บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ หมายถึง โมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ 1 หรือ 10^{-3} – 10^{-10} วินาที จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร และว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยสามารถตรวจวัดด้วย Electron Spin Resonance (ESR) โมเลกุลหรือไอออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (พรทิพย์, 2551) ตัวอย่างของอนุมูลอิสระแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ

ชนิดของอนุมูลอสิระ	อนุมูลอิสระ
Superoxide anion radical	$O^{\cdot}_2$
Hydroxyl radical	$HO^{\cdot}$
Peroxide radical	$ROO^{\cdot}$
Hydrogen peroxide	H_2O_2
Ozone	O_3
Singlet oxygen	$O_2^{\cdot}$
Hydrogen radical	$H^{\cdot}$
Methyl radical	$CH_3^{\cdot}$

ที่มา : พรทิพย์, 2551

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันและไขมัน

น้ำมันหรือไขมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงจะมีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้มากกว่าน้ำมันหรือไขมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันชนิดอิ่มตัว การเก็บน้ำมันหรือไขมันไว้ในที่ซึ่งสัมผัสกับอากาศ และแสงโดยตรง หรือเก็บในที่มีอุณหภูมิสูง จะมีกลิ่นหืนได้ง่ายมากยิ่งขึ้น ซึ่งมีรายงานว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญกว่าปัจจัยอื่นๆ (ศรัณยา และ อริศร์, 2547)

2.1.1 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันและไขมัน

ปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันและไขมันเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้เอง หรือ ออโตออกซิเดชัน (autoxidation) โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนในอากาศอย่างช้าๆ ทำให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ขั้นเริ่มต้น ขั้นที่สอง และ ขั้นที่สาม (นิธิยา, 2548) กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันและไขมันในอาหารสามารถแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน (ศรัณยา และ อริศร์, 2551) ดังนี้

2.1.1.1 ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้น

ปฏิกิริยาขั้นเริ่มต้นเป็นขั้นที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นโดยมีโลหะ หรือ ฮีม (haem) และปัจจัยอื่น เช่น แสง และความร้อน เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการที่ 2.1

$$RH + O_2 \longrightarrow R^{\cdot} + H^{\cdot} \qquad \text{---------- (2.1)}$$

2.1.1.2 ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง

ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาขั้นต้น ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (peroxide radical) ($ROO^{\cdot}$) และอนุมูลเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้ จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว และปฏิกิริยานี้จะเกิดต่อเนื่องแบบเติมไปเรื่อยๆ แบบลูกโซ่ ดังสมการที่ 2.2 และ 2.3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

$$R^{\cdot} \xrightarrow{O_2} ROO^{\cdot} \quad \text{---------- (2.2)}$$

$$RH \xrightarrow{O_2} ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \quad \text{---------- (2.3)}$$

2.1.1.3 ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย

ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เกิดการรวมตัวกันในรูปต่างๆ (ในสมการที่ 2.5-2.9) ทำให้เกิดสารที่มีความคงตัว และทำให้ปฏิกิริยาสิ้นสุดลง

$$R^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow RR \quad \text{---------- (2.5)}$$

$$RO^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow ROR \quad \text{---------- (2.6)}$$

$$RO^{\cdot} + RO^{\cdot} \longrightarrow ROOR \quad \text{---------- (2.7)}$$

$$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow ROOR \quad \text{---------- (2.8)}$$

$$ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \longrightarrow \text{ผลิตภัณฑ์ต่างๆ} \quad \text{---------- (2.9)}$$

2.3 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน

หน้าที่สำคัญที่สุดของสารต้านออกซิเดชันในอาหาร คือ ยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระอย่างต่อเนื่อง สารต้านออกซิเดชันบางชนิด เช่น วิตามินจะทำหน้าที่ต้านออกซิเดชัน โดยวิตามินซีจะถูกออกซิไดส์ก่อนสารอื่น ตัวอย่างการทำหน้าที่ยับยั้งปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันแสดงดังสมการ 2.10-2.14 โดยให้สารต้านออกซิเดชัน (AH) จะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระต่างๆ เพื่อหยุดปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระอย่างต่อเนื่อง (นิธิยา, 2548)

$$R^{\cdot} + A-H \longrightarrow R-H + A^{\cdot} \quad \text{----------(2.10)}$$

$$RO^{\cdot} + A-H \longrightarrow R-O-H + A^{\cdot} \quad \text{----------(2.11)}$$

$$ROO^{\cdot} + A-H \longrightarrow R-O-O-H + A^{\cdot} \quad \text{----------(2.12)}$$

$$R^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow R-A \quad \text{----------(2.13)}$$

$$RO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow R-O-A \quad \text{----------(2.14)}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากสมการ 10-14 จะเห็นได้ว่าสารต้านออกซิเดชันจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน ทำให้มีปริมาณอนุมูลอิสระลดน้อยลง

