้อดีของวิธีนี้ก็คือ เสียค่าใช้จ่ายน้อย สะดวก รวดเร็ว มีขั้นตอนในการทดลองไม่ยุ่งยากซับซ้อนและมีความสามารถในการประเมินซ้ำ (reproducibility) สูง

 Fe3+-TPTZ + Reducing antioxidant Fe2+-TPTZ

**ภาพที่ 2.6** กลไกของสารต้านอนุมูลอิสระในการทำปฏิกิริยากับสารประกอบเชิงซ้อน Fe3+-TPTZ

5.2.2.3 การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นการทดสอบกิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ 2,2-ไดฟีนิล-1-พิคริลไฮดรซิล (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl ; DPPH) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรและมีสีม่วง เมื่อ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนเป็น DPPH-H ซึ่งไม่มีสี ดังภาพที่ 2.7 และสมการที่ 18 และ 19 โดยสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Miller *et al*., 1993)



DPPH (Violet) DPPH-H (Color less)

**ภาพที่ 2.7** กลไกของสารต้านอนุมูลอิสระในการทำปฏิกิริยากับ DPPH

DPPH + AH DPPH – H + A ………………. [18]

DPPH + R DPPH – R ………………..[19]

ถ้าตัวอย่างหรืออาหารมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูง สีของสารละลาย DPPH (สีม่วง) ก็จะลดลง ซึ่งจะรายงานผลการทดลองเป็นค่า EC50 ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH• เหลืออยู่ร้อยละ50 โดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละอนุมูล DPPH• ที่เหลืออยู่ (% Remaining DPPH•) กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานหรือสารตัวอย่าง เพื่อหาค่า EC50 โดยคำนวณ % Remaining DPPH• ตามสมการที่ 20



…………………......... [20]

นอกจากนี้ยังมีการรายงานในรูปของค่า IC50 หมายถึง ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้อนุมูล DPPH• ลดลงร้อยละ 50 ด้วย ซึ่งทำโดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH• (% Inhibition DPPH•) กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานหรือสารตัวอย่าง เพื่อหาค่า IC50 โดยคำนวณ % Inhibition DPPH• ตามสมการที่ 21

 …………………… [21]

การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีข้อดีคือ เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและมีความสามารถในการประเมินซ้ำสูง แต่มีข้อเสียคือ ไม่สามารถใช้วิธีนี้วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของอาหารที่มีโปรตีนสูงได้ เพราะต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งทำให้โปรตีนตกตะกอนได้

5.2.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระประเภทสารประกอบพอลิฟีนอล

โดยรวมด้วยวิธี Folin – Ciocalteu และ Folin – Denis

การวิเคราะห์กิจกรรมหรือฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Folin – Ciocalteu และ Folin – Denis เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมดในพืชผักผลไม้และเครื่องดื่มชนิดต่างๆ แต่มีความแตกต่างกันของสารเคมีที่ใช้บางตัว โดยทั้งสองวิธีนี้จะอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ในการทำให้เกิดปฏิกิริยา โดยสารเคมีของวิธี Folin-Denis ประกอบด้วยโซเดียมทังสเตน (sodium tungstate) กรดฟอสโฟโมลิบดิก (phosphomolybdic acid) กรดออโทฟอสฟอริก(orthophosphoric acid) และโซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbonate) ส่วนสารเคมีที่ใช้สำหรับวิธี Folin-Ciocalteu ประกอบด้วยโซเดียมทังสเตน โซเดียมโมลิบเดต (sodium molybdate) กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) และโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) การวิเคราะห์โดยวิธีนี้สามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงสีจากปฏิกิริยาของไอออน Mo(VI) ซึ่งมีสีเหลือง เมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระแล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ Mo(V) ซึ่งมีสีน้ำเงิน ดังสมการที่ 22 และ 23 (Zhou and Yu, 2006)

Na2 WO4 / Na2 MoO4 (phenol - MoW11 O40) 4- .......................... [22]

Mo (VI) (yellow) + e- Mo(V) (blue) .......................... [23]

การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระประเภทสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และ Folin-Denis สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 และ 750 นาโนเมตร ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมดในสารตัวอย่างจะรายงานเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่เป็นกรดฟีนอลิกที่พบมากในตัวอย่างชนิดนั้นๆ เช่น ในเมล็ดกาแฟ จะนิยมเทียบกับกรดคาเฟอิก เนื่องในเมล็ดกาแฟจะมีกรดคาเฟอิกในปริมาณมาก แต่โดยทั่วไปจะนิยมนิยมใช้การเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกเนื่องจากมักจะพบในตัวอย่างพืชทั่วไป หรือขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง ถ้าเราทราบว่าตัวอย่างมีสารชนิดใดมากก็ให้เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานชนิดนั้น

ในบางกรณีอาจมีการประเมินกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของตัวอย่างพืชหรืออาหารโดยใช้วิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกันมากกว่าหนึ่งวิธี เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีหรือโครงสร้างแตกต่างกันไป ทำให้มีความจำเพาะในการตอบสนองต่อปฏิกิริยาที่ใช้ในการทดสอบต่างกัน เช่น กรดคาเฟอิก มีค่าการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชค่อนข้างสูงแต่มีค่าการต้านอนุมูลเอบีทีเอสต่ำ ในทางตรงกันข้ามกรดพาราคูมาริกมีค่าการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชต่ำมาก แต่มีค่าการต้านอนุมูลเอบีทีเอสค่อนข้างสูง เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 2.4

**ตารางที่ 2.4** กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์ประเมินโดย

ใช้วิธี DPPH• และ ABTS•+

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **ชนิดของสาร** | **DPPH•**  **(ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ)** | **ลำดับกิจกรรม** | **ABTS•+**  **(TEAC)** | **ลำดับกิจกรรม** |
| กลุ่มกรดไฮดรอกซีซินนามิก  - กรดโรสแมรินิก  - กรดคาเฟอิก  - กรดคลอโรจีนิก  - กรดไซแนปิก  - กรดเฟอรูลิก  - กรดพาราคูมาริก | 88.4  76.6  52.0  56.1  30.9  3.6 | 1  2  4  3  5  6 | 2.13  1.01  0.95  1.27  1.32  2.00 | 1  5  6  4  3  2 |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
| **ชนิดของสาร**  **ตารางที่ 2.4** (ต่อ) | **DPPH•**  **(ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ)** | **ลำดับกิจกรรม** | **ABTS•+**  **(TEAC)** | **ลำดับกิจกรรม** |
| สารฟีนอลอย่างง่าย  - คาทิชอล  - รีซอซินอล  - ไฮโดรควิโนน | 65.1  2.7  48.6 | 1  3  2 | 0.97  1.14  0.68 | 2  1  3 |
| กลุ่มกรดเบนโซอิก  - กรดแกลิก  - กรดโพรโทคาเทชูอิก  - กรดรีซอสิลิก | 96.3  68.7  2.9 | 1  2  3 | 2.18  0.84  0.63 | 1  2  3 |
| สารฟลาโวนอยด์  - เควอซิทิน  - มอริน | 68.2  43.2 | 1  2 | 1.85  1.20 | 1  2 |

**ที่มา :** Nenadis and Tsimidou (2010)

นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Kubola and Siriamornpun (2008) ยังพบว่าปริมาณสาร พอลิฟีนอลทั้งหมด อาจมีความสัมพันธ์กับวิธีการวิเคราะห์แตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหรือชนิดของสารพอลิฟีนอลแต่ละชนิดที่พบในอาหาร ตัวอย่างการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพอลิฟีนอลทั้งหมดกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบโดยวิธีต่างๆ

**6. เทคนิคในการวิเคราะห์ปริมาณหรือชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร**

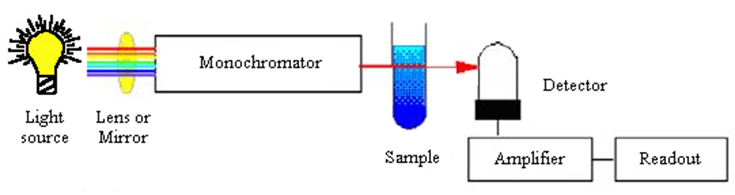
สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในอาหารทั่วไป โดยเฉพาะผัก ผลไม้และสมุนไพร ซึ่งเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น สารประกอบพอลิฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ วิตามินอี และวิตามินซี เป็นต้น ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณหรือชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารเพื่อใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการเลือกบริโภคอาหารที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระสูง จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ในที่นี้จะขอกล่าวถึงเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณหรือชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ดังนี้

6.1 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตริก (Spectrophotometric method)

สเปกโทรสโคปีเป็นศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับการวัดการดูดกลืน (absorption) หรือการคาย (emission) รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) ของสาร โดยเฉพาะสารส่วนใหญ่สามารถดูดกลืนคลื่นในช่วงอัลตร้าไวโอเลตและช่วงแสงที่มองเห็นได้ (visible) จากสมบัตินี้จึงนำมาใช้เป็นเทคนิควิเคราะห์ที่เรียกว่า ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี (UV-Visible spectroscopy) หลักการทำงานแสดงดังภาพที่ 2.8

การดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและช่วงแสงที่มองเห็นได้ ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณอย่างกว้างขวาง เพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำและความไวสูง โดยอาจทำการวิเคราะห์อยู่ในรูปของธาตุหรือโมเลกุลก็ได้ แต่การที่จะพิสูจน์ว่าสารตัวอย่างเป็นสารชนิดใด มีโครงสร้างอย่างไร จำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นเข้าช่วยเพื่อให้เกิดความถูกต้องแม่นยำ (Ghiselli *et al*., 1996; Prio *et al*., 2005; Huang *et al*., 2005)

เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีนิยมใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด โดยทั่วไปนิยมใช้วิธี Folin-Ciocalteau assay วิธีการนี้นิยมรายงานเป็นปริมาณสารประกอบพอลิ ฟีนอลทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิก และไม่สามารถจำแนกโครงสร้างและปริมาณขององค์ประกอบได้ วิธีนี้จะเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ไม่มีความจำเพาะและมีสารรบกวนหลายชนิด ดังนั้นจะต้องมีการกำจัดออกก่อนการวิเคราะห์



**ภาพที่ 2.8** การทำงานของเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี

6.2 เทคนิคโครมาโทกราฟ (Chromatographic method)

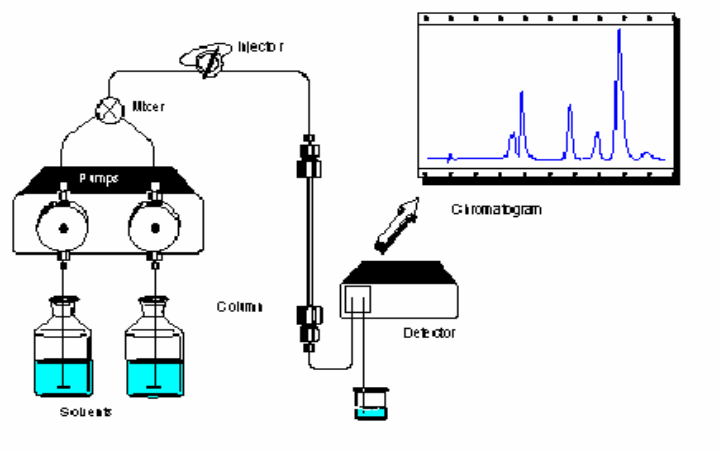
เทคนิคโครมาโตกราฟอาศัยสมบัติ 2 ประการคือ สารต่างชนิดกันมีความสามารถใน

การละลายในตัวทำละลายได้ต่างกัน และสารต่างชนิดกันมีความสามารถในการถูกดูดซับด้วยตัวดูดซับได้ต่างกัน ทำให้สารเคลื่อนที่ได้ไม่เท่ากัน (Ghiselli *et al*., 1996; Prio *et al*., 2005; Huang *et al*., 2005)

โครมาโทรกราฟีเป็นการแยกสารผสมโดยอาศัยเฟสที่แตกต่างกัน 2 เฟส คือ เฟสนิ่ง (stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยที่สารในเฟสนิ่งจะทำหน้าที่ดูดซับ (adsorb) สารผสม ส่วนเฟสเคลื่อนที่จะทำหน้าที่ชะ (elute) เอาสารผสมออกจากเฟสนิ่งให้เคลื่อนที่ไปด้วย ดังภาพที่ 2.9 สารจะเคลื่อนที่ได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับแรงดึงดูดระหว่างสารในสารผสมกับตัวดูดซับในเฟสนิ่ง สารที่นิยมใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เบนซีน เป็นต้น

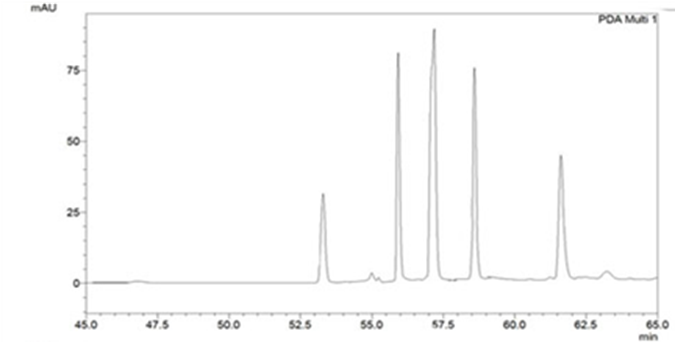
ปัจจุบันนิยมใช้เทคนิคโครมาโทกราฟ เช่น โครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) แก๊สโครมาโทรกราฟี (GC) ไอออนโครมาโทรกราฟี (ion chromatography ; IC) โครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง อิเล็กโทรสเปร แมสสเปกโทรเมตรี (high performance liquid chromatography electrospray mass spectrometry ; HPLC–MS) และแก๊สโครมาโทรกราฟีแมสสเปกโทรเมตรี (gas chromatography –mass spectrometry; GC–MS) ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีความจำเพาะในการจำแนกชนิดและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี ดังนั้นเทคนิคโครมาโทกราฟจึงเป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบไปพร้อมกันได้ (Xiu-Qin *et al.,* 2009) ดังแสดงในโครมาโตแกรมในภาพที่ 2.10

Boyce (1999) ได้รายงานถึงการประยุกต์ใช้แคปปิลารีโครมาโทรกราฟี (capillary chromatography) ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร ซึ่งปัจจุบันได้มีการให้ความสนใจกับการประยุกต์ใช้ HPLC–MS ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารมากขึ้น โดยมีความพยายามที่จะใช้เทคนิคดังกล่าวในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระหลายๆ ชนิดในครั้งเดียวกัน เพื่อลดค่าใช้จ่ายและเวลาในการวิเคราะห์ลง



**ภาพที่ 2.9** องค์ประกอบและการทำงานของ HPLC

ข้อจำกัดของการใช้ HPLC ในการวิเคราะห์สารประกอบพอลิฟีนอล คือ วิธีนี้จะจำเพาะกับสารประกอบพอลิฟีนอลที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เนื่องจากมีข้อจำกัดของสารมาตรฐานที่มีในท้องตลาด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยการวิเคราะห์ร่วมกับเทคนิคคัลเลอร์รี่เมทริก เช่น วิธี Folin-Ciocalteau เพื่อวัดปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมด (Schofield *et al.,* 2001)