2.4 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

2.4.1 ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ

ชนิดของกรดไขมันในโมเลกุลของไขมัน และน้ำมันมีผลกระทบต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชัน กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเท่านั้นที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และอัตราเร็วของการเกิดจะแตกต่างกัน กรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่าจะเกิดปฏิกิริยาได้เร็วกว่า (นิธิยา, 2549)

2.4.2 ออกซิเจน

ในภาวะที่มีออกซิเจนมาก อัตราการเกิดออกซิเดชันจะไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจน แต่ในภาวะที่มีออกซิเจนน้อยอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของออกซิเจน อย่างไรก็ตามผลของออกซิเจนยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นด้วย เช่น อุณหภูมิและพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับออกซิเจน (นิธิยา, 2549)

2.4.3 อุณหภูมิ

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และอุณหภูมิยังมีอิทธิพลต่อความดันย่อยของออกซิเจนด้วย เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นการเปลี่ยนความดันย่อยของออกซิเจนจะมีอิทธิพลเพียงเล็กน้อยต่ออัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชัน เพราะการละลายของออกซิเจนในน้ำมันและน้ำจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (นิธิยา, 2549)

2.4.4 พื้นที่ผิว

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อพื้นที่ผิวส่วนที่สัมผัสอากาศ ดังนั้น หากอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาณเพิ่มขึ้น การเกิดออกซิเดชันจะเร็วขึ้น (นิธิยา, 2549)

2.4.5 ความชื้น

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับค่า water activity อาหารแห้งที่มีความชื้นต่ำมาก (aw น้อยประมาณ 0.1) ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อค่า a_w เพิ่มขึ้นถึงประมาณ 0.3 จะยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้น้อยที่สุด อย่างไรก็ตาม เมื่อค่า a_w เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 0.55 – 0.85 อัตราการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นอีกครั้งหนึ่ง เนื่องจากมีปริมาณน้ำมากพอที่จะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของตัวเร่งปฏิกิริยาและออกซิเจน (นิธิยา, 2549)

2.4.6 แสงและรังสี

แสงและรังสีต่างๆ เช่น แสงที่มองเห็นได้ แสงอัตราไวโอเลต และรังสีแกมมา มีผลช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเร็วขึ้น (พรทวี, 2548)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

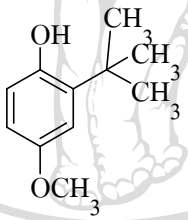
2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่มีสมบัติในการป้องกันหรือช่วยทำให้ไขมันหรือน้ำมันเกิดการหืนได้ช้าลง จึงเป็นสารที่เติมลงในไขมัน น้ำมัน และผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันหรือน้ำมัน เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้ไขมันและผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันหรือน้ำมันมีความคงตัว จึงช่วยรักษาคุณลักษณะกลิ่นและรสชาติของอาหารไว้ได้นานยิ่งขึ้น (นิธิยา, 2548) สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งสารที่สังเคราะห์ขึ้น และสารที่ได้มาจากการสกัดจากพืช

2.5.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอาหาร

สารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในรูปสารกันหืนที่นิยมใช้ในอาหารมีหลายชนิด มีทั้งชนิดที่ได้จากการสังเคราะห์ และได้จากการสกัดจากธรรมชาติ สารกันหืนที่นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่

2.5.1.1 บิวทิลเลเตดไฮดรอกซิลแอนิโซล (Butylated hydroxyanisole ; BHA)



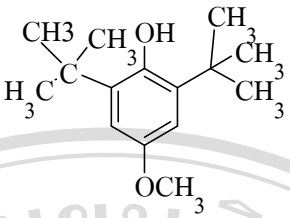
รูปที่ 2.1 โครงสร้าง บิวทิลเลเตดไฮดรอกซิลแอนิโซล (BHA)
ที่มา : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/fad/BHA.htm