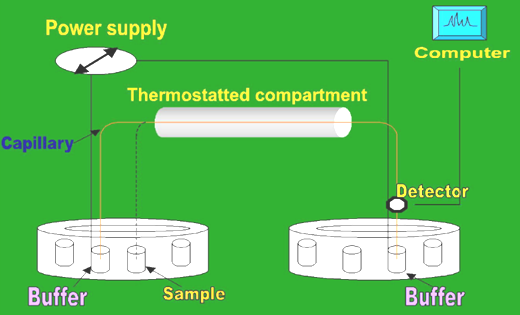
**ภาพที่ 2.10** โครมาโตแกรมของสารประกอบฟลาโวนอยด์จากเครื่อง HPLC; (1) rutin, (2)

myricetin, (3) quercetin, (4) apigenin and (5) kaempferol

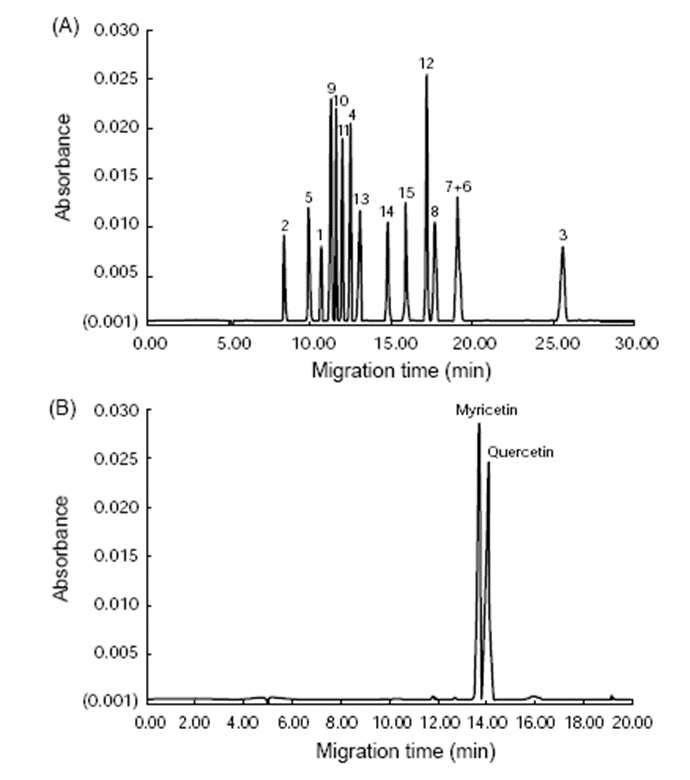
6.3 เทคนิคอื่นๆ

ปัจจุบันมีการนำเทคนิคอื่นๆ มาประยุกต์ใช้ร่วมกันในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากขึ้นเพื่อลดข้อจำกัดและเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์มากขึ้น เช่น เทคนิคแคปปิ ลารีอิเล็กโทรโฟเรซีส (capillary electrophoresis ; CE) แคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส เป็นเทคนิค อิเล็กโทรโฟรีซิสค่อนข้างใหม่และทันสมัยที่มีความสำคัญในการวิเคราะห์แยกสาร โดยอาศัยหลักการการเคลื่อนที่ของอนุภาคที่มีประจุไฟฟ้า ภายใต้สนามไฟฟ้า สารแต่ละชนิดมีความสามารถในการเคลื่อนที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับขนาดและจำนวนประจุของสาร ดังนั้นสารจึงสามารถแยกออกจากกันได้ โดยทั่วไปนิยมใช้เทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสในการแยกโมเลกุล เช่น โปรตีน เปปไทด์ และกรดนิวคลีอิก ปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ ได้แก่ ความต่างศักย์ไฟฟ้าและกระแสไฟฟ้า พีเอช (pH) ของบัฟเฟอร์ คอลัมน์แคปิลลารีและปริมาณสารตัวอย่าง เป็นต้น

เทคนิคแคปปิลารี อิเล็กโทรโฟเรซีสใช้หลักการเดียวกับเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสแต่การแยกของสารเกิดบนคอลัมน์ขนาดเล็กแทนที่จะเกิดบนเจล เทคนิคแคปิลารีอิเล็กโทรโฟรีซิสเป็นเทคนิค อิเล็กโทรโฟรีซิสที่ทันสมัย สามารถทำงานได้โดยอัตโนมัติและมีการประมวลผลได้อย่างรวดเร็วด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป สะดวก รวดเร็ว และประหยัด สามารถตรวจหาสารได้เกือบทุกชนิด เช่น กรดอะ-มิโน โปรตีน กรดนิวคลีอิก ไอออนของสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ โดยใช้ตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยประมาณ 5-10 นาโนลิตร หรือความเข้มข้นเพียง 10-8 โมล ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสารตัวอย่างจะเคลื่อนที่ไปในหลอดแคปิลลารี (capillary tube) ที่มีขนาดเล็กมาก เส้นผ่านศูนย์กลาง 20-150 ไมโครเมตร ภายใต้สนามไฟฟ้าภายในหลอดบรรจุตัวกลางค้ำจุนซึ่งสามารถจะเลือกใช้ให้เหมาะสมกับคุณสมบัติของสารที่ต้องการแยก (ภาพที่ 2.11-2.12) ปลายด้านหนึ่งของหลอดจุ่มในบัฟเฟอร์ที่ต่อกับขั้วไฟฟ้าบวกอีกปลายด้านหนึ่งต่อกับขั้วไฟฟ้าลบ ที่ปลายท่อด้านขั้วลบต่อกับเครื่องตรวจวัดปริมาณสาร (detector) สารที่แยกแล้วจะผ่านเข้า เครื่องตรวจวัดปริมาณสารตามลำดับการแยก แล้วส่งผลจากเครื่องตรวจวัดเข้าเครื่องคอมพิวเตอร์วิเคราะห์และรายงานผลเป็นกราฟ ข้อดีของเทคนิคแคปิล ลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส คือ ภายใต้สนามไฟฟ้าจะเกิดการเคลื่อนที่ของสารละลายที่บรรจุในหลอดแก้วจากขั้วบวกไปยังขั้วลบ เรียกว่า การไหลอิเล็กโทรออสโมติก (electro-osmotic flow) แรงเคลื่อนนี้เป็นตัวพาอนุภาคหรือสารต่างๆ ที่แยกในระบบไปยังเครื่องตรวจวัดสัญญาณที่อยู่ขั้วลบ ดังนั้นสารทุกตัวไม่ว่าจะมีประจุหรือไม่ก็จะเคลื่อนจากจุดตั้งต้น (ขั้วบวก) ไปยังขั้วลบ

  
**ภาพที่ 2.11** องค์ประกอบและการทำงานของแคปปิลารี อิเล็กโทรโฟเรซีส

Lee and Ong (2000) ได้ทำการเปรียบเทียบการใช้ HPLC และ CE ในการวิเคราะห์ปริมาณคาเทชินและสารประกอบฟีนอลิก พบว่าทั้งสองวิธีมีความน่าเชื่อถือใกล้เคียงกัน โดย CE จะใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าถึง 3 เท่า แต่จะมีความไวน้อยกว่า HPLC ถึง 5 เท่า



**ภาพที่ 2.12** อิเลคโทรฟีโรแกรมของฟลาโวนอยด์มาตรฐาน 1, rutin; 2, naringin; 3, morin; 4, naringenin; 5, chrysin; 6, quercetin; 7, myricetin; 8, kaempferol; 9, hesperetin; 10, daidzein; 11, genistein; 12, apigenin; 13, quercitrin; 14, luteolin; 15, galangin และฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบในรังผึ้ง

**ที่มา :** Fu *et al.* (2005)­­­­

การวิเคราะห์สารฟลาโวนอยด์จากรังผึ้งโดยใช้เทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยทำการศึกษาสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 15 ชนิด ที่เป็นมาตรฐานและได้ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ดังนี้ อุณหภูมิในการวิเคราะห์ที่ 25 องศาเซลเซียส และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างมาตรฐานแสดงดังภาพที่ 2.12(A) และในภาพที่ 2.12(B) เป็นการวิเคราะห์ไมริเซทิน (myricetin) และเคอร์ซิทิน (quercetin) โดยใช้ MECC ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดสามารถมีแยกออกจากกันได้ ดังภาพที่ 2.12

Wang and Huang (2005) ได้ใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส ในการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในไวน์องุ่น เช่น เอพิจินนิน (apigenin) ไบคาเลียน (baicalein) นารินจินนิน (naringenin) ลูทิโอลิน (luteolin) เฮสเพริทิน (hesperetin) กาเลนจิน (galangin) แคมเฟอร์รอล (kaempferol) เคอร์ซิทิน (quercetin) และไมริซิทิน (myricetine) ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และเทคนิคแคปิลลารีโซมอิเล็กโทรโฟรีซิส

การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของชาโดยใช้เทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส โดยการวิเคราะห์สารสำคัญในชา ได้แก่ theanine, caffeine, ascorbic acid, (2)-epicatechin, (2)-epigallocatechin, (2)-epicatechin gallate และ(2)-epigallocatechin gallate โดยทำการศึกษาในชา 3 ชนิดได้แก่ ชาเขียว ชาอูหลง และชาดำ ซึ่งพบว่าเทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารที่ต้องการได้ และมีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ มีความสะดวกในเรื่องของเวลา และแรงงาน ผลจากการวิเคราะห์เทคนิคนี้พบว่ามีความสำคัญ สามารถใช้ในการประเมินคุณภาพของชา (โดยเฉพาะอย่างยิ่งชาเขียว) และลักษณะเฉพาะของใบชาสด

**7. บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระต่อสุขภาพ**

ร่างกายมนุษย์สามารถเกิดอนุมูลอิสระได้จากปัจจัยทั้งภายในร่างกาย เช่น การเผาผลาญของร่างกาย การออกกำลังกาย และความเครียด และปัจจัยภายนอกร่างกาย เช่น การอักเสบ การติดเชื้อ รังสีอัลตร้าไวโอเลตและแสงแดด เป็นต้น ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นสารไม่เสถียร มีพลังงานสูง เป็นผลทำให้เกิดการทำงานของเซลล์ผิดปกติ ร่างกายจึงเกิดโรคและพยาธิสภาพต่างๆ อาทิ เกิดการอักเสบ ผนังหลอดเลือดแข็งตัว การทำลายเนื้อเยื่อ เกิดความชราและความเสื่อมของเซลล์ เป็นต้น

ร่างกายจำเป็นต้องมีระบบต้านอนุมูลอิสระเพื่อรักษาและป้องกันตนเอง เพื่อให้โครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์ภายในร่างกายทำงานได้อย่างปกติ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถป้องกันไม่ให้เกิดโรคที่เกิดจากความเสียหายของเซลล์ที่เกิดจากกระบวนการทางร่างกายตามธรรมชาติและจากการสัมผัสกับสารเคมีบางชนิด หลักฐานทางระบาดวิทยายังคงความรู้พื้นฐานว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยป้องกันหรือมีผลต่อการพัฒนากลไกของโรค นอกจากนี้ยังพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระอาจมีบทบาทในการควบคุมโรคเบาหวานประเภทที่2 (Czernichow *et al*., 2009; Hennekens *et al.,* 1996) ได้ด้วย สารต้านอนุมูลอิสระเป็นเป้าหมายหลักในการโจมตีของอนุมูลอิสระ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจำเป็นต้องมีการสร้างขึ้นมาทดแทนหรือต้องได้รับจากอาหาร ในที่นี้จะกล่าวถึงภาพรวมทั่วไปของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญต่อสุขภาพ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการบริโภคต่อไป

7.1 บทบาทต่อการต้านอนุมูลอิสระและภาวะเครียด

โดยทั่วไปสิ่งมีชีวิตจะมีกระบวนการรักษาสมดุลระหว่างการสร้างและทำรายอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้น เช่น อนุมูลอิสระกลุ่มไนโตรเจน (reactive nitrogen species; RNS) และอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน (reactive nitrogen species) เป็นต้น เมื่อร่างกายอยู่ในสภาวะเครียดจะมีการสร้างอนุมูลอิสระเกิดขึ้น โดยไมโตคอนเดรียจะเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ (O2•-) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H2O2) และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (HO•) ภายใต้สภาวะปกติของการกำจัดอนุมูลอิสระจะถูกควบคุมโดยเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสและคะตาเลส แต่ในกรณีที่อยู่ในสภาวะเครียดเป็นระยะเวลานานอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถออกซิไดซ์กรดไขมันภายในเยื่อหุ้มเซลล์เกิดเป็นอนุมูลอิสระลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน ความเสียหายที่เกิดขึ้นภายในเยื่อหุ้มเซลล์สามารถขยายไปสู่องค์ประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์ได้ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้อาจทำให้เกิดการทำงานผิดปกติหรือการตายของเซลล์ได้ สภาวะดังกล่าวจะส่งผลให้สารชีวโมเลกุลอื่นๆ เกิดความเสียหายตามไปด้วย โดยสารชีวโมเลกุลที่เป็นเป้าหมาย ได้แก่ ดีเอ็นเอ โปรตีน และลิพิด นอกจากจะมีผลเสียต่อโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์และส่งผลทำให้เซลล์เสียหายแล้ว ในทางตรงกันข้ามอนุมูลอิสระเหล่านี้ยังมีความสำคัญกับกระบวนการทางชีววิทยาของเซลล์และการรักษาภาวะธำรงดุล (homeostasis) ของร่างกายด้วย เช่น การสร้างอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจนของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่เก็บกินสิ่งแปลกปลอม (phagocytic cells) ในการป้องกันร่างกาย (defense mechanism) ของโฮสต์เซลล์ต่อการติดเชื้อ (combat infection) นอกจากนั้นการสร้างอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจนในไซโทพลาสซึม (cytosolic ROS) ยังมีผลต่อการควบคุมการแบ่งเซลล์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้นภายในเซลล์ (intracellular) มีผลต่อเซลล์ของร่างกาย 2 ประการ คือ การทำให้เซลล์เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างภายในเซลล์และทำหน้าที่กระตุ้นให้เกิดสัญญาณการทำงานภายในเซลล์ ซึ่งทั้ง 2 กลไกนี้มีผลทำให้เกิดกิจกรรมภายในเซลล์สูงขึ้นและพัฒนาไปสู่การเกิดโรคต่างๆ

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้โดยตรงเพื่อหยุดปฏิกิริยาหรือกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์หรือจากอาหาร เช่น ผัก ผลไม้ และสมุนไพร ซึ่งมีสารพอลิฟีนอล ฟลาโวนอยด์ วิตามินซีและวิตามินอีเป็นองค์ประกอบในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะช่วยลดหรือป้องกันการทำลายสารชีวโมเลกุลจากอนุมูลอิสระดังกล่าวได้

Kumin *et al*. (2006) ได้ทำการศึกษาผลของการออกกำลังกายเป็นระยะเวลานานต่อการเกิดออกซิเดชันและผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อการป้องกันการเกิดออกซิเดชันในม้า พบว่าการให้สารต้านอนุมูลอิสระกับม้าจะช่วยในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระและภาวะเครียดในระหว่างการออกกำลังกายได้เป็นอย่างดี

7.2 บทบาทต่อการเกิดออกซิเดชันของไลโพโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (LDL)

การเกิดภาวะเครียดส่งผลต่อการเกิดออกซิเดชันของโมเลกุลของไขมันได้ โดยเฉพาะไลโพโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (LDL) สามารถเกิดขึ้นได้กับหลายส่วนของเซลล์ โดยตำแหน่งแรกที่เกิดออกซิเดชัน คือ บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดภาวะดังกล่าวมาจากอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้นมาหรือได้รับจากภายนอก การเกิดออกซิเดชันของ LDL จะส่งผลต่อการทำลาย endothelial cell โดยเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซด์ (monocyte) และลิมโฟไซด์ (lymphocyte) จะทำปฏิกิริยากับ LDL ที่ถูกออกซิไดซ์ เกิดเป็น foam cell ส่งผลให้เซลล์เกิดการทำงานผิดปกติและเป็นสาเหตุต่อการเกิดหลอดเลือดหัวใจตีบตัน (atherosclerosis) ได้

การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น สารพอลิฟีนอลจะมีบทบาทในการเพิ่มความคงตัวของไขมันและ LDL โดยทำหน้าที่ในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันผ่านกระบวนการจับกับอนุมูลอิสระแอลคอกซิลและเพอร์ออกซิล Zhang *et al.* (2000) ได้ทำการให้กรดพาราคูมาริกกับหนูทดลอง พบว่าการที่หนูได้รับสารต้านอนุมูลอิสระคือ กรดพาราคูมาริก ปริมาณ 137 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 30 วัน สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนั้นยังพบว่าสามารถลดระดับ LDL ในซีรัมลงได้อีกด้วย แต่จะไม่ส่งผลต่อปริมาณไลโพโปรตีนความหนาแน่นสูง (HDL)

7.3 บทบาทต่อการป้องกันหลอดเลือดหัวใจตีบตันและโรคหัวใจ (Atherosclerosis and

Cardiovascular disease)

โรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นกลุ่มโรคที่เป็นปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของทั่วโลก เนื่องจากเป็นสาเหตุหลักที่ทาให้คนทั่วโลกเสียชีวิตถึงปีละกว่า 17 ล้านคน (กระทรวงสาธารณสุข, 2554) หลอดเลือดหัวใจตีบตัน เป็นภาวะที่เกิดจากเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจมีการตีบหรือตัน เป็นผลจากภาวะความเครียดและการเกิดออกซิเดชันของ LDL ภายในเซลล์ ทำให้ไขมันเกิดการสะสมที่ผนังด้านในของหลอดเลือด โรคดังกล่าวมีพยาธิสภาพทำให้ผนังหลอดเลือดหนาตัวขึ้น แข็ง เปราะ และแคบลง ส่งผลให้ปริมาณของเลือดไหลได้ลดลง แต่มีความดันเพิ่มขึ้น ส่งผลให้กล้ามเนื้อหัวใจเกิดภาวะขาดเลือดไปเลี้ยง ถ้าเป็นรุนแรงก็จะเกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายขึ้น การได้รับอาหารที่มีสารต้านอนุมูลสูงจะลดการเกิดออกซิเดชันดังกล่าวได้ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายได้ในไขมันจะสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของ LDL ได้ดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในน้ำ

ส่วนโรคหัวใจขาดเลือด (coronary vascular disease) เกี่ยวข้องกับการชราภาพ (aging) การอักเสบ การติดเชื้อ การสูบบุหรี่และภาวะเครียด ซึ่งภาวะอักเสบเรื้อรังเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระ ซึ่งส่งผลกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาว ทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นในลักษณะเป็นลูกโซ่ โรคหัวใจชนิดนี้มีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของไขมัน คอเลสเตอรอล และไลโพโปรตีนความหนาแน่นต่ำ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดภาวะโรคหัวใจขาดเลือด

Dauchet *et al.* (2006) ได้แสดงให้เห็นว่าการบริโภคผักที่เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระมีการลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจลดลงได้ร้อยละ 4 นอกจากนั้นยังพบว่าวิตามินซีสามารถช่วยลดปัจจัยเสี่ยงจากโรคแทรกซ้อนของโรคหัวใจได้

7.4 บทบาทต่อการป้องกันโรคมะเร็ง (Anti-cancer)

โรคมะเร็งหรือเนื้องอก (malignant neoplasm) เป็นลักษณะการจำลองดีเอนเอที่ไม่มีการควบคุมและการแบ่งเซลล์ของเซลล์ที่ผิดปกตินำไปสู่การพัฒนาและหรือแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งที่รุกรามและทำลายเนื้อเยื่อที่อยู่ติดกับเลือดหรือระบบน้ำเหลือง การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเริ่มจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายผิดปกติและการควบคุมการแสดงออกของยีน มีการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมการเติบโตของเซลล์และสร้างเซลล์ที่มีความแตกต่างกัน ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงจากเนื้องอกกลายไปเป็นมะเร็งต่อไป (Croce, 2008) โรคมะเร็งเป็นโรคที่มีความเฉพาะของบุคคลอย่างมาก ในอัตราการเจริญและจุดเริ่มต้นจะขึ้นอยู่กับแต่ละบุคคล (Waters *et al.,* 2008)

เซลล์ในร่างกายกำจัดอนุมูลอิสระ โดยการสร้างเอนไซม์ซุปเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสหรือเอนไซม์ที่พึ่ง

กลูตาไธโอน การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจะช่วยในการป้องกันการเกิดมะเร็งมากกว่าผลในทางการรักษา นอกจากนั้นยังพบว่าวิตามินอีและวิตามินซี ช่วยในการป้องกันการเกิดผลข้างเคียงจากกระบวนการรักษามะเร็ง (เคมีบำบัดและฉายรังสี) อีกด้วย (Borek, 2004)

7.5 บทบาทต่อโรคเบาหวาน (Diabetes)

ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานส่วนใหญ่ พบว่าจะเป็นโรคเบาหวานชนิดที่สองเป็นหลัก ซึ่งสาเหตุเกิดจากการขาดฮอร์โมนอินซูลินหรือการทำงานของฮอร์โมนบกพร่อง สารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของอินซูลินหรือรักษาระดับน้ำตาลในเลือด โดยการทำงานมีความเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตในร่างกาย และสารต้านอนุมูลอิสระยังสามารถกระตุ้นให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดลดลงได้ด้วย นอกจากนั้นการที่มีไขมันสะสมในกล้ามเนื้อลายจะนำไปสู่การเกิดภาวะต้านฤทธิ์ของอินซูลิน (insulin resistance) โดยไปรบกวนความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชันในเซลล์กล้ามเนื้อ การทดลองโดยการกระตุ้นให้เกิดโรคเบาหวานโดยใช้สารแอลล็อกแซนจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดไดอะลูริค (dialuric acid) และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อนุมูลไฮดรอกซิลแอลล็อกแซน ซึ่งจะไปทำลายเบต้าเซลล์ในตับอ่อนและกระตุ้นให้เกิดโรคเบาหวานขึ้น การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกเข้าไป เช่น เอนไซม์ซุปเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส เอนไซม์คะตาเลสหรือไธโอยูเรียจะสามารถลดผลของยาแอลล็อกแซนลงได้

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า สารต้านอนุมูลอิสระในชาเขียวจะสามารถลดการเกิดไกลเคชัน (การทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกลูโคสกับฮีโมโกลบิน) และทำให้อินซูลินทำงานได้ดีขึ้น (Fukino *et al.,* 2008) นอกจากนั้น Asgard *et al.* (2007) ยังพบว่าการบริโภคผักและผลไม้สามารถลดภาวะการเกิดออกซิเดชันและการอักเสบในผู้ป่วยเบาหวานได้ การศึกษาระบาดวิทยายังแสดงให้เห็นว่าการบริโภคผักสีเขียวจะสามารถป้องกันการเกิดโรคเบาหวานได้ โดยพบว่าการบริโภคผักและผลไม้จำนวนมากเป็นประจำสามารถลดอัตราเสี่ยงการเป็นโรคเบาหวานได้มากกว่าสองเท่า

7.6 บทบาทต่อการลดการอักเสบในร่างกาย

การอักเสบเฉียบพลันเป็นพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นทั่วไป ประกอบด้วยหลายขั้นตอนทางชีวเคมี ชีววิทยา และเกี่ยวข้องกับระบบเลือด การอักเสบเป็นปฏิกิริยาตอบสนองที่ซับซ้อนของเนื้อเยื่อต่อสิ่งแปลกปลอมและต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่เสียหายหรือตายลง ซึ่งเป็นการทำลายที่เกิดเนื่องจากเซลล์ในกลุ่มเซลล์ฟาโกไซติก (phagocytic cell) ทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อปกติไปด้วย และเป็นกลไกพื้นฐานของโรคอีกหลายชนิด การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจะช่วยในการลดการอักเสบได้ดี เป็นที่รู้จักกันว่าเควอเซทินที่พบในผักและผลไม้ มีความสามารถในการต้านการอักเสบที่ดี (Read, 1995; Orsolic *et al*., 2004) โดยสามารถยับยั้งระดับของ LPS-induced mRNA ของ cytokines 2 ชนิดได้ คือ TNF-α และ IL-1α (Bureau *et al.,* 2003)

7.7 บทบาทในด้านอื่นๆ

นอกจากบทบาทในด้านสุขภาพที่กล่าวมาแล้ว สารต้านอนุมูลอิสระยังมีบทบาทในด้านอื่นๆ อีกด้วย เช่น การต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย (Cushnie and Lamb, 2005) การยับยั้งการสะสมไขมันภายในหลอดเลือด (de Whalley *et al.,* 1990; Perez-Vizcaino *et al.,* 2006) การลดระดับความดันโลหิต (Perez-Vizcaino *et al.,* 2006; Duarte *et al.,* 2001) เป็นต้น