BHA มีโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.1 เป็นวัตถุกันหืนที่นิยมใช้กันมากชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทที่มีไขมัน และน้ำมันเป็นส่วนประกอบ BHA ที่ใช้ส่วนใหญ่ จะอยู่ในรูปของสารผสม 2- และ 3- *tert*–butyl- 4-hydroxyanisole หรืออาจใช้รวมกับแกลลิก หรือ Butylated hydroxytoluene (BHT) เพื่อให้ประสิทธิภาพดีขึ้น (สุทธิ, 2544)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5.1.2 บิวทิวเลเตดไฮดรอกซิลทอลูอีน (Butylated hydroxytoluene ; BHT)

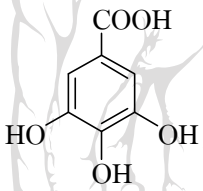
บีเอชที หรือ 2, 6 – di – *tert* – butyl – 4 – methylphenol (รูปที่ 2.2) เป็นวัตถุกันหืนอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้เช่นเดียวกับ BHA แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าเล็กน้อย และให้กลิ่น ฟีนอลเช่นเดียวกัน เวลาใช้มักนิยมใช้ผสมกับวัตถุกันหืนชนิดอื่นเพื่อเสริมให้ประสิทธิภาพดีขึ้น (สุทธิ, 2544)



รูปที่ 2.2 โครงสร้าง บิวทิวเลเตดไฮดรอกซิลทอลูอีน (BHT)
ที่มา : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/fad/BHA.htm

2.5.1.3 แกลลิก (Gallic)

โพรพิล , ออคทิล และโดเดซิลแกลเลต เป็นเอสเทอร์ (ester) ของกรดแกลลิก (Gallic acid) (รูปที่ 2.3) เป็นวัตถุกันหืนที่มีประสิทธิภาพดีมากช่วยป้องกันการเกิดเพอร์ออกไซด์ ประสิทธิภาพของสารสกัดนี้จะขึ้นอยู่กับ น้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้น (สุทธิ, 2544)

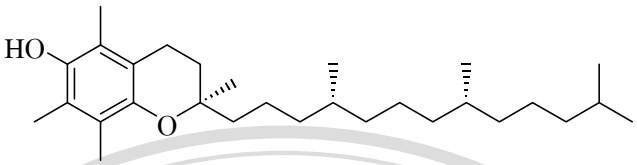


รูปที่ 2.3 โครงสร้าง แกลลิก
ที่มา : http://techno.msu.ac.th/fn/ecenter/fad/BHA.htm

2.5.1.4 วิตามินอี (Vitamin E)

วิตามินอีมีลักษณะเป็นน้ำมันข้นหนืด สีเหลือง ละลายได้ดีในไขมัน มีสูตรโมเลกุล $C_{20}H_{20}O_2$ น้ำหนักโมเลกุล 430 มีสูตรดังโครงสร้าง รูปที่ 2.4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูปที่ 2.4 โครงสร้าง Vitamin E (α- tocopherol)

วิตามินอีมีความคงตัวต่อกรด ภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และไขมันที่ถูกออกซิไดส์ แต่ไม่ทนต่อด่าง แสงอัลตราไวโอเลต และจะสลายตัวมากขึ้นเมื่อมีออกซิเจน วิตามินอีมีหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันในอาหาร โดยเฉพาะในน้ำมันพืชจะมีวิตามินอีในธรรมชาติมาก ทำให้เกิดการหืนจากออกซิเจนได้ช้า กลไกการทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันของวิตามินอีในอาหาร คือ วิตามินอีจะไปรวมตัวกับอนุมูลอิสระได้เป็นสารไฮโดรเพอร์ออกไซด์ และอนุมูลแอลฟา–โทโคเฟอร์ริก (α-tocopheryl radical) ซึ่งอาจรวมตัวกันเองด้วยพันธะโคเวเลนต์เป็น โทโคเฟอร์ริก-ไดเมอร์และไทรเมอร์ หรือเกิดออกซิเดชันและมีการเรียงตัวใหม่ได้เป็นโทโคเฟอรอกไซด์ โทโคเฟอร์ริกไฮโดรควิโนน และโทโคเฟอริกควิโนน ปฏิกิริยานี้จะไม่เกิดขึ้นกับ แอลฟา–โทโคเฟอริกแอซิเตต และวิตามินอีเอสเทอร์อื่นๆ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการสลายตัวจะไม่มีกิจกรรมของวิตามินอี (นิธิยา, 2549)

2.5.2 ข้อดีและข้อจำกัดของสารกันหืนจากธรรมชาติ

สารกันหืนที่สกัดจากธรรมชาติมักจะได้รับการยอมรับในด้านของความปลอดภัย และไม่ต้องมีการทดสอบทางด้านความปลอดภัยเนื่องจากเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติและมีการรับประทานกันอยู่แล้ว สารกันหืนที่ได้มักอยู่ในรูปสารสกัดหยาบ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ และเมื่อใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารอาจทำให้มีผลกระทบต่อสี กลิ่น และรสชาติ ในผลิตภัณฑ์อาหาร แต่เมื่อทำให้อยู่ในรูปของสารบริสุทธิ์จะมีราคาค่อนข้างแพง (พรทวี, 2548)

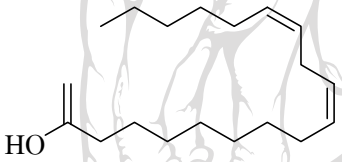
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมทั่วไปมี 3 วิธีคือ (1) การวิเคราะห์ค่า Antioxidant activity เป็นการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูล 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง (Duangnak, 2008)

2.6.1 การวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต้านการเกิดไฮโดรเพอร์ออกไซด์ของกรดลิโนลีอิก หรือการหาค่า Antioxidant activity

กรดลิโนลีอิก (รูปที่ 2.5) เป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นองค์ประกอบ ทำให้กรดลิโนลีอิกสามารถจับกับอนุมูลอิสระที่อยู่ในระบบได้เป็นอนุมูลอิสระ จากนั้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศ ได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น คอนจูเกตที่เสถียร สารต้านอนุมูลอิสระที่มีพันธะคู่เป็นองค์ประกอบนี้จะสามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ และลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลีโนลีอิก โดยประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิกทำการวัดได้โดยการเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลีอิกผสมอยู่ ทิ้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นใช้เครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร ค่าที่ได้นี้แปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น ดังนั้นการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเพอร์ออกไซด์ได้ (Duangnak, 2008)



รูปที่ 2.5 โครงสร้าง Linoleic acid (9(Z), 12(Z)-octadecadienoic acid
ที่มา : Duangnak, 2008

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ หรือการหาค่า Reducing power

สารที่เป็นตัวรีดิวซ์สามารถจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอะตอมหรือโมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ในทางชีวเคมี อนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดได้แก่ สารที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบและมีความว่องไวต่อปฏิกิริยา ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิดอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเพอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของแต่

ละสารที่สกัดได้ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริกไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่ และค่าของการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากเครื่องมือวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการทางสเปคโตรโฟโตรมิเตอร์ จะมีค่าแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนที่เกิดขึ้น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็นตัวรีดิวซ์ (Duangnak, 2008)

2.6.3 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals หรือการหาค่า scavenging effect โดยใช้ 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH))

1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) เป็น อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเลคตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนให้เป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังรูปที่ 2.6 (1) และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวกลายเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังรูปที่ 2.6 (2) ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษาจะเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรในสารละลาย โดยในการทดสอบจะให้ DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ทำการวัดค่าดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH จะลดลง สีของสารละลายจะมีสีอ่อนลง DPPH (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (Duangnak, 2008)

รูปที่ 2.6 โครงสร้าง DPPH free radical และ DPPH nonradical
ที่มา : Duangnak, 2008

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7 ผักพื้นบ้าน

ผักพื้นบ้าน หมายถึง พรรณพืชผักพื้นบ้านหรือพรรณไม้พื้นเมืองในท้องถิ่นที่ชาวบ้านนำมาบริโภคเป็นผักตามวัฒนธรรมการบริโภคของท้องถิ่น ในแหล่งธรรมชาติ สวนนาไร่ หรือชาวบ้านนำมาปลูกไว้ใกล้บ้านเพื่อสะดวกในการเก็บมาบริโภค ผักพื้นบ้านเหล่านี้อาจมีชื่อเฉพาะตามท้องถิ่น และนำไปประกอบเป็นอาหารพื้นเมืองตามกรรมวิธีเฉพาะของแต่ละท้องถิ่น (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2538) ผักพื้นบ้านทางภาคเหนือมีอยู่มากมายหลายชนิดที่นิยมนำมาบริโภคได้แก่ ผักกระถิน ผักแส้ว และผักคาวตอง

2.7.1 ผักกระถิน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Leucaena leucocephala* de wit.