**การอบแห้ง**

การอบแห้ง คือ กระบวนการลดความชื้น ซึ่งส่วนใหญ่ใช้การถ่ายเทความร้อนไปยังวัสดุที่ชื้นเพื่อไล่ความชื้นออกด้วยการระเหย โดยของเหลวที่อยู่ในวัสดุจะเคลื่อนที่ออกมายังผิวส่วนไอน้ำในวัสดุจะเคลื่อนที่ออกมายังผิว ส่วนไอน้ำในวัสดุจะเคลื่อนที่เนื่องจากความแตกต่างของความเข้มข้นของความชื้น และความดันไอที่แตกต่างกันระหว่างไอน้ำในวัสดุกับอากาศร้อน ช่วงแรกของการอบแห้งเป็นช่วงอัตราการอบแห้งคงที่ การถ่ายเทความร้อนและมวลระหว่างวัสดุกับอากาศจะเกิดขึ้นรอบๆ ผิววัสดุเท่านั้น ความร้อนกับอากาศร้อนจะถ่ายเทไปยังผิววัสดุการถ่ายเทความร้อนและการเทมวลสารจะเกิดขึ้นภายในมวลวัสดุ โดยน้ำภายในวัสดุจะเคลื่อนที่มายังผิววัสดุในรูปของเหลวหรือไอน้ำ แล้วระเหยเมื่อได้รับความร้อนจากอากาศการเคลื่อนที่ของน้ำ จากภายในวัสดุมายังผิวจะช้ากว่าการพาความชื้นจากผิวไปยังอากาศ ทำให้อัตราการอบแห้งลดลงที่อุณหภูมิและความชื้นสัมพันธ์อากาศคงที่ ความชื้นของวัสดุจะลดลงจนถึงจุดหนึ่ง ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงที่จุดนี้ความดันไอน้ำของน้ำในวัสดุมีค่าเท่ากับความดันไอของอากาศที่อยู่รอบๆ และอุณหภูมิของวัสดุก็เท่ากับอุณหภูมิของอากาศรอบๆ ทำให้น้ำไม่สามารถระเหยออกจากวัสดุได้เรียกความชื้นในขณะนั้นว่า ความชื้นสมดุล

วัตถุประสงค์ของการทำแห้งอาหาร คือ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา การทำแห้งเป็นการลดปริมาณน้ำในอาหาร เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทุกชนิด เช่น รา (mold) ยีสต์ (yeast) แบคทีเรีย (bacteria) ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสีย (microbial spoilage) ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ (enzyme) หรือชะลอปฏิกิริยาต่างๆ ทั้งทางเคมีและทางชีวเคมีซึ่งมีน้ำเป็นส่วนร่วมและเป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสีย (food spoilage) ทำให้อาหารปลอดภัย การลดปริมาณน้ำในอาหารโดยการทำแห้งทำให้อาหารมีค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (water activity) น้อยกว่า 0.6 ซึ่งเป็นระดับที่ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) รวมทั้งยับยั้งการสร้างสารพิษของเชื้อรา (mycotoxin) เช่น Aflatoxinเพื่อทำให้อาหารมีน้ำหนักเบา ลดปริมาตร ทำให้สะดวกต่อการขนส่ง การบริโภค หรือการนำไปเป็นวัตถุดิบในการแปรรูปต่อเนื่องด้วยวิธีอื่นๆ สร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เป็นทางเลือกของผู้บริโภคมากขึ้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2559)

**1. ปัจจัยที่มีผลต่อการทำแห้ง**

การทำแห้งคือการเคลื่อนย้ายน้ำ ออกจากอาหารปัจจัยใดๆ ที่มีผลต่อการเคลื่อนย้ายนี้จึงมีผลต่ออัตราเร็วของการทำแห้ง ได้แก่

1.1 คุณสมบัติของอาหาร อาหารเนื้อโปร่งมีการเคลื่อนที่ของน้ำภายในอาหารแบบผ่านช่องแคบซึ่งเร็วกว่าการแพร่ในอาหารเนื้อแน่น ดังนั้นอาหารเนื้อโปร่งจึงแห้งได้เร็วกว่าอาหารเนื้อแน่นอาหารที่มีน้ำตาลสูงจะเหนียว กีดขวางการเคลื่อนที่ของน้ำ จึงแห้งช้ากว่าอาหารที่มีการลวกนวดคลึงทำให้เซลล์แตกจึงแห้งได้เร็วขึ้น

1.2 ขนาดและรูปร่างมีผลต่อพื้นผิวต่อน้ำหนักเช่นรูปร่างเหมือนกันขนาดเล็กจะมีพื้นที่ผิวต่อน้ำหนักมากกว่าขนาดใหญ่จึงทำให้แห้งเร็วกว่าแต่ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงพื้นที่ผิวสัมผัสกับอากาศที่จะเกิดการเคลื่อนย้ายไอน้ำออกไปถ้าชิ้นเล็กมากทับถมกันการระเหยเกิดได้เฉพาะที่ผิวสัมผัสกับอากาศจึงทำให้การทำแห้งเกิดได้ช้าทั้งๆ ที่พื้นที่ต่อหน่วยน้ำหนักมาก

1.3 อุณหภูมิของอากาศร้อนถ้าอากาศมีความชื้นคงที่การเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเพิ่มความสามารถในการรับไอน้ำจึงมีผลต่อการทำแห้งในช่วงอัตราการทำแห้งคงที่ และอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้การแพร่กระจายของน้ำดีขึ้นจึงมีผลต่อการอบในช่วงการทำแห้งลดลงด้วย

1.4 ความเร็วของลมร้อนลมร้อนทำหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายไอน้ำ ออกไปด้วยเมื่อความเร็วลมเพิ่มขึ้นจึงเคลื่อนย้ายได้ดีขึ้นนอกจากนั้นความเร็วลมทำให้เกิดกระแสปั่นป่วนของอากาศในเตาอากาศจึงสัมผัสอาหารได้ดียิ่งขึ้น

**2. วิธีการอบแห้งและเครื่องทำแห้ง**

2.1 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drier)

เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย หรือเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย คือ เครื่องทำแห้ง (drier) ที่ใช้ทำแห้ง (dehydration) สำหรับอาหารเหลว เช่น นมผง น้ำผลไม้ กาแฟ ไข่ โดยใช้เครื่องพ่นละออง (atomizer) ทำให้อาหารเหลวเป็นละออง สัมผัสกับกระแสลมร้อนภายในห้องอบแห้ง (drying chamber) ทำให้น้ำในอาหารระเหยออกไปอย่างรวดเร็ว ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้มีลักษณะเป็นผงแห้ง ตกลงสู่ภาชนะรองรับด้านล่าง ผงบางส่วนที่รวมอยู่กับลมร้อนจะถูกแยกออกด้วยระบบแยก อาหารผงที่ได้มีความชื้น (moisture content) ต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ 5) นิยมใช้ในการผลิตอาหารแห้งมีมีลักษณะเป็นผง

2.2 เครื่องอบแห้งแบบตู้ (cabinet drier)

เครื่องอบแห้งแบบตู้ เป็นอุปกรณ์แปรรูปอาหาร (food processing equipment) หมายถึง เครื่องทำแห้ง (drier) ที่ใช้เพื่อการทำแห้ง (dehydration) อาหารที่มีลักษณะเป็นตู้ (cabinet) ทำงานเป็นกะ (batch) เหมาะสำหรับโรงงานขนาดเล็ก ที่ไม่ต้องการกำลังการผลิตสูงมาก ได้แก่ การอบแห้งผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ สัตว์น้ำ สมุนไพร เครื่องเทศ เช่น กุ้งแห้ง กระชายดำแห้ง

2.3 เครื่องอบแห้งแบบสายพาน (belt drier)

เครื่องทำแห้งแบบสายพาน (belt drier) เป็นเครื่องทำแห้ง (drier) ชนิดหนึ่งที่ใช้เพื่อการทำแห้ง (dehydration) อาหาร ทำงานแบบต่อเนื่อง จัดเป็น tunnel drier ชนิดหนึ่ง ซึ่งใช้สายพานลำเลียง (belt conveyor) เป็นตัวลำเลียงเพื่อลดการใช้แรงงานนำเข้าและเอาผลิตภัณฑ์ออก อาหารจะถูกวางเรียงให้กระจายสม่ำเสมอบนสายพานที่มีลักษณะเป็นตะแกรงโปร่ง (mesh belt) ให้

อากาศผ่านได้ บริเวณที่อบแห้งมีลักษณะเป็นอุโมงค์อบแห้ง ที่มีลมร้อนเป็นตัวกลางถ่ายเทความชื้นออกจากชิ้นอาหาร แหล่งกำเนิดความร้อนอาจเป็นแก๊ส หรือ ไอน้ำร้อน

2.4 เครื่องทำแห้งแบบฟลูอิดไดซ์เบด (fluidized bed drier)