วงศ์ : LEGUMINOSAE

ชื่ออื่น : กะถินบ้าน กะเส็ดโคก กะเส็ดบก (ตะวันตก) ผักก้านถิน ผักหนองบก (เหนือ) สะตอเทศ ตอเบา สะตอเบา (ใต้) สะตอบ้าน กันเวด (เขมร) กระถินดอกขาว กะถินหัวงอก กะถิน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระถิน (รูปที่ 2.7) เป็นไม้พื้นเมืองเดิมของเขตอเมริกาใต้ คนไทยมีความเชื่อว่ากระถิน เป็นไม้มงคล ควรปลูกทางทิศตะวันออกเฉียงใต้ของบ้าน เชื่อว่าจะช่วยป้องกันความเลวร้ายได้ กระถินเป็นไม้ขนาดกลางที่ปลูกง่ายโตเร็วแตกหน่อได้ดีมาก กระถินเป็นไม้ตระกูลถั่วที่ช่วยในการปรับปรุงสภาพพื้นดินให้ดีขึ้น กระถินเป็นไม้พุ่มยืนต้น สูงมากกว่า 10 เมตร ใบเป็นใบประกอบก้านใบยาว 15-30 เซนติเมตร แตกออกเป็นก้านย่อย 3-10 คู่ ก้านยาวกว่า 10 เซนติเมตร มีใบขนาดเล็ก คล้ายใบมะขาม จำนวน 5-20 คู่ ใบรูปขนานปลายแหลม ยาว 6-21 มิลลิเมตร กว้าง 1.5-5 มิลลิเมตร ดอกเป็นช่อขนาดเล็ก กลมฟู สีขาว มีกลิ่นหอมเล็กน้อย ฝักแบน ยาว 12-18 เซนติเมตร กว้างประมาณ 2 เซนติเมตร มีเมล็ดภายในเรียบ 15-30 เม็ด (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2538)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

คุณค่าทางอาหาร

กระถินใช้รับประทานแก้ท้องร่วง สมานแผล ห้ามเลือด ฝักกระถินเป็นยาฝาดสมาน และเมล็ดเป็นยาถ่ายพยาธิ เปลือกของกระถินมีรสฝาดเป็นยาฝาดสมาน รากใช้ปรุงเป็นยาอายุวัฒนะ ขับลม และขับระดูขาว ส่วนที่เป็นผัก ยอดอ่อน ใบอ่อน ฝักอ่อน และเมล็ดอ่อน ออกตลอดปี แต่นิยมรับประทานยอดกระถินในฤดูฝนเพราะรสชาติกรอบมัน (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2538)

รสและประโยชน์ต่อสุขภาพ

ยอดและใบอ่อนของกระถิน รสมัน ส่วนเมล็ดอ่อนของกระถิน มีรสอมหวานเล็กน้อย ยอดอ่อนของกระถิน 100 กรัม ให้พลังงานต่อร่างกาย 80.7 กิโลแคลอรี่ ประกอบด้วยสารอาหาร คือเส้นใย 3.8 กรัม แคลเซียม 137 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 11 มิลลิกรัม เหล็ก 9.2 มิลลิกรัม วิตามินเอ 7883 IU. วิตามินบีหนึ่ง 0.33 มิลลิกรัม วิตามินบีสอง 0.09 มิลลิกรัม ไนอาซิน 1.7 มิลลิกรัม วิตามินซี 8 มิลลิกรัม (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2538)

รูปที่ 2.7 ผักกระถิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7.2 ผักแส้ว

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Marsdenia glabra* Cost.