เครื่องทำแห้งแบบฟลูอิไดซ์เบด (fluidized bed drier) คือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำแห้ง (dehydration) ที่ใช้ลมร้อนเป่าผ่านชั้นวัสดุ (bed) ทำให้วัสดุลอยตัวเป็นอิสระ เกิดการคลุกเคล้าและสัมผัสกับลมร้อนอย่างสม่ำเสมอ มีอัตราการถ่ายเทความร้อนและมวลสูง สามารถลดความชื้นของวัสดุลงได้อย่างรวดเร็ว เหมาะกับใช้ทำแห้งวัสดุที่เป็นเม็ดเล็กที่มีรูปทรงและขนาดสม่ำเสมอ เช่น เมล็ดธัญพืช (cereal grain) ถั่ว (legume) เป็นต้น และยังใช้ได้กับของเหลวแบบข้นหนืด (paste) เนื้อผลไม้ (pulp) อีกด้วย

2.5 เครื่องอบแห้งแบบแฟลช (flash drier)

เครื่องทำแห้งแบบใช้ลม (flash drier หรือ pneumatic drier) หมายถึง เครื่องอบแห้ง (drier) ที่ใช้สำหรับทำแห้ง (dehydration) วัสดุที่เป็นเม็ด หรือเป็นผงเช่น แป้งสตาร์ซซึ่งวัสดุ ถูกป้อนเข้าท่อลมร้อน ไหลลำเลียงด้วยลม (pneumatic conveyor) ไปตามท่อ เกิดการถ่ายเทความร้อนและความชื้นระหว่างลมร้อนกับวัสดุทำให้วัสดุแห้งอย่างรวดเร็ว

2.6 เครื่องทำแห้งแบบระเหิด (freeze drier)

เครื่องทำแห้งโดยการแช่เยือกแข็ง (freezing) อาหารก่อน แล้วลดความดันภายใต้อุณหภูมิต่ำ เพื่อให้น้ำแข็งระเหิด (sublimation) เป็นไอ (ที่อุณหภูมิเท่ากับหรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส น้ำแข็งระเหิดที่ความดันเท่ากับ 4.7 มิลลิเมตรปรอทหรือต่ำกว่า) วิธีการนี้เหมาะกับอาหารที่ไวต่อการสูญเสียคุณภาพและคุณค่าทางโภชนาการด้วยความร้อน อาหารแห้งที่ได้มีคุณภาพสูง และมีสมบัติในการคืนสภาพได้ดี แต่มีค่าใช้จ่ายสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งที่ใช้ลมร้อนทั่วไป

2.7 เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drier)

เครื่องอบสุญญากาศ เป็นเครื่องอบ (drier) ที่ใช้เป็นทำแห้ง (dehydration) อาหารที่ทำงานภายใต้ภาวะที่ความดันอากาศต่ำกว่าความดันบรรยากาศ (atmospheric pressure) สุญญากาศตาม phase diagram ทำให้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิต่ำลงการทำให้เกิดสุญญากาศในห้องอบ จะใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) เพื่อสูบอากาศออกการทำแห้งด้วยเครื่องอบสุญญากาศ จะช่วยรักษาคุณภาพของอาหารได้ดีกว่าการทำแห้งที่ความดันบรรยากาศเครื่องอบสุญญากาศยังใช้เพื่อการหาความชื้นของอาหารที่ไวต่ออุณหภูมิสูง เช่น อาหารที่มีน้ำตาลสูง หรืออาหารที่มีน้ำมันหอมระเหย (essential oil) เป็นส่วนประกอบ เพื่อหลีกเลี่ยงการอบที่อุณหภูมิสูงที่ทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาด

2.8 เครื่องอบแห้งด้วยอินฟราเรด (infrared drier)

เครื่องอบแห้งด้วยอินฟราเรด หมายถึง เครื่องทำแห้ง (drier) ที่ใช้เพื่อการทำแห้ง (dehydration) โดยใช้รังสีอินฟราเรด (infrared) การใช้กับอาหารการอบแห้งด้วยรังสีอินฟราเรด นำมาใช้เพื่อผลิตผลทางการเกษตรหลากหลายชนิด เช่น เมล็ดธัญพืช ข้าวเปลือก ถั่วลิสง และเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ เหมาะสมในการใช้งานกับวัสดุที่มีความชื้นไม่สูงมากการอบแห้งแบบอินฟราเรดอาจใช้ร่วมกับการให้ความร้อนแบบอื่น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการอบแห้ง (อำไพศักดิ์ ทีบุญมา และศักดิ์ชัย จงจำ, 2552)

ข้อดีของการใช้อินฟราเรดเพื่ออบแห้งอาหาร

1) เนื่องจากรังสีอินฟราเรดสามารถแผ่ทะลุเข้าไปในเนื้อวัสดุ ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำในเนื้อวัสดุสั่น และเกิดความร้อน ซึ่งจะทำให้อุณหภูมิในเนื้อวัสดุสูงกว่าอุณหภูมิที่ผิว ส่งผลให้ผิวภายนอกของวัสดุอบแห้งไม่เหี่ยวย่น และได้ผลิตภัณฑ์ที่ใกล้เคียงกับวัตถุดิบที่นำมาอบแห้ง

2) รังสีอินฟราเรดยังให้ความร้อนได้อย่างรวดเร็ว และกระจายความร้อนได้อย่างสม่ำเสมอ ติดตั้งง่าย ประหยัดพลังงาน และลดระยะเวลาในการอบแห้ง

2.9 เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drier)

เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drier) คือ เครื่องทำแห้ง (drier) ที่ใช้เพื่อการทำแห้ง (dehydration) อาหารที่มีลักษณะเป็นของเหลวข้นหนืด เช่น น้ำแป้งสุก ผลไม้บด เช่น กล้วย ทุเรียน

2.10 เครื่องทำแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ (solar drier)

เครื่องทำแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ (solar drier) คือ เครื่องทำแห้ง (drier) ที่ใช้พลังงานความร้อนจากแสงอาทิตย์ ใช้สำหรับทำแห้ง (dehydration) ผลิตผลทางเกษตร เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร อาหารทะเล

2.11 การทำแห้งแบบ osmotic dehydration

การทำแห้งด้วยวิธีออสโมซิส (osmotic dehydration) เป็นวิธีการทำแห้ง (dehydration) โดยการแช่อาหารในสารละลาย เช่น น้ำตาล เกลือ เพื่อให้เกิดการออสโมซิส (osmosis) โดยน้ำภายในเซลล์อาหารจะแพร่ออกสู่สารละลายภายนอกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ที่มีสมบัติเป็นเยื่อกึ่งซึมผ่านได้ (semipermeable membrane) หลักการนี้ใช้ในการดึงน้ำออกจากวัตถุดิบ เช่น ผัก ผลไม้ ก่อนนำไปทำแห้งด้วยวิธีปกติ

2.12 การทำแห้งแบบโฟม (foam mat drying)

Foam-mat drying เป็นการทำแห้ง (dehydration) ที่ใช้กับอาหารเหลว ซึ่งขั้นตอนสำคัญ คือทำให้อาหารที่ต้องการทำแห้งให้เป็นโฟม (foam) ก่อนแล้วจึงนำมาทำแห้ง ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น อบแห้งในตู้อบแห้ง (cabinet drier) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) จากนั้นอาจนำมาบดละเอียดให้เป็นผง ใช้ได้ดีกับไข่ขาว ผลิตภัณฑ์น้ำผัก น้ำผลไม้ หลายชนิด เช่น น้ำแอปเปิ้ล น้ำส้ม น้ำสับปะรด และน้ำองุ่น

**งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

Hongkaia *et al.* (2017) ได้ทำการศึกษาการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของชาเขียวด้วยลักษณะกรรมวิธีและข้อมูลภาพเนื่องจากการควบคุมการประมวลผลและการประเมินทางประสาทสัมผัสของชาเขียว ในงานวิจัยนี้ได้มีการสร้างแบบจำลองสองแบบโดยใช้เครือข่ายประสาทเทียม BP-MLP และ RBF ซึ่งเป็นแบบจำลองการคาดการณ์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้พารามิเตอร์ 11 แบบ ในระหว่างการประมวลผลมีตัวแปรอย่างเช่น อุณหภูมิของใบ ความชื้น ฯลฯ และแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้พารามิเตอร์ 14 แบบ ที่เกี่ยวข้องกับการประมวลผลมีตัวแปรอย่าง เช่น ข้อมูลภาพที่ถูกสร้างขึ้นไว้แล้ว เป็นต้น ผลการศึกษาพบว่าอุณหภูมิของใบ ความชื้นที่วัดได้ในระหว่างการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสามารถทำการคาดเดาถึงคุณภาพของชาเขียวได้ และคุณสมบัติที่เป็นข้อมูลภาพของชาเขียวสามารถประเมินผลของคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับเครือข่ายประสาทเทียม BP-MLP และ RBF แสดงถึงความถูกต้องน่าเชื่อถือมากขึ้นในรูปแบบการคาดการณ์ซึ่งช่วยลดความผิดพลาดจาก 0.204 เป็น 0.006