วงศ์ : ASCLEPIADACEAE

ชื่อพื้นเมือง : ผักแส้ว (เหนือ) เถาวัลย์ดำ (สระบุรี)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ผักแส้ว (รูปที่ 2.8) เป็นไม้เลื้อย พบในป่าดงดิบและป่าเบญจพรรณในภาคเหนือ ลำต้นเป็นเถากลมขนาดเล็ก สีเขียว เถาบางช่วงเลื้อยงอไปงอมา เถามีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.01-0.15 เซนติเมตร เป็นใบเดี่ยวออกตรงข้ามกัน ใบสีเขียว ใบเป็นรูปหอกปนรูปไข่ ใบกว้าง 2.3-4.5 เซนติเมตร ใบยาว 4-12 เซนติเมตร ก้านใบสั้น 0.05-2 เซนติเมตร หน้าใบสีเขียวเข้มกว่า หลังใบ ริมใบเรียบปลายใบแหลม ฐานใบสอบแหลม ดอกมีรูปร่างแบบกระดิ่ง กลีบดอกสีขาวยาว 3-5 มิลลิเมตร ผลมีขนาดเล็กกว้าง 6 มิลลิเมตร ยาว 5 มิลลิเมตร และเมล็ดมีขนาดเล็ก (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

ประโยชน์ทางยา

ใบช่วยเจริญอาหาร แก้ไข้กระหายน้ำ บำรุงร่างกาย ดอก บำรุงหัวใจ บำรุงครรภ์ รักษาแก้ไข้ตัวร้อน รากใช้ถอนพิษยาเบื่อเมา ถอนพิษไข้ ถอนพิษอักเสบต่างๆ (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

ประโยชน์ทางอาหาร

ยอดอ่อนและใบอ่อนของผักแส้วเป็นผักที่ออกยอดเกือบตลอดปี ชาวเหนือรับประทานผักแส้วโดยการนำมานึ่งหรือลวกเป็นผักจิ้มรับประทานร่วมกับน้ำพริก บางคนชอบรับประทานสด และผักแส้วยังนำไปปรุงอาหาร เช่น แกงแค แกงปลาย่าง และแกงเนื้อย่างเป็นต้น (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปที่ 2.8 ผักแส้ว

ที่มา : http://singburi.doae.go.th/acri/index.htm

2.7.3 ผักคาวตอง

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Houttuynia cordata* Thunb.

วงศ์ : SAUURACEAE

ชื่อพื้นเมือง : ผักคาวทอง (อุดรธานี-อีสาน) ผักก้านตอง ผักคาวตอง (เหนือ) ผักเข้าตอง พลูแก่ (กลาง) พลูคาว (กลาง)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

คาวตอง (รูปที่ 2.9) เป็นพืชล้มลุกหลายปี สูงประมาณ 15-40 เซนติเมตร ลำต้นส่วนที่เลื้อยทอดไปตามดินจะมีรากแตกออกตามข้อ ต้นมีกลิ่นคาวคล้ายกลิ่นคาวปลาช่อน ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับเป็นรูปหัวใจ สีเขียวตองอ่อนหรือสีเขียวอมเหลือง กว้าง 4-6 เซนติเมตร ยาว 3-8 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ฐานใบเว้าเป็นรูปหัวใจ ขอบใบเรียบ ก้านใบยาว 1-3.5 เซนติเมตร ก้านใบส่วนโคนแผ่เป็นกาบหุ้มลำต้น มีหูใบติดอยู่กับก้านใบ ดอกออกเป็นช่อ และออกตรงปลายยอด มีใบประดับสีขาว 4 ใบ ที่โคนช่อ ช่อดอกมีดอกย่อยขนาดเล็กมากมายอัดกันแน่นเป็นแท่งทรงกระบอกสีเหลือง หรือสีขาวออกเหลือง ไม่มีกลีบดอกและก้านดอก ผลเป็นผลแห้งแตกได้ (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2538)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ประโยชน์ทางยา

ใบมีสรรพคุณแก้กามโรค ทำให้น้ำเหลืองแห้ง แก้โรคผิวหนังทุกชนิด ใบนำมาตำพอกแก้พิษแมลงป่อง พอกฝี ชาวเหนือเชื่อว่าขับพยาธิได้ ในตำรายาจีน คาวตองทั้งต้นมีสรรพคุณขับปัสสาวะ รักษาอาการอักเสบในทางเดินปัสสาวะ ระงับเชื้อโรคหลายชนิด (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2538)