Kraujalyte *et al.* (2016) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบสารระเหยและลักษณะทางประสาทสัมผัสของชากระป๋องต่างๆ ที่ผลิตจากชาดำ การผลิตชาชนิดต่างๆด้วยวิธีการผลิตที่แตกต่างกันซึ่งได้จากชาดำ ยกตัวอย่างเช่น ชาแห้งสำเร็จรูปแช่แข็ง (FDIT) ชาสำเร็จรูปแบบพ่นฝอย (SDIT) และชากระป๋องไร้คาเฟอีน (DCIT) ถูกเปรียบเทียบความแตกต่างในการระเหยของสารประกอบรวม ทั้งการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส (descriptive sensory analysis: DSA) มีทั้งหมด 63 ของสารระเหยในตัวอย่างชาทั้งหมด อย่างเช่น อัลดีไฮด์ แอลกอฮอล์ คีโตน เอสเทอร์ กรด terpenes/ terpenoids ฟิวแรน/furanones ไพริโร และสารประกอบอื่นๆ ถูกระบุไว้อย่างไม่แน่นอนซึ่ง ชาดำ ชาแห้งสำเร็จรูปแช่แข็ง (FDIT) ชาสำเร็จรูปแบบพ่นฝอย (SDIT) และชากระป๋องไร้คาเฟอีน (DCIT) มีสารระเหยอยู่ที่ 60, 55, 47 และ 40 ตามลำดับ คุณลักษณะของรสชาติทั้งสิบชนิดหลังจากได้ทำการทดลองชิมเช่น รสเปรี้ยว ขม คาราเมล หวานมอลต์ และสาหร่ายทะเล ความเข้มข้นสำหรับแอตทริบิวต์รสต่างๆ เช่น คาราเมลในชาสำเร็จรูปแบบพ่นฝอย (SDIT) และรสขมของชากระป๋องไร้คาเฟอีน (DICT) ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) ระหว่างตัวอย่างชา การศึกษาในปัจจุบันชี้แสดงให้เห็นว่าชาที่ได้จากการชงชายังสามารถใช้แทนชาดำได้

Jina *et al*. (2016) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและค่าคงที่สีของชาสมุนไพรในประเทศจีน ค่าความนิยมของชาสมุนไพรเพิ่มขึ้นในประเทศจีนเนื่องจากมีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ สีเป็นส่วนหนึ่งในลักษณะทางประสาทสัมผัสที่สำคัญของชา การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ข้อมูลใหม่เกี่ยวกับคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและค่าคงที่ของสี คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองและค่าคงที่สี ซึ่งทำการทดลองจากชาสมุนไพรทั้ง 110 ชนิด ได้รับการตรวจสอบอย่างเป็นระบบเมื่อเปรียบเทียบกับชาเขียว 8 ชนิดในประเทศจีนผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าของคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและค่าคงที่ของสีของชาสมุนไพรนั้น มีค่ามากกว่าชาเขียว คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระของชาสมุนไพรส่วนใหญ่ต่ำกว่าชาเขียวยกเว้น ชาหวาย 'เต็งชา' ชาสมุนไพรที่มีค่าสูงซึ่งอาจจะคล้ายคลึงหรือเหนือกว่าชา

จักรพันธุ์ เนรังษี (2558) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับผักเชียงดาซึ่งเป็นพืชที่สามารถนำมาใช้เพื่อรักษาอาการเจ็บป่วย เนื่องจากในส่วนของใบผักเชียงดาเมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ พบว่ามีสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน แซนโธฟิลล์ แทนนิน คลอโรฟิลล์ และสารประกอบฟินอลลิก โดยสารสำคัญเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารอนุมูลอิสระนี้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดมะเร็งตับ มะเร็งในกระเพาะอาหาร โรคอ้วน โรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน และโรคต้อกระจกในผ้สูงอายุ นอกจากนี้ยั้งช่วยในการบำรุงสายตา ควบคุมการทำงานของร่างกายให้เป็นปกติ นอกจากใบของผักเชียงดาแล้วส่วนของลำต้นยังมีสารออกฤทธิ์ที่มีสรรพคุณช่วยบรรเทาอาการไอ แก้หลอดลมอักเสบ ปอดอักเสบ แก้ริดสีดวงทวาร และโรคบิด อีกทั้งยังใช้เป็นยาขับปัสสาวะได้อีกด้วย นอกจากนั้นผักเชียงดาสามารถยับยั้งการดูดซึมและลดระดับน้ำตาลในลำไส้ของทางเดินอาหารในสัตว์และคนได้ โดยพบสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานี้คือ Gymnemic acid ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ ที่สกัดได้จากใบและรากของผักเชียงดา โดยลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ Gymnemic acid มี tri-terpenoid, glucuronic acid และกรดไขมันรวมอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน ดังภาพที่ 2.13



**ภาพที่ 2.13** โครงสร้างทางเคมีของ Gymnemic acid

สรุปได้ว่าจากสรรพคุณของพืชสมุนไพรที่ได้กล่าวเบื้องต้น ทำให้ประชาชนหันมาให้ความสนใจกับผักเชียงดามากขึ้น จึงทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ออกสู่ท้องตลาด ทั้งในรูปแบบแคปซูล ชาชงสมุนไพร หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารอื่น ๆ และจากคุณประโยชน์จากผักพื้นบ้านของไทยนี้เอง ทำให้บริษัทยาในประเทศญี่ปุ่นให้ความสนใจ และนำผักเชียงดาจากประเทศไทยไปผลิตเป็นชาชงสมุนไพร เพื่อใช้ดื่มสำหรับลดระดับน้ำตาลในเลือดและบำรุงสุขภาพ ซึ่งผลิตภัณฑ์นี้ได้จดสิทธิบัตรเป็นที่เรียบร้อยแล้ว ด้วยเหตุนี้คนไทยจึงควรหันมาให้ความสนใจกับผักพื้นบ้านที่อยู่ใกล้ตัว และนำมาใช้ประโยชน์สูงสุดเพื่อสุขภาพที่ดีของคนไทย

ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน และคณะ (2554) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจากผักเชียงดา (*Gymnema inodorum* Decne.) การศึกษามีวัตถุประสงค์เพื่อหาชนิดของผักเชียงดาและอุณหภูมิการอบแห้งที่เหมาะสมในการทำใบชาจากเชียงดาที่มีคุณภาพด้านการต้านอนุมูลอิสระ ใช้วัตถุดิบผักเชียงดา วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเทียบกับวิตามินอี (Trolox) การศึกษาพบว่า ใบผักเชียงดาสดชนิดกิ่งพุ่มใบแก่มีปริมาณแคโรทีน แร่ธาตุ เส้นใย และไขมันสูง ชนิดกิ่งกระโดงอ่อนมีปริมาณโปรตีน คลอโรฟิลล์ และสารประกอบ ฟีนอลลิกทั้งหมดสูง แต่ชนิดกิ่งกระโดงและแบบกิ่งพุ่มทั้งใบอ่อนและใบแก่ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ไม่แตกต่างกัน โดยมีฤทธิ์การยับยั้งเฉลี่ยร้อยละ 56.713-65.037 เทียบได้กับวิตามินอี ในปริมาณเฉลี่ย 8.547-14.685 มิลลิโมล ต่อ100 กรัม น้ำหนักแห้ง เมื่อนำไปทำเป็นใบชาแห้งพบว่า ผักเชียงดาชนิดกิ่งกระโดงใบอ่อน อบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส มีคุณภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีฤทธิ์การยับยั้งร้อยละ 32.908 เทียบกับวิตามินอี 15.561 มิลลิโมลต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และมีสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมด 4277.925 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งแตกต่างจากวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)