ประโยชน์ทางอาหาร

ยอดอ่อนใบอ่อนและใบของคาวตองรับประทานเป็นผัก คาวตอง เป็นไม้ที่มีรับประทานตลอดปี แต่มีใบและยอดงามในฤดูฝน การปรุงอาหารชาวบ้านภาคเหนือและอีสานนิยมรับประทานคาวตองเป็นผักสด โดยแกล้มกับน้ำพริก ลาบหมู ลาบเนื้อ ก้อย ช่วยดับกลิ่นคาว (สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, 2538)

รูปที่ 2.9 ผักคาวตอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เกศศิณี และจันทร์เพ็ญ (2543) ได้ทำการศึกษาศักยภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทยในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 84 ชนิด โดยทำการสกัดสารจากผักสดด้วยเมทานอล แล้วทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ หรือ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี β-carotene bleaching ผลจากการศึกษาพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสาร BHA ผักพื้นบ้าน 47 ชนิด อยู่ในกลุ่มที่มีศักยภาพสูงมาก โดยมีสารที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระมากกว่า 100 มิลลิกรัม ในผักสด 100 กรัม และพบว่าผัก 25 ชนิด มีศักยภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระสูง คือ มีสารที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ 25 – 100 มิลลิกรัม ในผักสด 100 กรัม ผักที่เหลือจัดอยู่ในระดับปานกลาง และต่ำจำนวน 9 ชนิด และ 3 ชนิดตามลำดับ

พรรณี (2550) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเมทานอลของเปลือกของต้นวงค์อบเชย 8 ชนิด คือ เปลือกต้นกระทังใบใหญ่ (*Litsea grandis* Hook.f.) เอียน (*Neolitsea zeylanica* Merr.) เทพทาโร (*Cinnamomn porrectum* Roxb. Kosterm.) เชียด (*Cinnamomum iners* Blume) ทังบอน (*Phoebe grandis* Nees Merr.) ทำมัง (*Litsea petiolata* Hook.f.) ยางบง (*Persea kurzii* Kosterm.) และ หมีเหม็น (*Litsea glutinosa* C.B. Robins.) โดยให้ทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระ DPPH (2,2 – diphenyl – 1 – picryl – hydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างเสถียรชนิดหนึ่ง เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer คำนวณค่า EC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50, มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยใช้ BHT เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ จากการศึกษาพบว่าเปลือกของต้นพืชทุกชนิดที่ทดสอบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า BHT โดย EC_{50} = 11.820 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้นเปลือกต้นกระทังใบใหญ่มีฤทธิ์น้อยกว่า

พรทวี (2548) ได้ศึกษาสภาวะการสกัดสารป้องการการหืนจากพืชสมุนไพร 3 ชนิด คือ โรสแมรี (*Rosmarinus officinalis* L.) เสจ (*Salvia officinalis* L.) และทาย์ม (*Thymus valgaris* L.) ทั้งใบสดและแห้ง ด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ น้ำ เมทานอล เมทานอลต่อน้ำ (5:1) แอซีโทนและเฮกเซน เพื่อตรวจวัดปริมาณสารสกัด (ร้อยละ) และหาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Spectrophotometer assay : Radical Scavenging Activity on DPPH Radical โดยแสดงผลเป็นค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า โรสแมรี่แห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 3.85 และโรสแมรีแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายแอซีโทนมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 86.95 มิลลิกรัมต่อลิตร และการศึกษาน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่า โรสแมรี่แห้งให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คิดเป็นร้อยละ 3.20 และน้ำมันหอมระเหยจากทาย์มแห้งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด จากนั้นทำการศึกษาสารสกัดโรสเมรี่แห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายแอซีโทนเปรียบเทียบกับสารป้องกันการหืนสังเคราะห์คือ BHA, BHT และสารสกัดจากโรสเมรี ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 20.09, 70.12 และ 86.95 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัว คือ แสง อากาศ และอุณหภูมิ พบว่าทุกปัจจัย มีผลให้คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระลดลง เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นในระยะเวลา 28 วัน

Murray *et al.* (2004) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากหมู่ฟังก์ชั่นที่มีขั้วของสารสกัดจากราก *Limonium brasiliense* (Plumbaginaceae) สีแดง ทำการสกัดโดยวิธี refluxing พบว่ามีสารประกอบเคมีอยู่ 5 ชนิดที่ออกฤทธิ์ คือ 3 – *O* - α - rhamnopyranoside, (-) – epigallocatechin 3 – *O* – gallate, (-) – epigal – locatechin, (+) – gallocatechin และ gallic acid การหาองค์ประกอบ ใช้ Spectroscopic (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR และ UV)

Gezer *et al*. (2006) ได้ศึกษาฤทธิ์และปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านจุลินรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค *Ramaria flava* (Schaeff) Quel. ในเห็ดที่บริโภคจากประเทศตุรกี สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ จากนั้นทดสอบ 4 ระบบ คือ DPPH, β-calotine/linoleic acid, total phenolic compound และ total flavonoid พบว่า *R. flava*, BHA และ วิตามินอี สามารถยับยั้งได้ร้อยละ 94.7, 98.9 และ 99.2 ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 160 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบระดับการยังยั้งของสารสกัดจาก *R. flava* และสารมาตรฐานในการทดสอบด้วย linoleic acid พบว่าสาร *R. flava* ที่สกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ มีความสามารถในการยับยั้งสูงกว่าสารมาตรฐาน ซึ่งมีปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ 8.27±0.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณของสารประกอบ ฟีนอลิก 39.83±0.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน *R. flava* ที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์ สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก และยีสได้ สารสกัดหยาบของ *R. flava* สามารถป้องกันการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Morganella morganii* และ *Proteus valgari.* ได้

Rackava *et al*. (2007) ได้ศึกษาการยับยั้งอนุมูลอิสระและเอนไซม์ lipoxygenase จากสารสกัดจากต้น *Mahonia aquifolium* ที่มีองค์ประกอบของ isoquinoline alkaloids โดยสกัดสารจากรากและเปลือกของ *Mahonia aquifolium* (Oregon grape) (*Berberidaceae*) พบว่า ผลของสารสกัดหยาบของรากและเปลือก *Mahonia aquifolium* มีสารสองชนิดที่ประกอบอยู่ คือ protoberberine และ bisbenzylisoquinoline (BBIQ) ที่ออกฤทธิ์กับ 12 – lipoxygenase (12 – LOX) และทำการทดสอบด้วยสาร DPPH ประเมินค่าอัตราการต้านอนุมูลอิสระและการต้านกลไกการทำงานของเอมไซน์ ผลการศึกษา พบว่า *Mahonia aquifolium* และองค์ประกอบของสารนี้ มีความเฉพาะเจาะจงต่อเอมไซน์ และในสภาวะที่เป็นเบสสามารถยับยั้งการทำงานของ lipoxygenase ได้ดีกว่าการต้านอนุมูลอิสระ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Garcia *et al.* (2002) ได้ศึกษาสารประกอบในน้ำมันที่สกัดจาก *Pimenta racemosa* var. *terebinthina*. และ *P. racemosa* var. *grisea* ด้วยเครื่อง แก๊ส โครมาโทรกราฟี-แมสเปกโทรมิเตอร์ (Gas Chromatographic-Mass Spectrometer) จากการศึกษา พบว่า *P. racemosa* var. *terebinhina* มี α-terpineol acetate เป็นองค์ประกอบหลัก (27%), α-terpineol (20%) และ 4- methoxy eugenol (12.6%) และ *P. racemosa* var. *grisea* มี 4- methoxy-isoeugenol (75.2%) และ 4- methoxy eugenol (4.5%)

Liang *et al.* (2005) ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของสารที่ระเหยได้จากผักคาวตอง (*Houttuynia cordata* Thunb.) ด้วยเครื่อง แก๊ส โครมาโตกราฟี-แมสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ใช้เทคนิคในการทำให้ระเหยแบบ flash evaporation , headspace solid-phase และ steam distillation องค์ประกอบของสารที่พบคือโดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี headspace solid-phase พบว่ามีองค์ประกอบของสารเคมี 60 ชนิด ขณะที่วิเคราะห์ด้วยวิธี flash evaporation และ steam distillation วิเคราะห์พบ 41 และ 51 ชนิด ตามลำดับ องค์ประกอบที่สำคัญที่มีร้อยละของสารทั้งหมดมาก เช่น 2-Undecanone, Houttuyum, phytol, 2-Tridecanone, Decanal, Decanoic acid, 1-Dodecanol และ Linonene

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved