



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาคูณค่าด้านสุขภาพของน้ำพริกแกงชนิด
ไม่มีกะทิและผลิตภัณฑ์โดยใช้การทดลองแบบ *in vitro*

โดย สมศรี เจริญเกียรติกุล และคณะ

ธันวาคม พ.ศ.2550

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาคุณค่าด้านสุขภาพของน้ำพริกแกงชนิดไม่มีกะทิ และผลิตภัณฑ์โดยใช้การทดลองแบบ *in vitro*

คณะผู้วิจัย

1. ผศ. ดร. สมศรี เจริญเกียรติกุล
2. นางสาววัชรีย์ ดิษยบุตร
3. ศ. พญ.ธาดา สืบหลินวงศ์

สังกัด

- สถาบันวิจัยโภชนาการ ม.มหิดล
สถาบันวิจัยโภชนาการ ม.มหิดล
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ปรึกษา

- รศ. ดร. นภา ศิวรังสรรค์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง “ การศึกษาคุณค่าด้านสุขภาพของน้ำพริกแกงชนิดไม่มีกะทิและผลิตภัณฑ์โดยใช้การทดลองแบบ *in vitro* ” เป็นโครงการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจากฝ่ายอุตสาหกรรม สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ร่วมกับภาคเอกชนผู้ร่วมทุนคือ ร้านน้ำพริกนิตยา ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่สนับสนุนให้โครงการนี้ได้เริ่มต้นดำเนินการและสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คณะวิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณท่านที่ปรึกษาตลอดจนท่านผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่าน เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ ดร. บัณฑิต อินทวงศ์ ผู้ประสานงาน ที่ให้ความเข้าใจและคำแนะนำในการแก้ไขปัญหาเป็นอย่างดีตลอดมา โครงการวิจัยนี้จะไม่สามารถประสบความสำเร็จได้ ถ้าปราศจากความร่วมมือ ความช่วยเหลือ และกำลังใจจากบุคคลต่างๆ ทั้งที่กล่าวมาในข้างต้นและอาจไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้

คณะผู้วิจัย

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

ชื่อโครงการ การศึกษาคุณค่าด้านสุขภาพของพริกแกงชนิดไม่มีกะทิและผลิตภัณฑ์โดยใช้การ
ทดลองแบบ *in vitro* (Functional properties of selected Thai non-coconut curry
pastes and their ready-to-cook products)

➤ ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

ชื่อ-สกุล ผศ. ดร. สมศรี เจริญเกียรติกุล

หน่วยงาน สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

ที่อยู่ สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

ถ. พุทรมณฑลสาย 4 , ศาลายา, พุทรมณฑล, นครปฐม 73170

โทรศัพท์ 02-800-2380 ต่อ 320 โทรสาร 02-441-9344

E-mail : nusck@mahidol.ac.th

➤ ระยะเวลาดำเนินการ 16.....เดือน

➤ ปัญหาที่ท้าวิจัยและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันการแข่งขันด้านการตลาดที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ต่างๆรวมทั้งอาหารเพื่อเสริมสร้างสุขภาพ และป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง หรือ Functional Food กำลังเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อันเป็นผลจากความตระหนักของกลุ่มผู้บริโภคถึงผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตจากการเป็นโรคเรื้อรัง นิยามของ Functional Food ตรงกับลักษณะของอาหารไทย คือ มีการนำเอาพืชผัก เครื่องเทศ สมุนไพรที่มีสรรพคุณในทางยา มาประกอบอาหารอันมีเอกลักษณ์เฉพาะตัว แต่เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุน คุณประโยชน์เชิงสุขภาพของอาหารไทยในลักษณะของเครื่องปรุง ส่วนประกอบ หรืออาหารสำเร็จรูป จึงเป็นการยากที่จะโน้มน้าวผู้บริโภคและชาวต่างชาติให้เชื่อมั่นถึงประโยชน์เชิงสุขภาพของอาหารไทย คณะผู้วิจัยซึ่งตระหนักถึงความสำคัญดังกล่าว โดยได้รับการสนับสนุนจาก สกว. และผู้ประกอบการร้านน้ำพริกนิตยา จึงได้ดำเนินโครงการวิจัยการศึกษาคุณค่าเชิงสุขภาพของพริกแกงบางชนิดและข้าวราดแกงกะทิ ซึ่งดำเนินการไปแล้วในปี พ.ศ. 2549 ที่ผ่านมา จากผลงานวิจัยนั้น พบว่าพริกแกงและอาหารไทยที่นำมาศึกษามีคุณสมบัติเบื้องต้นในการส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรคที่น่าสนใจและแตกต่างกันไป ดังนั้นผู้ทรงคุณวุฒิและผู้ประกอบการจึงเห็นพ้องกันให้คณะผู้วิจัยดำเนินการศึกษาในลักษณะที่คล้ายกันนี้กับพริกแกง

สำหรับแกงที่ไม่ใช้กะทิซึ่งเป็นอีกรูปแบบที่นิยมบริโภคเช่นกัน ว่ามีคุณสมบัติเชิงสุขภาพใดบ้าง รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงประสิทธิภาพเมื่อนำพริกแกงมาปรุงเป็นน้ำแกงในลักษณะพร้อมปรุง ซึ่งเป็นรูปแบบที่สามารถพัฒนาวางขายในตลาดได้กว้างขึ้น ก่อนที่จะมีการศึกษาในเชิงลึกต่อไปอันจะเป็นประโยชน์ต่อการส่งเสริมการตลาดและอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารไทยทั้งในและต่างประเทศ

➤ วัตถุประสงค์

วิเคราะห์ประโยชน์เชิงสุขภาพของสารสกัดด้วยน้ำและ/หรือเอธานอลของพริกแกง 4 ชนิด และผลิตภัณฑ์น้ำแกงพร้อมปรุงที่เตรียมจากพริกแกง และน้ำต้มยำอีกหนึ่งชนิด โดยการใช้การทดสอบแบบ *in vitro*

➤ ระเบียบวิธีวิจัย (โดยย่อ)

ผู้ประกอบการที่ร่วมให้ทุนเป็นผู้คัดเลือกพริกแกงที่ผลิตจำหน่ายและได้รับความนิยม 4 ชนิด ได้แก่ พริกแกงป่า แกงเลียง แกงส้ม แกงเหลือง โดยพริกแกงแต่ละชนิดถูกเตรียมขึ้นสามครั้ง ด้วยวัตถุดิบต่างชุดกัน พริกแกงแต่ละชนิดที่ได้ส่วนหนึ่งเก็บไว้ที่ -20°C สำหรับใช้สกัดเพื่อการวิเคราะห์ต่อไป อีกส่วนนำไปเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์น้ำแกงพร้อมปรุง ที่ไม่มีการเติมเนื้อสัตว์หรือผัก น้ำแกงแต่ละชนิดจึงมี 3 ตัวอย่างเช่นกัน ได้แก่ น้ำแกงป่า น้ำแกงเลียง น้ำแกงส้ม น้ำแกงเหลือง และเพิ่มน้ำต้มยำอีกหนึ่งชนิด รวมเป็นน้ำแกงสำหรับทดสอบทั้งหมด 5 ชนิด พริกแกงแต่ละชนิดถูกนำไปสกัดด้วยน้ำและ/หรือเอธานอล เป็นสารสกัด ส่วนน้ำแกงพร้อมปรุง ใช้ส่วนใสของน้ำแกง สำหรับนำไปทดสอบคุณสมบัติเชิงสุขภาพด้านต่างๆ โดยมีรายละเอียดโดยย่อดังต่อไปนี้

1. การต้านการแข็งตัวของลิ่มเลือด (Anti-Thrombosis activity): ใช้ Thrombin Time (TT) assay ซึ่งเป็นการวัดเวลาที่ใช้ในการสร้างเส้นใย Fibrin จากการทำงานของเอนไซม์ Thrombin ด้วยเครื่อง Coagulometer
2. การสลายลิ่มเลือด (Fibrinolytic activity): ใช้ Fibrin plate assay เพื่อวิเคราะห์ความสามารถของตัวอย่างอาหารในการสลายลิ่มเลือด(เส้นใย Fibrin)ที่จำลองขึ้นใน Petri-dish โดยสังเกตจากวงใสที่เกิดขึ้น ณ ตำแหน่งที่ใส่อาหารตัวอย่าง
3. การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation activity): วัดความสามารถของตัวอย่าง ในการกำจัดอนุมูลอิสระ α, α - diphenyl β - picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจหาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

4. การลดความดันโลหิตสูง (Anti-Hypertension): วัดความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ Angiotensin I converting enzyme (ACE) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะความดันโลหิตสูง โดยใช้เทคนิค Spectrophotometry
5. การชะลอความชรา (Anti-ageing): วัดความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ในกระบวนการเกิดเม็ดสีของผิวหนัง (Melanogenesis) โดยใช้เทคนิค Spectrophotometry ในการติดตามการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว
6. การเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis (Apoptosis induction): ใช้การเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Jurkat cells) และเทคนิคการย้อมด้วย Annexin-V และ Propidium Iodide ในการจำแนกประเภทของเซลล์ที่มีชีวิตจากเซลล์ที่ตายด้วย Apoptosis หรือ Necrosis และใช้เครื่อง Dual Parameter Flow Cytometer (FACS) ในการตรวจวัดเซลล์ที่เกิด Apoptosis ซึ่งจะติดสารเรืองแสงจากการย้อมด้วย Annexin-V

➤ สิ่งที่ได้คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลเบื้องต้นของคุณสมบัติเชิงสุขภาพของผลิตภัณฑ์อาหารไทยที่นำมาทดสอบ ที่เป็นประโยชน์แก่ผู้ผลิตและผู้บริโภคทั่วไป และใช้สำหรับการคัดกรองชนิดหรือประเภทของอาหารไทยที่มีศักยภาพ สมควรนำไปศึกษาต่อในเชิงลึกในสิ่งมีชีวิต เช่น สัตว์ทดลอง หรือทางคลินิกในคน เพื่อให้ได้หลักฐานที่ชัดเจนต่อไป

➤ ผลการวิจัย

ผลการศึกษาพบว่าพริกแฉะแต่ละชนิดมีคุณสมบัติเด่นที่แตกต่างกันไป โดยสารสกัดด้วยบัพเฟอร်ของพริกแฉะเขียว มีคุณสมบัติโดดเด่นทั้งการต้านการก่อลิ่มเลือดและการสลายลิ่มเลือด สารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแฉะทั้งสี่ชนิดแสดงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ สารสกัดด้วยน้ำและเอธานอล ของพริกแฉะส้ม และพริกแฉะเหลือง สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE ได้อย่างสมบูรณ์ จึงมีประสิทธิภาพในการต้านความดันโลหิตสูง ทั้งนี้ สารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแฉะเหลือง ยังแสดงคุณสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ที่ชะลอความชราได้ดี นอกจากนั้นเมื่อนำพริกแฉะแต่ละชนิดไปปรุงเป็นน้ำแกงแล้วนำมาทดสอบคุณสมบัติเชิงสุขภาพ พบว่าคุณสมบัติบางด้านมีการสูญเสียประสิทธิภาพไป เช่น พริกแฉะเขียว เมื่อปรุงเป็นน้ำแกงเขียวแล้วไม่ปรากฏคุณสมบัติทั้งการต้านการก่อลิ่มเลือด และการสลายลิ่มเลือดที่เคยพบในพริกแฉะ อย่างไรก็ตามคุณสมบัติเชิงสุขภาพบางด้านยังคงมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับที่พบในสารสกัดของพริกแฉะ เช่น คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ สำหรับคุณสมบัติการต้านความดันโลหิตสูงพบว่าแกงเขียวยังคงคุณสมบัติดังกล่าวไว้ได้ดีเช่นกัน ในทางตรงกันข้ามพบว่า

บางครั้งการนำพริกแกลงไปปรุงอาจทำให้คุณสมบัติบางด้านมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเช่น คุณสมบัติการชะลอความชรา จากการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase พบว่าน้ำแกงป่ามีประสิทธิภาพสูงกว่าสารสกัดจากพริกแกลงเกือบเท่าตัว โดยน้ำคั้นยา มีประสิทธิภาพสูงสุดในการชะลอความชรา สำหรับคุณสมบัติด้านการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis ซึ่งทำการทดสอบกับตัวอย่างน้ำแกงเท่านั้น พบว่าน้ำแกงเลียงมีแนวโน้มในการชักนำให้เกิด Apoptosis ที่ดีที่สุดทั้งยังก่อให้เกิดการตายแบบ Necrosis ต่ำสุด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำแกงชนิดอื่นๆ โดยสรุปทั้งพริกแกลงที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร หรือน้ำแกงพร้อมปรุงที่เตรียมจากพริกแกลง ล้วนมีคุณสมบัติเชิงสุขภาพที่หลากหลาย และน่าสนใจที่จะนำไปศึกษาเชิงลึกให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

➤ **ความสอดคล้องกับเป้าประสงค์และยุทธศาสตร์ของฝ่าย 5**

โครงการนี้สอดคล้องกับเป้าประสงค์และยุทธศาสตร์ของฝ่าย 5 เนื่องจากเป็นโครงการที่มีผู้ประกอบการอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารไทย (บริษัทน้ำพริกนิตยา) ร่วมสนับสนุนทุนวิจัยและตัวอย่างสำหรับใช้ในการศึกษา ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายอยู่แล้วหรืออยู่ในระหว่างการพัฒนาที่ตาม ข้อมูลวิจัยที่ได้จึงเป็นประโยชน์โดยตรงต่อผู้ประกอบการ โดยข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอนาคต และใช้ประชาสัมพันธ์ประโยชน์เชิงสุขภาพของผลิตภัณฑ์นั้นๆ ได้ ภายได้ข้อตกลงระหว่างผู้ประกอบการ สกว. และคณะผู้วิจัย นอกจากนั้นองค์ความรู้ที่ได้ยังสามารถใช้เป็นแนวทางเพื่อการศึกษาประโยชน์ของผลิตภัณฑ์อาหารไทยในเชิงลึกต่อไป

➤ **คำสำคัญ** พริกแกลง น้ำแกงไม่มีกะทิ การต้านการก่อลิ่มเลือด การสลายลิ่มเลือด การต้านอนุมูลอิสระ การลดความดันโลหิตสูง การชะลอความชรา และการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis

Executive summary

Project Title : Functional properties of selected Thai non-coconut curry pastes and their ready-to-cook products

Principle Investigator and Affiliation :

Dr. Somsri Charoenkiatkul, D.Sc. (Nutrition)

Division of Food Chemistry, Institute of Nutrition, Mahidol University

Phutthamonthon 4 Rd., Salaya, Phutthamonthon, Nakhon Pathom, 73170

Tel: 0-2800-2380 ext. 320 Fax: 0-2441-9344, Email : nusck@mahidol.ac.th

Co – Investigators :

Miss Watcharee Dissayabutr, M.Sc. (Nutrition)

Division of Food Chemistry, Institute of Nutrition, Mahidol University

Phutthamonthon 4 Rd., Salaya, Phutthamonthon, Nakhon Pathom, 73170

Tel: 0-2800-2380 ext. 304 Fax: 0-2441-9344, Email : grjyoung@yahoo.com

Dr. Tada Sueblinwong, M.Sc (Biochemistry), M.D.

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

Payathai Rd., Patumwan, Bangkok, 10330, Email : suebtada@yahoo.com

Consultant :

Dr. Napa Siwarungson, Ph.D.(Biochemistry)

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University

Payathai Rd., Patumwan, Bangkok, 10330

Tel: 0-2218-5426 Fax: 0-2218-5418, Email : siwarung@yahoo.com

Collaborating Company

Nittaya Curry paste Co. Ltd.

Duration 16..... months

Problem and Rationale

Non-communicable disease (e.g. CVD, Hypertension, cancer) is one of the most concerning health problems in many countries around the world including Thailand. It is well documented that types of food consumed and the eating pattern are largely contributed to its cause. Recently, there is an idea of using food in prevention and perhaps control these diseases. The word 'Functional Foods' therefore, was introduced. It means "the foods that provide a health benefit beyond the traditional nutrients it contains". Thai food is not only well-known for the delicacy but also known to have physiologically health benefits due to its ingredients; local vegetables, herbs and spices. These ingredients are usually used in a mixed-form called 'Curry Paste'. However, there is still a lacking of scientific evidence supporting the health benefits of Thai foods or Thai food products as commonly consumed. Thus, to reassure and convince the consumer for health benefits of Thai food, there is a need for the research to determine whether there is any functional property in these products. In 2006, the research team conducted the study on functional properties of Thai curry pastes and their coconut curry dishes. It was found that some Thai curry pastes showed high potency in a particular functional property against diet-related chronic diseases. Therefore, the reviewer and collaborating company (Nittaya Curry Paste Co. Ltd.) wish to extend the scope of the study to another type of commonly consumed Thai, non-coconut curry paste and their ready-to-cook products (curry soup without meats and vegetables). The information about health benefits of these Thai food products would be beneficial for opening the new market for Thai food business and industry.

Objectives:

To determine the functional properties of 4 Thai curry pastes and their ready-to-cook non-coconut soup together with ready-to-cook Tom Yum soup by using *in vitro* model.

Methodology (in Brief):

Four commonly consumed Thai curry paste selected by the manufacturer for this research are *Gaeng Pah*, *Gaeng Liang*, *Gaeng Som* and *Gaeng Leung* curry paste. Each curry paste was prepared three times using different batch of raw materials. A portion of each curry paste was taken for preparing ready-to-cook curry soup while the rest was kept at -20 °C until extracting for the analysis. Six functional properties of interest were determined using *in vitro* techniques as follows

1. Anti-thrombosis activity: A Thrombin Time (TT) assay which is a measurement of the time elapsing until the fibrin is formed by using Coagulometer, a device specially design for this purpose.
2. Fibrinolytic activity: Using Fibrin Plate technique to observe if food sample can break the fibrin gel formed in the Petri-dish by measuring the diameter of clear zone formation.
3. Antioxidant activity: Determining radical scavenging activity of food sample by use of stable free radical, α, α - diphenyl - β - picrylhydrazyl (DPPH). This method is widely acceptable for the anti-oxidant screening test.
4. Anti-hypertension: Angiotensin I converting enzyme (ACE) is the enzyme that plays the major role in the renin-angiotensin system which regulates blood

pressure. Therefore, the anti-hypertension property of food samples can be determined by the ACE inhibitory activity.

5. Anti-ageing activity: Tyrosinase plays the major in melanogenesis by converting tyrosine to DOPA Quinone. The tyrosinase inhibitory activity of food samples is therefore a good indicator for predicting the anti-ageing property.
6. Apoptosis induction in Leukemia cell line: After incubation Leukemia cells with a medium containing test solution, apoptotic cells will be labeled with protein Annexin V attached with fluorescent dye. The percentage of apoptotic cells occurred can be measured by using Dual Parameter Flow Cytometry (FACS).

Expected outputs

Provide useful information on functional properties of selected Thai curry pastes and their non-coconut curry dishes for manufacturer and general consumers. The information gained from this study could be used for selecting Thai curry pastes/dishes with high potential for further in depth study.

Results

The functional properties of Thai curry pastes extracts as well as the changing of their properties after cooking was observed. In summary, the buffer extract from *Gaeng Liang* curry paste showed distinctive potential in both anti-thrombosis and fibrinolytic property. The ethanol extract of all four curry pastes had great antioxidant activity. Both water and ethanol extract of *Gaeng Som* and *Gaeng Leung* curry pastes completely inhibited the ACE enzyme activity regarding to the anti-hypertension property. For anti-ageing property, the ethanol extract from *Gaeng Leung* curry paste also showed better Tyrosinase inhibitory activity than the other three curry pastes. The study of ready-to-cook curry soup showed the lost of potency in some functional properties. For example, in contrast to its curry paste, *Gaeng Liang* had neither anti-thrombosis nor fibrinolytic property. Some properties could remain the same potential whereas some showed greater potency in functional property after undergone the cooking process. The antioxidant property of curry soups was almost as potent as that of the extracts. For anti-hypertension property, the great potential of *Gaeng Liang* in the inhibition of ACE activity still remained the same. On the contrary, for anti-ageing property, *Gaeng Pah* curry soup showed almost twice as much of the Tyrosinase inhibitory activity compared to its extract. *Tom Yum* soup showed the highest Tyrosinase inhibitory activity. For Apoptosis Induction, which tested only curries, it was found that *Gaeng Liang* showed the greatest potent compared to the other curry soup. Besides, *Gaeng Liang* also showed the minimal necrosis rate among the group.

Short Description of the Project Relevance to Industry and Expected Return

Since the food samples used in this project were prepared from the collaborating company, Nittaya Curry Paste Co. Ltd., the information obtained will be directly beneficial to the food manufacturer for future development of any food products base on this finding. Functional properties found in the food products can be used to promote the health benefits of the food products in the extent of the research condition and under the agreement between the manufacturer, TRF and the researcher. In

addition, the finding from this study will also serve as a preliminary data which guiding us to the further in-depth research on the health benefit of Thai food.

Intellectual Property Rights Arrangement : owner and sharing of benefits

Key Words : Curry pastes, non-coconut curry soup, Anti-thrombosis, Fibrinolytic activity, Antioxidant, Anti-hypertension, Anti-ageing, and Apoptosis induction.

บทคัดย่อ

คุณค่าด้านสุขภาพของพริกแกงชนิดไม่มีกะทิและผลิตภัณฑ์โดยใช้การทดลองแบบ *in vitro*

พริกแกงเป็นเครื่องปรุงที่แสดงถึงเอกลักษณ์ของอาหารไทย โดยการใช้เครื่องเทศและสมุนไพรสดมากกว่าหนึ่งชนิดผสมผสานกันจนให้กลิ่น รส เฉพาะตัว พืชสมุนไพรเหล่านี้ยังมีสรรพคุณในการส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรค อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานวิจัยว่าเมื่อนำสมุนไพรเหล่านี้มาผสมรวมกันเป็นพริกแกง หรือเตรียมอาหารแล้วจะมีคุณค่าเชิงสุขภาพอย่างไรบ้าง โครงการนี้จึงดำเนินการศึกษาคุณค่าด้านสุขภาพของพริกแกงสำหรับแกงไม่มีกะทิ 4 ชนิดคือ แกงป่า แกงเลียง แกงส้ม และแกงเหลือง รวมทั้งผลิตภัณฑ์น้ำแกงพร้อมปรุงที่เตรียมจากพริกแกง และน้ำต้มยำ โดยศึกษาคุณสมบัติ 6 ด้าน ได้แก่ การต้านการก่อลิ่มเลือด การสลายลิ่มเลือด การต้านอนุมูลอิสระ การลดความดันโลหิตสูง การชะลอความชรา และการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis จากสารสกัดด้วยน้ำและ/หรือเอธานอลของพริกแกง 4 ชนิด และน้ำแกง 5 ชนิด ผลการศึกษาพบว่าพริกแกงแต่ละชนิดมีคุณสมบัติเด่นที่แตกต่างกันไป โดยสารสกัดด้วยบัพเฟอร์ของพริกแกงเลียง มีคุณสมบัติโดดเด่นทั้งการต้านการก่อลิ่มเลือดและการสลายลิ่มเลือด สารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแกงทั้งสี่ชนิดแสดงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีประสิทธิภาพ สารสกัดด้วยน้ำและเอธานอล ของพริกแกงส้ม และพริกแกงเหลือง สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE ในการต้านความดันโลหิตสูงได้อย่างสมบูรณ์ ทั้งนี้ สารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแกงเหลือง ยังแสดงคุณสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ที่ชะลอความชราได้ดี เมื่อนำพริกแกงไปเตรียมเป็นน้ำแกงแล้วนำมาทดสอบคุณสมบัติเชิงสุขภาพ พบว่ามีคุณสมบัติบางด้านสูญเสียไป เช่น พริกแกงเลียง เมื่อเตรียมเป็นน้ำแกงเลียงแล้วไม่พบคุณสมบัติทั้งการต้านการก่อลิ่มเลือด และการสลายลิ่มเลือด อย่างไรก็ตามคุณสมบัติเชิงสุขภาพบางด้านยังคงมีใกล้เคียงกับที่พบในสารสกัดของพริกแกง เช่น คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และคุณสมบัติการต้านความดันโลหิตสูงที่พบในน้ำแกงเลียง ในทางกลับกันพบว่าในน้ำแกงอาจมีคุณสมบัติบางด้านเพิ่มขึ้นเช่น คุณสมบัติการชะลอความชรา ที่พบในน้ำแกงป่าสูงกว่าสารสกัดพริกแกงเกือบเท่าตัว และพบว่าน้ำต้มยำ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการชะลอความชรา สำหรับคุณสมบัติด้านการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis ของน้ำแกงนั้น พบว่าน้ำแกงเลียงมีแนวโน้มในการชักนำให้เกิด Apoptosis ดีที่สุด ทั้งยังก่อให้เกิดการตายแบบ Necrosis ต่ำสุด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำแกงชนิดอื่นๆ โดยสรุปทั้งพริกแกงที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร หรือน้ำแกงพร้อมปรุงที่เตรียมจากพริกแกง ล้วนมีคุณสมบัติเชิงสุขภาพที่หลากหลาย และน่าสนใจที่จะนำไปศึกษาเชิงลึกให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

คำสำคัญ พริกแกง น้ำแกงไม่มีกะทิ การต้านการก่อลิ่มเลือด การสลายลิ่มเลือด การต้านอนุมูลอิสระ การลดความดันโลหิตสูง การชะลอความชรา และการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis

Abstract

Functional properties of selected Thai non-coconut curry pastes and their ready-to-cook products

‘Curry Paste’ is the unique way of Thai cooking. The combination of fresh herbs and spices not only provide aroma and flavour but also health benefits against some diet-related chronic diseases. However, this claim has never been proved scientifically. Therefore, this study aimed to determine the functional properties of water and/or ethanol extracts of 4 Thai curry pastes namely *Gaeng Pah*, *Gaeng Liang*, *Gaeng Som* and *Gaeng Leung* and their ready-to-cook non-coconut curry soup together with Tom Yum soup by using *in vitro* model. The water or ethanol extract of these curry pastes and soups were tested for 6 functional properties. They were Anti-thrombosis, Fibrinolytic activity, Antioxidant, Anti-hypertension, Anti-ageing and Apoptosis induction. It was found that Thai curry pastes and their products showed various functional properties. The buffer extract from *Gaeng Liang* curry paste showed distinctive activity in both anti-thrombosis and fibrinolytic property. The ethanol extract of all four curry pastes had great antioxidant activity. Both water and ethanol extract of *Gaeng Som* and *Gaeng Leung* curry pastes completely inhibited the ACE enzyme activity regarding to the anti-hypertension property. For anti-ageing property, the ethanol extract from *Gaeng Leung* curry paste showed the highest activity in Tyrosinase inhibitory activity. The study of ready-to-cook curry soup showed the lost of potency of some functional properties. For example, in contrast to its curry paste, *Gaeng Liang* had neither anti-thrombosis nor fibrinolytic property. Some properties remained the same potential whereas some showed greater potency in functional property after undergone the cooking process. The antioxidant property of curry soups was almost as potent as that of the extracts. For anti-hypertension property, the great potential of *Gaeng Liang* in the inhibition of ACE activity still remained the same. On the contrary, for anti-ageing property, *Gaeng Pah* curry soup showed almost twice as much of the Tyrosinase inhibitory activity compared to its curry paste extract. *Tom Yum* soup had the highest Tyrosinase inhibitory activity. For Apoptosis Induction, which tested in curry soup only, it was found that *Gaeng Liang* had the greatest potent compared to the other curry soups. Besides, *Gaeng Liang* also showed the minimal necrosis rate among the group.

Key Words : Curry pastes, non-coconut curry soup, Anti-thrombosis, Fibrinolytic activity, Antioxidant, Anti-hypertension, Anti-ageing, and Apoptosis induction.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
สารบัญเรื่อง	iii
สารบัญตาราง	iv
สารบัญภาพ	iv
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและความเป็นมา	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการ (Outputs)	3
บทที่ 2 เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ภาวะโรคไม่ติดต่อเรื้อรังและ Functional Foods	4
2.2 โรคหัวใจ หรือ Coronary heart disease (CHD)	7
2.3 โรคความดันโลหิตสูง (Hypertension)	11
2.4 โรคมะเร็ง	14
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย	17
3.1 ตัวอย่างอาหารในการทดลอง	17
3.2 การสกัดตัวอย่างอาหาร	17
3.3 การวิเคราะห์คุณค่าด้านสุขภาพ	18
บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล	26
4.1 คุณสมบัติด้านการก่อกัมเลือด (Anti-thrombosis activity)	26
4.2 คุณสมบัติการสลายลิ่มเลือด (Fibrinolytic activity)	30
4.3 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation activity)	32
4.4 คุณสมบัติการต้านความดันโลหิตสูง (Anti-hypertension)	35
4.5 คุณสมบัติชะลอความชรา (Anti-ageing)	39
4.6 คุณสมบัติการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Apoptosis Induction)	42
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	46
บรรณานุกรม	48
ภาคผนวก ก. ดำรับพริกแกงและน้ำแกงพร้อมปรุงที่ใช้ในโครงการ	57
ภาคผนวก ข. รายละเอียดของข้อมูลผลการศึกษาคุณสมบัติเชิงสุขภาพ	62

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 2.1 อัตราการตายต่อประชากร 100,000 คน จำแนกตามสาเหตุที่สำคัญ พ.ศ. 2542-2548	4

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 ภาพแสดงลักษณะเส้นเลือดปกติ A) Normal artery และเส้นเลือดที่ตีบ เนื่องจากมี plaque เกาะอยู่ B) Narrowing of artery	8
รูปที่ 2.2 ปฏิกริยาต่อเนื่องในการเกิดลิ่มเลือด (Coagulation cascade) (King,M.W.,2007)	9
รูปที่ 2.3 ระบบการสลายลิ่มเลือดของร่างกาย (Fibrinolytic system) (Crookston,K., 2007)	9
รูปที่ 2.4 ระบบการทำงานของ Renin-Angiotensin ที่ส่งผลต่อการควบคุมความดันโลหิต	12
รูปที่ 2.5 ตัวอย่างภาพถ่ายแสดงการติดสีของเซลล์ในขั้นต่างๆของการเกิด Apoptosis เริ่ม จากแถวล่างสุด Early Apoptosis ซึ่งติดเฉพาะสารเรืองแสงสีเขียว ไล่ขึ้นไป เรื่อยๆจนถึง late apoptosis หรือ necrosis ซึ่งติดสีทั้งเขียวและแดง	16
รูปที่ 3.3.1 ภาพซ้ายแสดงเครื่อง Coagulometer (AMELUNG KC1Δ) ภาพขวาแสดงถ้วย สำหรับทำปฏิกริยาในการเกิด fibrin พร้อมกับ ลูกโลหะ (Metal Ball) ที่ถูกจับ ไว้ด้วยเส้นใย Fibrin	18
รูปที่ 3.3.2 ภาพซ้ายแสดง Fibrin Plate ลิ่มเลือดจำลองในจานแก้ว(Petri dish) ภาพขวา แสดงตัวอย่างวงใสซึ่งเกิดจากการสลายตัวของ Fibrin ซึ่งเป็นผลจากสารสกัด ด้วยน้ำของกะปิ	20
รูปที่ 3.3.3 ปฏิกริยาในการทดสอบการทำงานของเอนไซม์ Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE)	21
รูปที่ 3.3.4 ปฏิกริยาการทดสอบการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase	23
รูปที่ 4.1.1 เวลาที่ใช้ในการก่อลิ่มเลือด (Thrombin Time) ของสารสกัดพริกแกง 4 ชนิด ด้วยบัฟเฟอร์และด้วย 70% เอทานอล โดยมีตัวทำลายสารสกัดคือ บัฟเฟอร์ เป็นกลุ่มควบคุม	27
รูปที่ 4.1.2 เวลาที่ใช้ในการก่อลิ่มเลือด (Thrombin Time) ของน้ำแกง 5 ชนิด โดยมีตัวทำ ละลายสารสกัดคือ น้ำกลั่น เป็นกลุ่มควบคุม	28

	หน้า
รูปที่ 4.2.1 (ซ้าย) การสลายของเส้นใยไฟบรินเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของ พริกแกงเลียง (ขวา) การสลายของเส้นใยไฟบรินเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดด้วย บัฟเฟอร์ของพริกแกงส้ม	30
รูปที่ 4.2.2 ตัวอย่างลักษณะเส้นใยไฟบรินซึ่งไม่เกิดการสลายตัวเมื่อทดสอบกับน้ำแกงทั้ง 5 ชนิด	31
รูปที่ 4.3.1 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging Activity, RSA) ของสารสกัดพริกแกง 4 ชนิด ด้วย 70% เอทานอล เทียบกับสารต้านอนุมูล อิสระ BHA เข้มข้น 1 มก./มล. (100 ppm)	33
รูปที่ 4.3.2 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging Activity, RSA) ของน้ำแกง 5 ชนิด เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระ BHA เข้มข้น 1 มก./มล. (100 ppm)	34
รูปที่ 4.4.1 ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ Angiotensin-I Converting enzyme; ACE (% ACE Inhibition) ของสารสกัดพริกแกง 4 ชนิด ด้วยน้ำและด้วย 70% เอทานอล เทียบกับประสิทธิภาพของยาต้านความดันโลหิต Captopril เข้มข้น 1 μ M	36
รูปที่ 4.4.2 ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ Angiotensin-I Converting enzyme; ACE (% ACE Inhibition) ของน้ำแกง 5 ชนิด เทียบกับประสิทธิภาพของยาต้าน ความดันโลหิต Captopril เข้มข้น 1 μ M	37
รูปที่ 4.5.1 ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase (% Tyr Inhibition) ของสารสกัดพริกแกง 4 ชนิด ด้วยน้ำและด้วย 70% เอทานอล เทียบ กับประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมเบนโซเอต เข้มข้น 5 mM	40
รูปที่ 4.5.2 ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase (% Tyr Inhibition) ของน้ำแกง 5 ชนิด เทียบกับประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมเบน โซเอต เข้มข้น 5 mM	41
รูปที่ 4.6.1 ความสามารถในการทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวตายแบบ Apoptosis ของน้ำ แกง 5 ชนิด เทียบกับยา Etoposide เข้มข้น 10 ug/ml , กลุ่มควบคุมคือเซลล์ที่เลี้ยง ด้วยอาหารปกติ (C-RPMI)	43
รูปที่ 4.6.2 สัดส่วนการเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวตายแบบ Apoptosis แล Necrosis ของน้ำแกง 5 ชนิดเทียบกับยา Etoposide เข้มข้น 10 ug/ml , กลุ่ม ควบคุมคือเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (C-RPMI)	44

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและความเป็นมา

กระแสโลกาภิวัตน์เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านเศรษฐกิจและสังคมในหลายประเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนา การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ส่งผล (กระทบทำ) ให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (ใน) การดำเนินชีวิตและการบริโภคอาหารของประชากร โดยนิยมบริโภคอาหารสำเร็จรูป/หรืออาหารสะดวกซื้อ รวมทั้งการกินอาหารนอกบ้านเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งการค้าเสรีและการแลกเปลี่ยนทางการค้ายังส่งผลให้สินค้าประกอบอาหารหลายชนิด เช่น น้ำมัน เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ได้แก่ นม เนย ไข่ไก่ ไข่ไก่ ในตลาดและมีราคาถูกกว่าในอดีต การบริโภคอาหาร (จำพวก) ไขมัน และเนื้อสัตว์จึงเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนั้นกระแสความนิยมวัฒนธรรมการกินอาหารจานด่วนแบบตะวันตกซึ่งมักเป็นอาหารที่มีไขมัน น้ำตาล และไขมันสูง ยังเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย (Trail W.B. 2006) อาหารเหล่านี้เป็นบ่อเกิดของภาวะโภชนาการเกินและโรคอ้วนในประชากร (ใน) ประเทศไทยก็ประสบกับการเปลี่ยนแปลงการบริโภคอาหารเช่นเดียวกัน รายงานการทบทวนงานวิจัยโดย Kosulwat 2002 แสดงให้เห็นว่าการบริโภคของคนไทยที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ มีความสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของภาวะโรคอ้วนในสังคมไทย โดยเฉพาะในสังคมเมือง

ภาวะโภชนาการเกินเป็นปัญหาสังคมที่สำคัญ เนื่องจากเป็นบ่อเกิดของโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Noncommunicable diseases; NCDs) ที่เป็นสาเหตุของการตายของประชากรในลำดับต้นๆ ข้อมูลจากองค์การอนามัยโลก(WHO,2003) รายงานว่า 60% ของประชากรโลกที่เสียชีวิตนั้นล้วนเป็นผลมาจากโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง สำหรับประเทศไทยตลอดระยะเวลาสิบปีที่ผ่านมาโรคไม่ติดต่อเรื้อรังเป็นสาเหตุการตายห้าอันดับแรกของประชากรและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้น โดยโรคที่สำคัญได้แก่ โรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง และโรคหลอดเลือดสมอง รวมทั้งมะเร็ง (กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ.2547 และ 2548) จากความตระหนักในการเพิ่มขึ้นของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังนี้ ทำให้เกิดความพยายามที่จะหาวิธีป้องกันการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังดังกล่าว รวมถึงการใช้อาหารในการป้องกันโรคหรือที่เรียกว่า Functional Food ขึ้น ในปัจจุบันการบัญญัติคำนิยามของคำว่า Functional Food โดยแต่ละองค์กร(จึงอาจนิยามคำนี้)ยังแตกต่างกันอยู่บ้าง แต่โดยทั่วไปแล้ว(มัก)ยอมรับกันว่าหมายถึง อาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกาย ในด้านที่นอกเหนือไปจากคุณค่าผลทางด้านโภชนาการทั่วไป

สำหรับคนไทย Functional Food อาจไม่ใช่เรื่องใหม่ เนื่องจากบรรพบุรุษไทยมีความรู้เกี่ยวกับสรรพคุณทางยาของพืช ผัก สมุนไพรเป็นอย่างดี และนำมาใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญสำหรับการปรุงอาหารไทยมาช้านาน เป็นที่น่าสนใจว่าสรรพคุณเชิงสุขภาพของสมุนไพรเหล่านี้ ที่มีกล่าวไว้ในตำราของไทยล้วนสอดคล้องกับผลการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์ในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามการจะทำให้คนทั่วไปยอมรับว่าอาหารไทยเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพหรือเป็น Functional Food นั้น

จำเป็นต้องมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์มาเป็นสนับสนุน ด้วยเหตุนี้คณะวิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาคุณสมบัติเชิงสุขภาพที่เกี่ยวข้องกับโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่กำลังเป็นปัญหาสำคัญในปัจจุบัน ทั้งนี้คณะวิจัยได้ริเริ่มการศึกษาดังกล่าว โดยได้รับความร่วมมือจากผู้ประกอบการน้ำพริกนิตยาและการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยในปี พ.ศ. 2548 ในการศึกษาคุณค่าเชิงสุขภาพของพริกแกง 4 ชนิด และอาหารไทยที่ปรุงจากพริกแกง(ดังกล่าว) โดยใช้วิธีการทดลองแบบ *in vitro* ซึ่งดำเนินการเสร็จสิ้นไปแล้ว จากการศึกษา(ดังกล่าว)พบว่าสารสกัดจากพริกแกงทั้ง 4 ชนิดที่นำมาทดสอบ (แกงเผ็ด แกงพะแนง แกงเขียวหวาน แกงมัสมั่น) ล้วนแต่มีคุณสมบัติเด่นที่แตกต่างกันไป ทั้งนี้ผู้ทรงคุณวุฒิ(วิจัย)และผู้ประกอบการร่วมทุน(น้ำพริกนิตยา) เห็นถึงความสำคัญของงานวิจัยดังกล่าว จึงเห็นควรที่จะให้คณะผู้วิจัย(สนใจที่จะ)ดำเนินการศึกษาต่อเนื่องในทำนองเดียวกันคือตรวจหาคุณสมบัติเชิงสุขภาพของอาหารไทยที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดและหัวใจ ความดันโลหิตสูง การต้านอนุมูลอิสระ ความชราและมะเร็ง โดยครั้งนี้มุ่งศึกษาพริกแกงสำหรับแกงชนิดไม่ใช่กะทิ ได้แก่พริกแกงป่า แกงเลียง แกงส้ม แกงเหลือง ซึ่งเป็นอาหารไทยอีกประเภทที่นิยมบริโภคเช่นกัน รวมทั้งศึกษาในผลิตภัณฑ์น้ำแกงพร้อมปรุงจากพริกแกงนั้นด้วยโดยเพิ่มน้ำดื่มย่ำซึ่งเป็นอาหารยอดนิยมขึ้นอีกหนึ่งชนิด ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับประโยชน์เชิงสุขภาพของอาหารไทยที่หลากหลายมากขึ้น ก่อนที่จะคัดเลือกอาหารบางชนิดที่มีศักยภาพสูงไปศึกษาในเชิงลึกและคาดว่าจะนำไปใช้เป็นประโยชน์เชิงพาณิชย์ในการสนับสนุนธุรกิจอาหารไทยได้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์ทั่วไป

วิเคราะห์ประโยชน์เชิงสุขภาพของสารสกัดด้วยน้ำหรือเอทานอลของพริกแกงป่า แกงส้ม แกงเหลือง แกงเลียง และผลิตภัณฑ์น้ำแกงพร้อมปรุงจากพริกแกงทั้งสี่ชนิดและน้ำต้มยำ โดยใช้การทดลองแบบ *in vitro*

วัตถุประสงค์เฉพาะ

1. ตรวจสอบคุณสมบัติเชิงสุขภาพของพริกแกงและผลิตภัณฑ์น้ำแกงที่สนใจ ได้แก่ การต้านการก่อลิ่มเลือด (Anti-thrombosis activity) การสลายลิ่มเลือด (Fibrinolytic activity) การต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant activity) การลดความดันโลหิตสูง (Anti-hypertension) การชะลอความชรา (Anti-ageing) การเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Induction of Apoptosis in Leukemia cell line)
2. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของคุณสมบัติเชิงสุขภาพ ระหว่างพริกแกงและผลิตภัณฑ์น้ำแกงพร้อมปรุง

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการ (Outputs)

ทราบคุณค่าเชิงสุขภาพของพริกแกงและผลิตภัณฑ์น้ำแกงพร้อมปรุง(อาหารไทย)ที่นำมาทดสอบ ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในการส่งเสริมหรือประชาสัมพันธ์ประโยชน์ของอาหารไทย ทั้งยังเป็นประโยชน์ในการใช้พิจารณาเลือกชนิดอาหารไทยหรือสมุนไพรในอาหารที่มีศักยภาพสูงในด้านประโยชน์ต่อสุขภาพ เพื่อการศึกษาวิจัยต่อไป

บทที่ 2 เอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง

2.1 ภาวะโรคไม่ติดต่อเรื้อรังและ Functional Foods

โรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่เกี่ยวข้องกับอาหารเป็นปัญหาสำคัญทั้งในระดับชาติและนานาชาติ ซึ่งนับวันจะทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้น จากรายงานการสำรวจล่าสุดของสำนักงานสถิติแห่งชาติพบว่าระหว่าง พ.ศ. 2542 – 2548 โรคไม่ติดต่อเรื้อรังเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้นๆที่ในประชากรไทย ทั้งยังมีการเพิ่มขึ้นของอัตราการตายเนื่องจากสาเหตุดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง (ตาราง 2.1) โรคไม่ติดต่อเรื้อรังนี้มักเกิดขึ้นพร้อมกับความเสื่อมของร่างกายและพบมากในผู้สูงอายุ แต่ก็ยังมีปัจจัยแวดล้อมอื่นๆที่สำคัญที่ช่วยกระตุ้นให้คนเป็นโรสดังกล่าวก่อนวัยอันควร ซึ่งรวมถึงการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการดำรงชีวิตที่เร่งรีบขึ้น ทำให้ขาดการใส่ใจในการกินอยู่ที่ดี การเพิ่มความนิยมในอาหารประเภทสะดวกซื้อและอาหารจานด่วนอย่างตะวันตก (Fast Foods) หรืออาหารขยะ (Junk Foods) อาหารเหล่านี้มักมีส่วนประกอบของ แป้ง ไขมัน และ/หรือน้ำตาลที่สูงเกินความต้องการของร่างกาย การกินอาหารเหล่านี้เป็นประจำ ทำให้ขาดความหลากหลายของชนิดอาหารที่ได้รับ และอาจมีผลทำให้กินผักและผลไม้ลดลง ซึ่งก่อให้เกิดความไม่สมดุลทางด้านโภชนาการและเป็นบ่อเกิดของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังเช่นโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง มะเร็งเป็นต้น โรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่เกี่ยวข้องกับอาหารเหล่านี้มักไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ เพียงแต่ควบคุมไม่ให้รุนแรงมากขึ้น หรืออาจรักษาได้ แต่ต้องใช้เวลานาน ทำให้สูญเสียค่าใช้จ่ายและบั่นทอนคุณภาพชีวิตทั้งของผู้ป่วยและครอบครัว ด้วยเหตุนี้สังคมจึงเริ่มตระหนักถึงความสำคัญในการป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรังดังกล่าว โดยให้ความสนใจบทบาทของอาหารในการป้องกันและรักษาสุขภาพให้แข็งแรงมากขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้เกิดกระแสนิยม Functional Food ในตลาดผู้บริโภคเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

ตาราง 2.1 อัตราการตายต่อประชากร 100,000 คน จำแนกตามสาเหตุที่สำคัญ พ.ศ. 2542-2548

สาเหตุการตาย	2542	2543	2544	2545	2546	2547	2548
มะเร็งทุกชนิด	58.6	63.9	68.4	73.3	78.9	81.3	81.4
โรคหัวใจ	49.9	31.9	30.3	24.6	27.7	26.8	28.2
ความดันเลือดสูงและโรคหลอดเลือดในสมอง	15.6	18.9	24.5	26.6	34.5	34.8	29.2

ที่มา : สำนักงานสถิติแห่งชาติ(พ.ศ.2549), รายงานสาเหตุการตาย(บางส่วน) โดยสำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข

Gibson and Williams, 2000 ได้สรุปคำนิยามของคำว่า Functional Food ไว้ที่น่าสนใจว่า อาหารที่จัดว่าเป็น “Functional Food” นั้น จะต้องสามารถแสดงให้เห็นได้ว่ามีฤทธิ์ต่อระบบการทำงานของร่างกาย ในแง่ที่เป็นประโยชน์ต่อการส่งเสริมสุขภาพที่ดีและ/หรือช่วยในการลดความเสี่ยงของโรคได้ ซึ่งต้องเป็นคุณสมบัติที่นอกเหนือไปจากผลของการได้รับสารอาหารที่เพียงพอโดยทั่วไป และที่สำคัญจะต้องคงสภาพของลักษณะอาหารอยู่ ไม่ว่าจะเป็น อาหารตามธรรมชาติ (Natural Food) อาหารที่มีการเสริมสารสำคัญที่เป็นประโยชน์ (Fortification) หรือที่มีการเอาสารที่เป็นโทษออกไป (Removal of harmful substances) รวมทั้งอาหารที่ถูกดัดแปลงเพื่อให้สารประกอบบางอย่างในอาหารนั้นเปลี่ยนแปลงไป

ประเทศที่ริเริ่ม Functional Food คือประเทศญี่ปุ่น โดยเริ่มตั้งแต่ช่วงต้น ค.ศ. 1980 (Hasler, 2004) ซึ่งอนุญาตให้ใช้เครื่องหมาย “FOSHU (Food for Specified Health use)” สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านการพิสูจน์แล้วว่าเป็นประโยชน์หรือมีองค์ประกอบที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพหรือช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค จากรายงานในปี 2003 ประเทศญี่ปุ่นมีผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่ได้รับเครื่องหมาย FOSHU ถึงกว่า 380 ผลิตภัณฑ์ โดยมีมูลค่าการตลาดสูงถึง 4.1 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ และคาดว่าจะกำลังขยายตัวเพิ่มมากขึ้น (Yamaguchi P., 2003) ประเทศทางตะวันตกก็ให้ความสนใจเกี่ยวกับ Functional Foods ไม่แพ้กัน เนื่องจากกลุ่มประชากรในยุค Baby Boom กำลังก้าวเข้าสู่วัยชรา และคนกลุ่มนี้ให้ความสำคัญกับเรื่องสุขภาพค่อนข้างมาก ในปี ค.ศ. 2006 มูลค่าการตลาดของ Functional Food ในประเทศสหรัฐอเมริกาประมาณไว้ว่ามีค่า 21.3 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ ในขณะที่มูลค่าของยุโรปมีค่า 8 พันล้านดอลลาร์สหรัฐ (In Datamonitor, 2007) ผลจากการเติบโตอย่างมากของตลาด Functional Food ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมากมายหลายรูปแบบ เช่น เครื่องดื่ม อาหารธัญพืช และอาหารเด็ก ผลิตภัณฑ์ขนมปัง ขนมอบ ผลิตภัณฑ์จำพวกนม เนย รวมถึงผลิตภัณฑ์จำพวกเนื้อสัตว์ และอาหารสัตว์ (Gibson and Williams, 2000) Functional Food ยังสามารถแบ่งเป็นกลุ่มตามคุณสมบัติหรือองค์ประกอบสำคัญที่ส่งผลต่อประโยชน์เชิงสุขภาพด้านต่างๆ ในปัจจุบันมีกลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

- กลุ่มเสริมเกลือแร่ และวิตามิน
- กลุ่มลดโคเลสเตอรอล
- กลุ่มใยอาหาร (dietary fiber)
- กลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ (prebiotics, probiotics and synbiotics)
- กลุ่มต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)
- กลุ่มสารพฤกษเคมี (phytochemicals)

- กลุ่มพืชสมุนไพร (herbs and botanicals)

เมื่อพิจารณาข้อมูลจากข้างต้น เห็นว่าพริกแกงของไทยน่าจะเข้าข่ายการเป็น Functional Food ได้ เนื่องจากประการแรกพริกแกงเป็นส่วนประกอบหนึ่งของอาหาร ประการที่สองพริกแกงทำขึ้นจากการนำเอาพืชสมุนไพรซึ่งมีสรรพคุณด้านการป้องกันหรือบรรเทาอาการของโรค มากกว่าหนึ่งชนิดมาโขลกรวมกันเป็นส่วนประกอบสำคัญ พืชสมุนไพรนี้นอกจากนี้เนื่องจากสรรพคุณที่มีระบุในตำราพื้นบ้านของไทยแล้ว หลายชนิดได้มีการศึกษาทางวิทยาศาสตร์จนทราบถึงสารพฤษเคมีที่สำคัญรวมทั้งฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในพืชสมุนไพรนั้นๆเป็นอย่างดี แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวเป็นการศึกษาสารสกัดของสมุนไพรเดี่ยวๆ ซึ่งต่างจากลักษณะของพริกแกงและอาหารไทย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาทางวิทยาศาสตร์กับพริกแกงและอาหารโดยตรงเพื่อให้ได้หลักฐานที่น่าเชื่อถือมาสนับสนุนประโยชน์ในฐานะการเป็น Functional Food ของพริกแกงและอาหารไทย

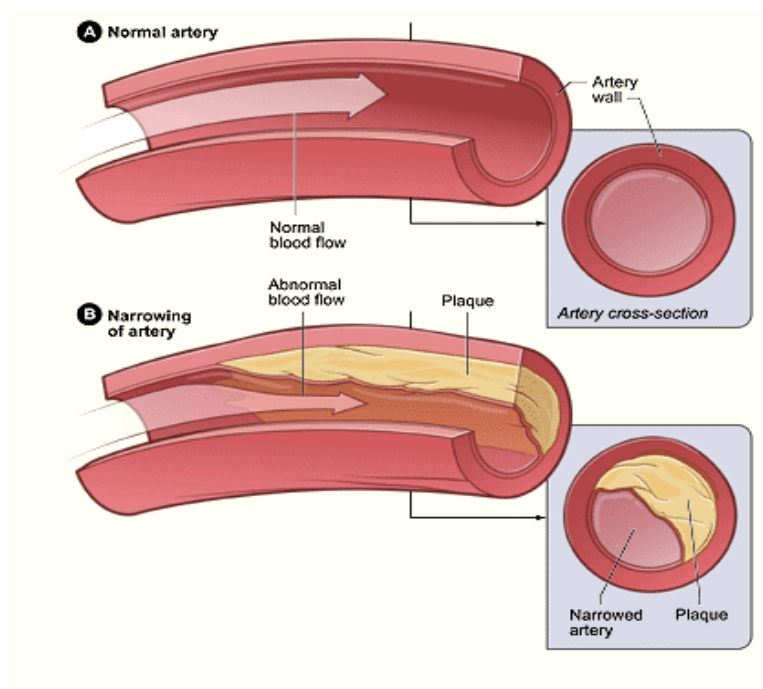
การศึกษานี้เป็นอีกหนึ่งความพยายามในการเริ่มต้นศึกษาหาข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อสนับสนุนการมีประโยชน์เชิงสุขภาพของพริกแกงและอาหารไทย โดยเฉพาะคุณสมบัติด้านที่เกี่ยวข้องกับโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่สำคัญและกำลังเป็นปัญหาทั้งระดับประเทศและนานาชาติ ได้แก่ โรคหลอดเลือดและหัวใจ ภาวะความดันโลหิตสูง รวมทั้งมะเร็ง ทั้งยังเพิ่มการศึกษาคุณสมบัติเชิงสุขภาพอีกสองประการคือ การต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีบทบาทในการป้องกันและควบคุมความรุนแรงของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังหลายโรค และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ในกลไกสร้างเม็ดสี ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์ทางอ้อมกับภาวะความชรา ในหัวข้อต่อไปนี้จะขอกล่าวถึงเฉพาะโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่สำคัญ อาหารหรือสารสำคัญที่พบว่ามีผลต่อการป้องกันโรคดังกล่าว รวมทั้งเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาคุณสมบัติเชิงสุขภาพที่เกี่ยวข้อง

2.2 โรคหัวใจ หรือ Coronary heart disease (CHD)

โรคหัวใจเป็นหนึ่งในสาเหตุหลักของการตายในประเทศไทย ปีพ.ศ. 2548 มีรายงานอัตราการเสียชีวิตของประชากรไทยด้วยโรคหัวใจสูงถึง 26.8 คนต่อประชากรแสนคน (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, พ.ศ.2549) สภาวะโรคหัวใจเกิดจากเส้นเลือดแดง (coronary) ที่มีหน้าที่ส่งผ่านเลือดและออกซิเจนไปหล่อเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ เกิดการติดขัด ถูกขัดขวาง จึงทำให้กล้ามเนื้อหัวใจไม่ได้รับเลือดอย่างพอเพียง เมื่อรุนแรงเข้าจะส่งผลให้กล้ามเนื้อหัวใจบางส่วนตาย (Myocardial Infarction) เนื่องจากการขาดออกซิเจนและสารอาหาร หัวใจจึงไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มที่

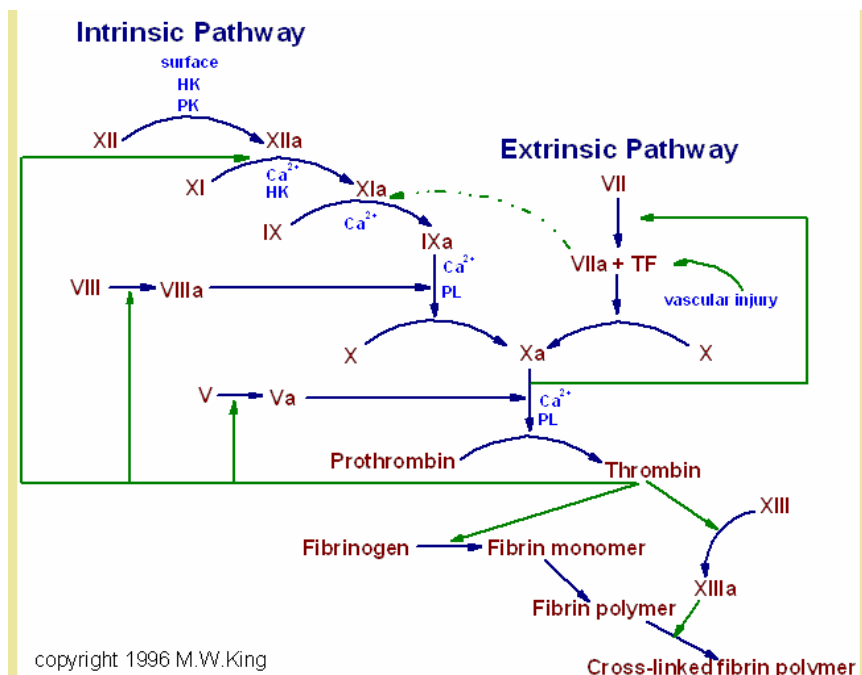
ปัจจัยเสี่ยงที่ส่งผลต่อการเกิดโรคหัวใจมีหลายประการ ทั้งปัจจัยที่เลี่ยงไม่ได้เช่น เพศ(ชาย) อายุ พันธุกรรม เชื้อชาติ และปัจจัยที่เลี่ยงหรือแก้ไขได้ เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ โรคอ้วน การขาดการออกกำลังกาย ภาวะไขมัน (โคเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์) ในเลือดสูง ระดับไลโปโปรตีนชนิด HDL ต่ำ เป็นต้น (Lovegrove and Jackson, 2000, Townsend CE. and Roth RA., 2002) โดยเฉพาะระดับโคเลสเตอรอลในเลือดนั้นพบที่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจเป็นอย่างมาก (Martin et al. 1986) ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ จึงควรให้ความสำคัญกับอาหารที่กิน โดยเฉพาะหลีกเลี่ยงอาหารที่มีไขมันและโคเลสเตอรอลสูง รวมถึงการออกกำลังกาย การควบคุมน้ำหนัก รวมทั้งการลดหรืองดบุหรี่และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

โรคหัวใจเป็นผลมาจากภาวะ Atherosclerosis ร่วมกับการเกิดลิ่มเลือด (Thrombosis) ในระบบการไหลเวียนของเลือด (Lovegrove and Jackson, 2000) Atherosclerosis คือ ภาวะที่เส้นเลือดที่เสียความยืดหยุ่น เกิดการแข็งตัว มีลักษณะขรุขระ และตีบ ซึ่งเป็นผลจากมีการสะสมไขมัน โคเลสเตอรอล แคลเซียมและสารอื่นที่ผนังด้านในของหลอดเลือด หรือที่เรียกว่า Plaque (Woteki and Thomas, 1992) (รูป 2.1) การเกิดไขมันสะสมในเส้นเลือดอาจเริ่มมีตั้งแต่ในวัยเด็ก ไขมันอาจสะสมพอกพูนเพิ่มขึ้นอย่างไม่รู้ตัวและไม่มีอาการบ่งชี้ใดๆ จนกระทั่งวัยล่วงเลยไปหลอดเลือดอาจตีบลงอย่างมากจนปรากฏอาการผิดปกติให้เห็น Atherosclerosis ที่เกิดขึ้นกับเส้นเลือดที่เกี่ยวข้องกับอวัยวะสำคัญของร่างกายจะก่อให้เกิดโรคที่แตกต่างกันไป เช่น หากเกิดกับเส้นเลือดที่ไปหล่อเลี้ยงสมอง ทำให้เซลล์สมองตายส่งผลให้เกิด Stroke หากเกิดกับเส้นเลือด Coronary ซึ่งเป็นเส้นเลือดที่หล่อเลี้ยงหัวใจทำให้เกิดโรคหัวใจ (Coronary Heart Disease) เป็นต้น

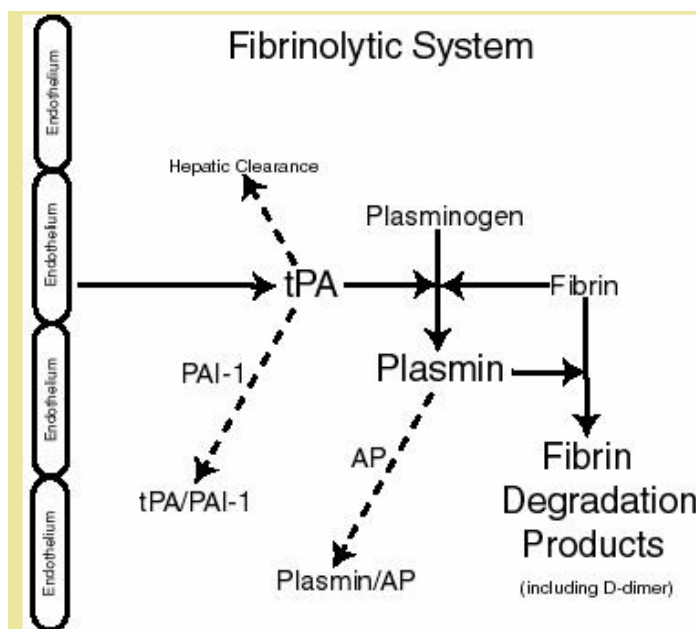


รูปที่ 2.1 ภาพแสดงลักษณะเส้นเลือดปกติ A) Normal artery และเส้นเลือดที่ตีบเนื่องจากมี plaque เกาะอยู่ B) Narrowing of artery

Thrombosisหรือการมีลิ่มเลือดในเส้นเลือด เป็นผลจากการที่ผนังหลอดเลือดบริเวณที่มี plaque เกาะอยู่ปริแตก เกิดเป็นบาดแผลขึ้น ร่างกายจะทำการสร้างลิ่มเลือดหรือ Thrombus มาเกาะ ณ บริเวณนั้น จึงทำให้ทางเดินเลือดบริเวณนั้นยิ่งแคบลง บางครั้งลิ่มเลือดดังกล่าวอาจหลุดจากบริเวณที่เกิดแล้วไหลไปตามกระแสเลือด จนกระทั่งไปอุดตันหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจหรือสมอง ก็จะทำให้เกิดโรคหัวใจหรือ Stroke ได้เช่นกัน ปฏิกริยาที่เกี่ยวข้องกับการสร้างลิ่มเลือดคือ Coagulation หรือการทำให้เลือดแข็งตัวนั่นเอง ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไก Hemostasis ที่มีหน้าที่ในการห้ามเลือดหรือลดการสูญเสียของเลือดเมื่อเกิดบาดแผล Coagulation ประกอบด้วยขั้นตอนย่อยๆต่อเนื่องกัน (รูปที่ 2.2) โดยขั้นสุดท้ายจะเป็นการทำงานของเอนไซม์ Thrombin ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับโปรตีน Fibrinogen ในพลาสมา เกิดเป็น Fibrin และจะสานต่อกันได้เป็นร่างแหโดยอาศัย Ca^{2+} และ clotting factor XIII ซึ่งจะยึดกันจนเกิดเป็นลิ่มเลือดหรือ Blood clot ขึ้น โดยปกติแล้วร่างกายจะมีกลไกที่คอยกำจัดลิ่มเลือดส่วนเกินภายหลังการเย็บบาดแผลที่เกิดขึ้นได้แล้ว ผ่านการทำงานของระบบสลายลิ่มเลือดหรือ Fibrinolytic system ดังรูป 2.3 โดยอาศัยเอนไซม์ plasmin ในการสลายร่างแหไฟบรินหรือลิ่มเลือดที่เกิดขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้ภายหลังการสลายลิ่มเลือดคือ Fibrin Degradation Products ซึ่งพบว่าสามารถที่จะไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ Thrombin ในการสร้างร่างแหไฟบรินกลับมาใหม่ได้ด้วย สังเกตจากมักพบภาวะการล่าช้าของการเกิดลิ่มเลือดนั้นพร้อมกับการทำงานของ Fibrinolysis ที่สูงขึ้น



รูปที่ 2.2 ปฏิกริยาต่อเนื่องในการเกิดลิ่มเลือด (Coagulation casecade) (King, M.W.,2007)



รูปที่ 2.3 ระบบการสลายลิ่มเลือดของร่างกาย (Fibrinolytic system) (Crookston,K., 2007)

จากสาเหตุของการเกิดโรคหัวใจดังกล่าวข้างต้น จะเห็นได้ว่าการป้องกันหรือควบคุมอาการโรคหัวใจอาจทำได้โดยการลดปัจจัยเสี่ยงที่ส่งเสริมการสะสมตัวของไขมันในเส้นเลือด การป้องกันการอุดตันของเส้นเลือดจากลิ่มเลือดซึ่งอาจทำได้โดยการยับยั้งการสร้างลิ่มเลือดไม่ให้เกิดขึ้นหรือการส่งเสริมการสลายลิ่มเลือดที่ไหลเวียนในกระแสเลือด การยับยั้งการสร้างลิ่มเลือดสามารถทำได้โดยให้ยา Anti-Coagulation ซึ่งจะทำงานโดยการขัดขวางขั้นตอนการเกิดร่างแหไฟบริน ไม่ว่าจะเป็นการยับยั้งการสร้าง clotting factor หรือ การเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของสารต้านการก่อลิ่มเลือดซึ่งมีอยู่แล้วในร่างกายตามธรรมชาติ แต่ยาเหล่านั้นมักมีผลเสียข้างเคียง (Fitzmaurice, D.A. et al. 2002) จึงมีความพยายามที่จะใช้สารจากธรรมชาติมาแทนที่ เช่น sulfated nonsulfated polysaccharides (Yoon et al., 2002) และ flavonoids (Guglielmone et al., 2002) รวมทั้งสารสกัดจากพืชตระกูลกระเทียมและหัวหอม เช่น Ajoene (Hassan, 2004) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ Allicin เป็นต้น การศึกษาหาคุณสมบัติที่ส่งผลต่อการก่อลิ่มเลือด ของสารใดๆสามารถทำได้อย่างง่ายโดยใช้เทคนิค Thrombin Time ซึ่งเป็นวิธีที่ปกติแล้วมักใช้เพื่อตรวจหาความผิดปกติที่เกิดกับระบบ Hemostasis ของร่างกาย มีหลักการคือการจับเวลาในการสร้างเส้นใยไฟบรินจากโปรตีนไฟบริโนเจน เทียบกับเวลาที่คนปกติใช้ (Hsieh et al., 2007) สำหรับการสลายเส้นใยไฟบรินนั้นพบว่าปัจจุบันมีความพยายามในการใช้เอนไซม์จากแหล่งธรรมชาติ เพื่อการบำบัดการอุดตันของเส้นเลือด เอนไซม์ดังกล่าวได้แก่ urokinase และ streptokinase เป็นต้น (Bode, C. et al. 1996) นอกจากนั้นยังพบว่าสารจากสมุนไพรบางชนิดอาจส่งผลต่อการสลายไฟบรินได้ เช่น พริก (Visudhiphan S. 1982) และกระเทียม (Bordia et al., 1998) การตรวจหาคุณสมบัติการสลายลิ่มเลือดนั้น วิธีที่นิยมใช้คือ Fibrin plate method ซึ่งเป็นวิธีที่แม่นยำ ไวและให้ผลชัดเจน มีหลักการง่ายๆโดยการจำลองร่างแหไฟบรินให้เกิดขึ้นแล้วนำสารที่ต้องการทดสอบหยดลงไป เพื่อสังเกตการสลายของร่างแห ทั้งนี้พื้นที่การสลายตัวของไฟบรินจะแปรผันตามประสิทธิภาพของสารนั้นๆ

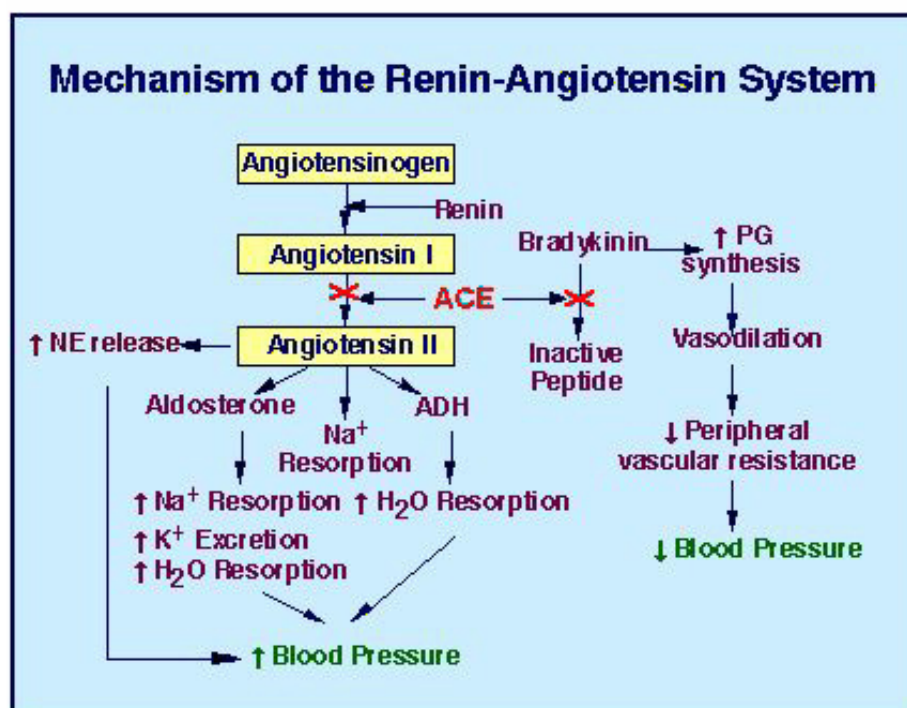
2.3 โรคความดันโลหิตสูง (Hypertension)

ภาวะความดันโลหิตสูงจัดได้ว่าเป็นหนึ่งในปัญหาเกี่ยวกับหลอดเลือดและหัวใจที่สำคัญ การละเลยที่จะรักษาภาวะดังกล่าวอาจพัฒนาไปสู่โรคไม่ติดต่อเรื้อรังอื่นๆที่สำคัญ ภาวะความดันโลหิตสูงจัดได้ว่าเป็นภัยเงียบ เนื่องจากผู้ที่มิภาวะดังกล่าวอาจไม่มีการใดๆแสดงออกมาให้เห็น จนกระทั่งทวีความรุนแรงมากขึ้น และในท้ายที่สุดอาจก่อให้เกิดภาวะ หัวใจวาย stroke และ โรคไต (Mahan LK., 1996)

ปกติแล้วความดันโลหิตสูงเป็นภาวะที่เกิดขึ้นพร้อมกับการมีอายุที่เพิ่มมากขึ้น สาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ส่งผลต่อการเกิดภาวะดังกล่าวคือ Atherosclerosis เนื่องจาก plaque ที่ก่อตัวหนาบริเวณผนังหลอดเลือดนั้นนอกจากจะเป็นตัวขัดขวางทางเดินของกระแสเลือดแล้ว ยังทำให้หลอดเลือดขาดความยืดหยุ่น ไม่สามารถหดหรือขยายตัวได้ดี ทำให้การส่งผ่านของเลือดเป็นไปอย่างไม่สะดวก หัวใจจึงจำเป็นต้องทำงานหนักขึ้นเพื่อที่จะดันให้เลือดไหลผ่านช่องดังกล่าวไปได้ ทำให้ความดันโลหิตเพิ่มสูงขึ้น หากสภาวะดังกล่าวยังคงมีต่อเนื่องจะส่งผลให้เกิดโรคความดันโลหิตสูง (Gordon, M.W., 1990, Woteki CE. And Thomas PR., 1992)

นอกจากอายุแล้วปัจจัยอื่นๆที่ส่งผลต่อความเสี่ยงในการเกิดโรคความดันโลหิตสูง ได้แก่ ความอ้วน การได้รับเกลือ (โซเดียม) ในปริมาณที่สูงเกินไป การดื่มแอลกอฮอล์ การขาดการออกกำลังกาย และผลของพันธุกรรม (Gordon, M.W., 1990, Woteki CE. And Thomas PR., 1992, Mahan LK., 1996) การเปลี่ยนแปลงรูปแบบการใช้ชีวิต โดยเฉพาะการรักษาสุขภาพให้สมบูรณ์แข็งแรง ออกกำลังกาย ควบคุมน้ำหนัก การเลือกกินอาหารที่ไขมันต่ำ ลดการกินเค็มจากเกลือและเครื่องปรุงรสต่างๆ ลดการดื่มแอลกอฮอล์ รวมทั้งควบคุมไม่ให้เกิดความเครียด มีส่วนอย่างมากในการลดความดันโลหิต

นอกจากการทำงานของหัวใจที่ส่งผลต่อการเพิ่มความดันโลหิตแล้ว ร่างกายยังมีอีกกระบวนการหนึ่งที่ควบคุมระดับความดันโลหิตของร่างกาย นั่นคือ Renin-Angiotensin system (รูป 2.4) เมื่อระดับน้ำนอกเซลล์ลดลง ความดันโลหิตลดลง จะกระตุ้นให้ไตหลั่งสารเรนิน (rennin) ออกมาและไปทำปฏิกิริยากับโปรตีน Angiotensinogen ได้เป็นโปรตีนที่เรียกว่า Angiotensin I ซึ่งจะถูกเอนไซม์ Angiotensin I-Converting enzyme, ACE ซึ่งพบได้ใน endothelial cell เปลี่ยนไปเป็นโปรตีน Angiotensin II ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มความดันโลหิตผ่านกระบวนการหลายด้าน ทั้งการกระตุ้นการบีบตัวของหลอดเลือด (vasoconstrictor) เพิ่มการดูดกลับของน้ำและเกลือแร่ผ่านการกระตุ้นการหลั่งสาร Aldosterone จาก adrenal Cortex ในไต เพิ่มการหลั่งของฮอร์โมนด้านการหลังปัสสาวะ (Anti-diuretic hormone) ในขณะเดียวกันเอนไซม์ ACE ยังส่งผลยับยั้งการทำงานของ Bradykinin โดยเปลี่ยนโครงสร้างให้อยู่ในรูปที่ไม่สามารถทำงานได้ ซึ่งโดยปกติแล้ว Bradykinin จะทำงานตรงข้ามกับ Angiotensin II คือทำให้เกิดการคลายตัวของหลอดเลือด (vasodilation) ทำให้ความดันโลหิตลดลง



รูปที่ 2.4 ระบบการทำงานของ Renin-Angiotensin ที่ส่งผลต่อการควบคุมความดันโลหิต
(ที่มา <http://www.ovc.uoguelph.ca/BioMed>, Ontario Veterinary College, University of Guelph)

เนื่องจากเอนไซม์ ACE มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเพิ่มความดันโลหิต ดังนั้นจึงมีการใช้สารยับยั้งการทำงานของ ACE เพื่อเป็นยาสำหรับการควบคุมความดันโลหิตในผู้ที่มีภาวะความดันโลหิตสูงทั้งที่มาจากธรรมชาติเช่น Teprotide ซึ่งได้จากพิษงู และสารที่ได้จากการสังเคราะห์เช่น Captopril และ enalapril เป็นต้น อย่างไรก็ตามสารสังเคราะห์นี้อาจมีผลข้างเคียงเช่น อาการไอ ผื่นผิวหนัง ก่อให้เกิดภาวะความดันโลหิตต่ำ ไตวายเฉียบพลัน เป็นต้น (<http://www.ovc.uoguelph.ca/BioMed>, 2007) เนื่องจากต้องการหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงที่เกิดจากการใช้สารสังเคราะห์ในการควบคุมภาวะความดันโลหิตสูง จึงมีความพยายามหาสารอื่นในธรรมชาติที่สามารถใช้ทดแทนสารสังเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากการค้นพบว่าสารเปปไทด์ที่ได้จากโปรตีนในอาหารบางชนิดมีฤทธิ์ในการต้านความดันโลหิตสูง (Li G-H, et al, 2004) ซึ่งเมื่อทำการทดสอบในสิ่งมีชีวิตไม่ก่อให้เกิดผลข้างเคียง ทำให้มีผู้สนใจและพยายามศึกษาอาหารเพื่อหาเปปไทด์ที่มีคุณสมบัติต้านความดันโลหิตสูงโดยศึกษาผลของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE อย่างมากมาย ตัวอย่างอาหารที่มีการศึกษาพบว่าเปปไทด์ที่ได้จากการย่อยโปรตีนของอาหารนั้นมีคุณสมบัติต้านการทำงานของเอนไซม์ ACE ได้แก่ เนื้อวัว (Jang and Lee, 2005) โปรตีน casein ในนม (Mizuno et al, 2004) ปลาซาดีน (Matsufuji, H, et al, 1994) ถั่วเหลือง (Wu and Ding, 2001, Lo Wendy et al, 2006) บร็อคคอลลี (Lee et al., 2006) กระเทียม (Suetsana et

al., 1998) หรือจากสาหร่ายได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาล wakame (Sato et al., 2002; Suetana et al., 2004) เป็นต้น

การศึกษาการทำงานของเอนไซม์ ACE สามารถทำได้หลายวิธีไม่ว่าจะเป็น Spectrophotometry (Cheung and Cushman, 1973, Matsui et al, 1992, Murray, et al, 2004), Fluorometry (Friedland and Silverstein, 1976), High-performance liquid chromatography (Doig and Smiley, 1993) และ Capillary electrophoresis (Zhang et al, 2000) โดยวิธี Spectrophotometry เป็นวิธีที่มักนิยมใช้เพื่อ การตรวจหาคุณสมบัติการต้านการทำงานของเอนไซม์ ACE ในเบื้องต้น เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่มีขั้นตอน ยุ่งยาก และไม่ต้องการเครื่องมือพิเศษ ซับซ้อน หลักการของการศึกษานี้เป็นการจำลองปฏิกิริยาของ ACE โดยอาศัยสารตั้งต้น (substrate) คือเปปไทด์สายสั้นๆที่มีหมู่จำเพาะสำหรับการทำงานของเอนไซม์ ACE เช่น Hippuryl Histidyl-Leucine (HHL) เมื่อเกิดปฏิกิริยา เอนไซม์ ACE จะตัดสายเปปไทด์ดังกล่าวออก เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สองชนิด ในกรณีที่ใช้ HHL เป็นสารตั้งต้น จะได้ผลิตภัณฑ์คือ Hippuric acid และ Histidyl-Leucine โดย Hippuric acid จะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ค่อนข้างจำเพาะและสามารถวัดปริมาณได้โดย อาศัยค่าการดูดกลืนแสงจำเพาะของสารชนิดนี้ (Cheung and Cushman, 1973)

2.4 โรคมะเร็ง

มะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งในประชากรไทย โดยในปีพ.ศ. 2548 ประชากรไทยเสียชีวิตด้วยมะเร็งในอัตรา 81.4 คนต่อประชากรแสนคน ซึ่งเพิ่มจากปีพ.ศ. 2542 มากกว่า 20% มะเร็งซึ่งเป็นการผิดปกติของการเจริญเติบโตของเซลล์มีมากกว่า 100 ชนิด เซลล์มะเร็งหรือ carcinoma มีรากฐานมาจากคำกรีก *karkinos* ซึ่งแปลว่าปู ซึ่งบัญญัติโดยนายแพทย์ชาวกรีกเพื่อบรรยายถึงลักษณะการแพร่กระจายของมะเร็ง ความผิดปกติของเซลล์นี้รวมถึงการแบ่งตัวที่มากกว่าปกติ การพัฒนาซึ่งแตกต่างไปจากเซลล์ปกติที่อยู่ข้างเคียง จะแย่งอาหารจากเซลล์ปกติในการหล่อเลี้ยงชีวิต และที่สำคัญ เซลล์มะเร็งมีความผิดปกติในระบบ Apoptosis ซึ่งเป็นกลไกการควบคุมการตายของเซลล์ตามธรรมชาติ ด้วยเหตุนี้เซลล์มะเร็งจึงทำให้สามารถแบ่งตัวไปได้เรื่อยๆและไม่ตาย มะเร็งมีสองชนิดคือ sarcomas และ carcinomas เซลล์มะเร็งที่เกิดจาก epithelial cells เช่น เซลล์ผิวหนัง และ เซลล์ที่มีการผลิตเยื่อเมือก (Mucus membranes) จะเรียกว่า carcinomas ส่วนเซลล์ที่เกิดจาก connective tissue เช่น กล้ามเนื้อ และกระดูก จะเรียกว่า Sarcomas ซึ่งมะเร็งชนิดนี้เป็นชนิดที่มีความรุนแรงสูง (Johnson, 2002) ในขณะนี้ ยังไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าอะไรเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง แต่ทราบว่ามีปัจจัยอะไรบ้างที่ส่งผลต่อความเสี่ยงที่จะเกิดมะเร็ง เช่น การสูบบุหรี่ รูปแบบการกินอาหารบางอย่าง การได้รับสารก่อมะเร็ง การได้รับรังสี แสงแดดหรือรังสียูวี การทำงานใกล้ชิดหรือสัมผัสกับสารที่เป็นอันตราย มลพิษทางน้ำและอากาศ พันธุกรรม โรคบางชนิด ไวรัส รวมถึงภาวะที่มีสารอนุมูลในร่างกายนสูง (Lawson, 1985, Townsend 2002)

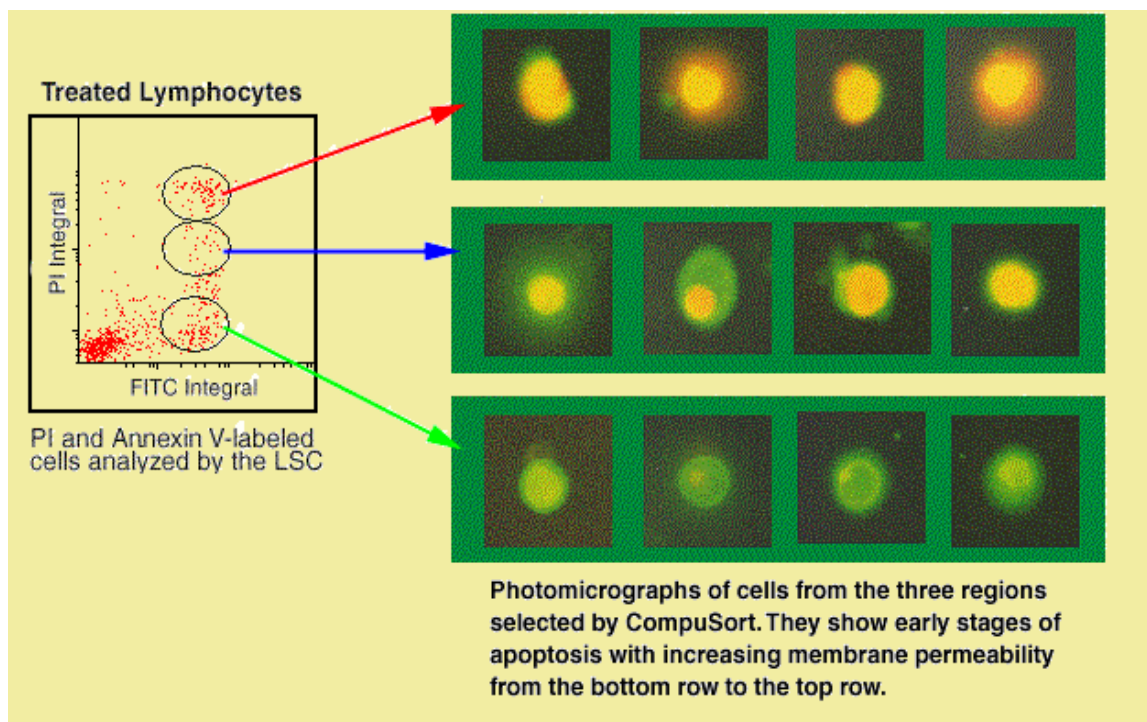
การเกิดมะเร็งประกอบด้วยขั้นตอนหลักสามขั้นตอนคือ Initiation (การเริ่มต้น) Promotion (การกระตุ้น) และ Progression (การพัฒนาไปเป็นมะเร็ง) ในขั้น Initiation อาจมีเพียงเซลล์ที่มีพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไป ไม่ว่าด้วยสาเหตุใดก็ตาม ต่อจากนั้นเกิดการแบ่งตัวและมีการถ่ายทอดความผิดปกติทางพันธุกรรมนั้นต่อไปยังเซลล์รุ่นใหม่ เซลล์เหล่านี้รวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนและเจริญเติบโตโดยอาศัยอาหารจากเซลล์ข้างเคียง ในระหว่าง Promotion มีการกระตุ้นให้เกิดความผิดปกติของพันธุกรรมอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมในตำแหน่งของยีนส์ที่ควบคุมการเกิดมะเร็ง ส่งผลให้เซลล์สูญเสียการควบคุมการแบ่งตัว (Differentiation) และการเจริญเติบโตมีความความรุนแรงมากขึ้น ในขั้นสุดท้ายคือ Progression มะเร็งมีการขยายตัว และแพร่กระจายไปยังจุดอื่นๆของร่างกาย การรักษาเมื่อนั้นมีหลายวิธีเช่นการผ่าตัด การให้เคมีบำบัด และการฉายรังสี แต่การรักษาดังกล่าวมักมีความรุนแรงและไม่เฉพาะเจาะจงทำให้เซลล์ปกติถูกทำลายไปด้วยในระหว่างการรักษา

ดังนั้นจึงมีความพยายามที่จะหาวิธีหรือสารสำคัญที่สามารถกระตุ้นกลไกการตายตามธรรมชาติ (Apoptosis) ในเซลล์มะเร็งให้กลับมาทำงานอีกครั้ง เนื่องจากการตายแบบ Apoptosis มีลักษณะที่สำคัญคือเป็นการทำลายเซลล์เฉพาะแต่ละเซลล์ เซลล์จะเกิดการหดตัว เส้นใยโครมาตินจับตัวกัน

หนาแน่น และองค์ประกอบภายในเซลล์จะสลายและแบ่งเก็บในถุงเล็กๆที่สร้างจากเยื่อหุ้มเซลล์ ทำยที่สุดจะถูกกินโดย Macrophage การตายลักษณะนี้ไม่ทำให้เกิดการอักเสบ ซึ่งจะต่างจากการตายอีกแบบคือ Necrosis ซึ่งเซลล์จะตายเป็นกลุ่ม โดยเซลล์จะบวมและแตก และเกิดแผลอักเสบบวมแดงในบริเวณที่เซลล์ตาย

การศึกษาวิจัยในพืชสมุนไพรหลายชนิดที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของอาหารไทยพบว่า มีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งที่เกิดขึ้นแล้วตายแบบ Apoptosis เช่น กระเทียมมีสารสำคัญคือ Allicin, Ajoene ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของ Allicin และ diallyl disulfide (Oommen et al., 2004, Hassan, 2004, Kwon et al., 2002) ข่ามีสารสำคัญคือ (1'S)-1'-acetoxychavicol acetate พบว่าสารนี้สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว myeloid leukemia ตายแบบ Apoptosis ได้ จึงส่งผลให้ลดอัตราการตายของหนูทดลองที่เป็น Leukemia และมีอาการภูมิคุ้มกันบกพร่องขึ้นรุนแรง (Ito et al., 2004) และพริกที่มีสารสำคัญคือ Capsaicin แสดงคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำให้เกิด Apoptosis ในเซลล์บางชนิดได้ เช่น การศึกษาในเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (Sa'nchez et al, 2006) แสดงให้เห็นว่า capsaicin และ capsazepine สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase ซึ่งเกี่ยวข้องในกระบวนการเกิด Apoptosis นอกจากนั้นยังพบว่าสารดังกล่าวสามารถชะลอการเจริญเติบโตของมะเร็งต่อมลูกหมากในหนูทดลองได้อีกด้วย

การศึกษาคูณสมบัติการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis นิยมศึกษาในเซลล์มะเร็ง โดยทำการเลี้ยงเซลล์ดังกล่าวด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ซึ่งผสมกับสารสกัดหรือสารที่ต้องการทดสอบ แล้วหาวิธีตรวจวัดการเกิด Apoptosis เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของเซลล์ดังกล่าวเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ตามปกติ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เทคนิค Annexin V staining assay ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถแบ่งแยกลักษณะการตายแบบต่างๆได้ มีหลักการคือ เซลล์ที่เกิด Apoptosis จะมีการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างโดย phosphatidylserine (PS) ที่เกาะอยู่กับ plasma membrane จะกลับด้านจากด้านในมาอยู่ด้านนอก ซึ่งสามารถที่จะติดฉลากอย่างจำเพาะกับโปรตีน Annexin V ได้ในสถานะที่มีไอออน Ca^{2+} อยู่ด้วย โดย Annexin V นี้จะเชื่อมกับสารเรืองแสงสีเขียว เมื่อใช้ควบคู่กับการย้อม Propidium Iodide (PI) ซึ่งย้อมติดสีแดงที่นิวเคลียสหากเซลล์มีการตายแบบ necrosis ทำให้สามารถแยกลักษณะการตายแบบต่างๆได้ คือ เซลล์ที่มีชีวิต จะไม่ติดสีใดๆ เซลล์ในขั้น Early Apoptosis จะติดแต่สารเรืองแสงสีเขียว เซลล์ในขั้น Late Apoptosis หรือ Necrosis จะติดสารเรืองแสงทั้งสีเขียวและสีแดง (ดังรูป 2.5) ลักษณะที่ปรากฏนี้สามารถตรวจวัดได้โดยใช้ Dual parameter flow cytometry (FACS) (www.hbt.nl)



รูปที่ 2.5 ตัวอย่างภาพถ่ายแสดงการติดสีของเซลล์ในชั้นต่างๆของการเกิด Apoptosis เริ่มจากแถวล่างสุด Early Apoptosis ซึ่งติดเฉพาะสารเรืองแสงสีเขียว ไล่ขึ้นไปเรื่อยๆจนถึง late apoptosis หรือ necrosis ซึ่งติดสีทั้งเขียวและแดง (ที่มา : <http://www.compucyte.com/images/apopart.gif>)

บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

3.1) ตัวอย่างอาหารในการทดลอง

ตัวอย่างในการศึกษานี้เตรียมขึ้นโดยผู้ประกอบการนำพริกนิตยา ตัวอย่างที่ทดสอบมีสองลักษณะคือ **พริกแกงจำนวน 4 ชนิด** ได้แก่ พริกแกงป่า แกงส้ม แกงเหลือง และแกงเลียง และ **ผลิตภัณฑ์น้ำแกงปรุงรสจำนวน 5 ชนิด** ได้แก่ น้ำแกงป่า แกงส้ม แกงเหลือง แกงเลียง และต้มยำ

ทั้งนี้พริกแกงแต่ละชนิดถูกเตรียมขึ้นสามซ้ำ ปริมาณซ้ำละ 300 กรัม โดยจะเก็บไว้ที่ -20°C สำหรับการสกัดและการวิเคราะห์ต่อไป สำหรับผลิตภัณฑ์น้ำแกงปรุงรสแต่ละชนิดเตรียมขึ้น 3 ซ้ำเช่นเดียวกัน โดย (ได้จากการนำพริกแกงที่เตรียมไว้ข้างต้นของแต่ละซ้ำมาปรุงเป็นผลิตภัณฑ์น้ำแกงปรุงรส โดยไม่มีการเติมน้ำเกลือหรือผัก สำหรับต้มยำนั้นมิเฉพาะน้ำแกงปรุงรส แต่ไม่มีพริกแกง เนื่องจากลักษณะของเครื่องต้มยำเป็นการใช้สมุนไพรเป็นชิ้นๆในการปรุง ผลิตภัณฑ์น้ำแกงที่ได้หลังจากการปรุงแต่ละซ้ำนั้น จะถูกนำมากรองเพื่อแยกเอากากออก และปั่นแยกโดยใช้ความเร็ว 10,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เอาเฉพาะน้ำแกงส่วนใสเก็บไว้ที่ -20°C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.2) การสกัดตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างพริกแกงแต่ละชนิดจะถูกนำมาสกัดด้วยน้ำ(หรือบัฟเฟอร์) และ 70% Ethanol เพื่อนำไปทดสอบคุณค่าด้านสุขภาพทั้ง 6 คุณสมบัติตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา ทั้งนี้บางคุณสมบัติอาจทดสอบกับสารสกัดเพียงอย่างเดียวหนึ่งตามความเหมาะสมและข้อจำกัดของวิธีการทดสอบคุณสมบัตินั้นๆ โดยจะชี้แจงระบุและไว้ในวิธีการวิเคราะห์ของแต่ละคุณสมบัติ

การสกัดตัวอย่างอาหารด้วยน้ำหรือบัฟเฟอร์

1. ชั่งตัวอย่างอาหารสด 2 กรัมใส่หลอด centrifuge ขนาด 50 มล.
2. สกัดตัวอย่างอาหารด้วยน้ำกลั่นหรือ 100 mM Tris Buffer Saline, pH 8.0 ปริมาตร 4 มล. (เทียบเท่ากับอัตราส่วน 1:2 w/v)
3. ปั่นด้วย homogenizer ที่ 13,500 rpm เป็นเวลา 1 นาที
4. แยกสารสกัดส่วนใสโดยปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 g ($\sim 10,000$ rpm) เป็นเวลา 20 นาที ณ อุณหภูมิ 4°C
5. เก็บสารสกัดไว้ที่ 4°C จนถึงเวลานำไปทดสอบ

การสกัดตัวอย่างอาหารด้วย 70% Ethanol

1. ชั่งตัวอย่างอาหารสด 2 กรัม ใส่หลอด centrifuge ขนาด 50 มล.
2. สกัดตัวอย่างอาหารด้วย 70% Ethanol ปริมาตร 4 มล. (เทียบเท่ากับอัตราส่วน 1:2 w/v)
3. ปั่นด้วย homogenizer ที่ 13,500 rpm เป็นเวลา 1 นาที
4. แยกสารสกัดส่วนใสโดยปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 g (~10,000 rpm) เป็นเวลา 20 นาที ณ อุณหภูมิ 4 °C
5. ระเหยสารสกัด Ethanol ที่ 50 °C ภายใต้สุญญากาศ
6. ละลายส่วนที่เหลือจากการระเหยด้วยน้ำกลั่น 4 มล. เก็บสารสกัดไว้ที่ 4 °C จนถึงเวลาจะนำไปทดสอบ

3.3) การวิเคราะห์คุณค่าด้านสุขภาพ

3.3.1) คุณสมบัติด้านการก่อกลิ้มเลือด (Anti-thrombosis activity)

การศึกษาคูสมบัติด้านการก่อกลิ้มเลือด ในที่นี้ใช้เทคนิค Thrombin Time (TT) assay คือเป็นการวัดเวลาที่ใช้ระหว่างการสร้างเส้นใย Fibrin ซึ่งเป็นขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการก่อกลิ้มเลือดของร่างกาย อันเป็นผลจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ Thrombin และโปรตีน Fibrinogen โดยเปรียบเทียบเวลาดังกล่าวของปฏิกิริยาเมื่อมีสารสกัดตัวอย่างอาหารในหลอดทดลองเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตัวทำละลายสารสกัด) เครื่องมือที่ใช้ในการวัด Thrombin Time เรียกว่า Coagulometer (AMELUNG KCI Δ) (รูปที่ 3.3.1) ซึ่งเป็นทั้งเครื่องควบคุมอุณหภูมิระหว่างทำปฏิกิริยา (37 °C) และเครื่องจับเวลา การศึกษาคูสมบัติด้านการก่อกลิ้มเลือดนี้ทดสอบกับ สารสกัดอาหารด้วยบัฟเฟอร์ สารสกัดอาหารด้วยเอทานอล และผลิตภัณฑ์น้ำแกง



รูปที่ 3.3.1 ภาพซ้ายแสดงเครื่อง Coagulometer (AMELUNG KCI Δ) ภาพขวาแสดงถ้วยสำหรับทำปฏิกิริยาในการเกิด fibrin พร้อมกับ ลูกโลหะ (Metal Ball) ที่ถูกจับไว้ด้วยเส้นใย Fibrin

ขั้นตอนการทดสอบ

- ใส่สารละลาย 2% fibrinogen (อุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 37°C) ปริมาตร 100 มล. ในถ้วยทำปฏิกิริยาซึ่งบรรจุลูกโลหะ ที่วางไว้ในหลุมจับเวลา (Rotating Well) ของเครื่อง Coagulometer และมีการควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 37°C ตลอดการทำปฏิกิริยา
- เลือกโปรแกรม APTT ของเครื่อง โดยเครื่องจะทำการนับเวลาถอยหลัง 60 วินาที เมื่อครบเวลาจึงเติมเอนไซม์ Thrombin เข้มข้น 100 มล./มล. ใน 0.18 M Boric acid Buffer (pH 7.5) - 0.1% CaCl₂ ปริมาตร 50 มล. ในถ้วยบรรจุ Fibrinogen ข้างต้น โดยใช้ Automatic pipette ที่มีสายส่งสัญญาณต่อกับเครื่อง เมื่อปล่อยสารจนหมดเครื่องจะเริ่มจับเวลาโดยอัตโนมัติ เมื่อเกิด Fibrin ขึ้นเส้นใยจะยึดลูกโลหะ ทำให้หยุดการเคลื่อนที่และเครื่องจะหยุดการจับเวลาโดยทันที
- เวลาที่แสดงบนหน้าจอ เป็นเวลาที่ใช้ในการเกิด Fibrin โดยการทำงานของเอนไซม์ Thrombin จึงเรียกว่า Thrombin Time มีหน่วยเป็นวินาที

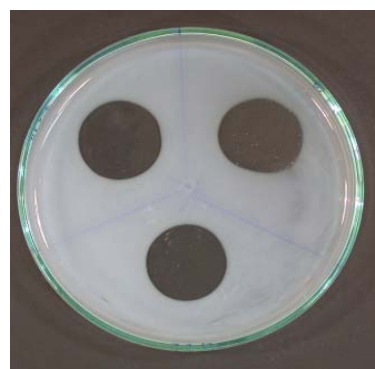
3.3.2) คุณสมบัติการสลายลิ่มเลือด (Fibrinolytic activity)

การศึกษาคุณสมบัติการสลายลิ่มเลือด มีหลักการตรงข้ามกับการศึกษาคุณสมบัติข้างต้น คือเป็นการจำลองลิ่มเลือดหรือเส้นใยไฟบรินขึ้นมาก่อนในจานแก้ว(Petri dish) แล้วสังเกตว่าสารสกัดอาหารสามารถสลายลิ่มเลือดหรือเส้นใยไฟบรินที่จำลองขึ้นมาได้หรือไม่ วิธีนี้เรียกว่า Fibrin Plate Assay) เนื่องจากเอธานอลมีผลต่อสารสำคัญที่มีคุณสมบัติดังกล่าว ในที่นี้จึงทำการศึกษาคุณสมบัติด้านการก่อลิ่มเลือดนี้กับสารสกัดอาหารด้วยบัฟเฟอร์ และผลิตภัณฑ์น้ำแกงเท่านั้น

ขั้นตอนการทดสอบ

สร้างเส้นใยไฟบรินขึ้นมาก่อนในจานแก้ว(Petri dish) โดยใส่สารละลายเอนไซม์ Thrombin (10 หน่วย/มล) ปริมาตร 4 มล. ลงบนจานแก้ว วนจานเบาๆเป็นวงกลมเพื่อให้เอนไซม์กระจายโดยทั่ว จากนั้นเติม 0.6% Fibrinogen ปริมาตร 8 มล. ลงกลางจานแก้ว อาจหมุนวนจานเบาๆอีกเล็กน้อยเพื่อให้สารกระจายไปทั่วบริเวณแล้วตั้งทิ้งไว้นิ่งๆ รอระยะเวลาให้สารทำปฏิกิริยากันจนทั่ว จนเห็นเป็นลักษณะคล้ายวุ้นสีขาวขุ่น ตั้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิห้องโดยแง้มฝาครอบเล็กน้อยเพื่อให้ผิวหน้า Fibrin แห้งหมาดพร้อมสำหรับการทดสอบ

เมื่อจะทดสอบให้หยดสารสกัดตัวอย่างอาหารปริมาณ 30 มก. ลงบนลิ่มเลือดจำลอง หากตัวอย่างอาหารสามารถสลายลิ่มเลือดได้จะเห็นเป็นวงใสเกิดขึ้น เปรียบเทียบขนาดวงใสเป็นตารางมิลลิเมตรที่เกิดภายหลังจากตั้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 3.3.2 ภาพซ้ายแสดง Fibrin Plate ลิ่มเลือดจำลองในงานแก้ว(Petri dish) ภาพขวาแสดงตัวอย่างวงใสซึ่งเกิดจากการสลายตัวของ Fibrin ซึ่งเป็นผลจากสารสกัดด้วยน้ำของกะปิ

3.3.3) คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation activity)

คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ สามารถทดสอบได้ด้วยหลายวิธีแต่ละวิธีอาจมีหลักการที่แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดอนุมูลอิสระและกลไกการต้านอนุมูลอิสระ ในที่นี้เลือกใช้การทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical Scavenging Activity) ด้วยเทคนิค DPPH ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจหาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระอย่างง่าย มีหลักการคือ α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl หรือ DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร เมื่อเตรียมในรูปสารละลายจะมีสีน้ำเงินเข้ม น้ำทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ สีน้ำเงินจะจางลงและกลายเป็นสีเหลือง การเปลี่ยนแปลงสีจะแปรผันตามประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้สามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิค Spectrophotometry

ขั้นตอนการทดสอบ

- ใส่สารละลายอาหารตัวอย่างหรือตัวควบคุม ปริมาตร 22 มก.ล. ลงในถาด 96 หลุม (96-well Plate)
- เติมสารละลาย DPPH ใน 80% Methanol เข้มข้น 150 μ M ปริมาตร 200 มก.ล. ในหลุมที่ใส่สารอาหารไว้
- บ่มไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด

ขั้นตอนการทดสอบ

- การใส่สารละลายเป็นไปตามตารางต่อไปนี้

	ปริมาตร (มก.)	
	หลอดควบคุม (BI)	หลอดปฏิกิริยา (Rx)
สารสกัดหรือ Inhibitor	50	50
0.3% Hip-His-Leu peptide	200	200
1.0 M HCl	300	-
บ่ม 37 °C เป็นเวลา 5 นาที		
0.33 Unit/ml ACE	50	50
บ่ม 37 °C เป็นเวลา 15 นาที		
1.0 M HCl	-	300
Ethyl acetate (สกัดแยกผลิตภัณฑ์)	3000	3000
เขย่าอย่างแรง เป็นเวลา 60 วินาที		
ปั่นแยกชั้นสารละลายที่ 5000 rpm เป็นเวลา 5 นาที		
ดูด Ethyl acetate (ชั้นบน)	2000	2000
ระเหยจนแห้งในอ่างน้ำร้อน 100 °C		
ละลายด้วยน้ำกลั่น	3000	3000
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 228 นาโนเมตร		

Inhibitor = สารละลาย Captopril 1 μ M

- คำนวณการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

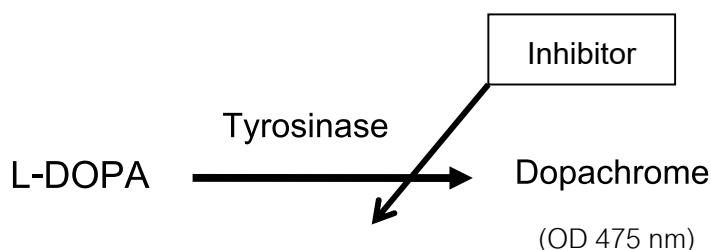
$$\% \text{ การยับยั้งการทำงาน} = \frac{(\text{Rx Control} - \text{BI Control}) - (\text{Rx Sample} - \text{BI Sample})}{(\text{Rx Control} - \text{BI Control})} \times 100$$

* Control คือ น้ำกลั่น

Positive Control คือ สารที่ใช้ในการลดความดันโลหิต Captopril เข้มข้น 1 μ M

3.3.5) คุณสมบัติชะลอความชรา (Anti-ageing)

การศึกษาคุณสมบัติชะลอความชราในที่นี้ เลือกใช้กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดสี (Melanogenesis) ซึ่งเป็นกลไกส่วนหนึ่งของความชรา โดยตรวจสอบสารสกัดอาหารที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase หรือ Tyrosinase Inhibitory assay ในสภาวะปกติเอนไซม์ชนิดนี้สามารถเปลี่ยน L-DOPA ให้กลายเป็น Dopachrome ซึ่งมีสีน้ำตาลคล้ำ และสามารถวัดการเกิดของผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ได้โดย Spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร (รูป 3.3.4) ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ จึงใช้เพื่อศึกษาความสามารถของสารสกัดตัวอย่างอาหารในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ โดยเทียบกับผลจากภาวะปกติหรือกลุ่มควบคุม(น้ำกลั่น)



รูปที่ 3.3.4 ปฏิกริยาการทดสอบการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase

ขั้นตอนการทดสอบ

- ใส่เอนไซม์ Tyrosinase 100 หน่วย/มล. ปริมาตร 0.3 มล. และสารสกัดตัวอย่างอาหาร 0.3 มล. ผสมในหลอดทดลองเดียวกัน
- นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 10 นาที
- หลังจากนั้นนำมาเติม 0.15 % L-DOPA ปริมาตร 0.3 มล. โดยทำในสภาวะเย็น (ในถาดน้ำแข็ง)
- นำไปบ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 20 นาที
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475nm ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer
- คำนวณการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{inhibition} = \frac{\text{OD}_{475} \text{ control} - \text{OD}_{475} \text{ sample}}{\text{OD}_{475} \text{ control}} \times 100$$

* Control คือ น้ำกลั่น

Positive Control คือ Sodium Benzoate ซึ่งเป็นสารกัน(เสีย/หืน/บูด)เข้มข้น 5 mM

3.3.6) คุณสมบัตินำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Apoptosis Induction)

การศึกษาคุณสมบัตินำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว Jurkat cells clone E6-1 (catalog No. TIB-152, ATCC) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ปกติและอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผสมสารสกัดตัวอย่างอาหารเปรียบเทียบอัตราการตายของเซลล์ระหว่างอาหาร 2 แบบ โดยมีกลุ่มควบคุม (Positive Control) คือสาร Etoposide (10 ug/ml) ที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเซลล์มะเร็งชนิดนี้ การติดตามเซลล์ที่เกิด Apoptosis หรือ Necrosis ทำโดยวิธี Annexin V staining Assay และ Dual parameter flow cytometry (FACS) เพื่อแบ่งแยกประเภทเซลล์ที่มีชีวิต และเซลล์ที่ตายด้วย Apoptosis หรือ Necrosis

ขั้นตอนการทดสอบ

- การเพาะเลี้ยงเซลล์ ด้วยอาหาร RPMI 1640 ซึ่งประกอบด้วย 10% fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine และ 1% penicillin-streptomycin ในสภาวะขึ้น ที่ 5% CO₂ ณ อุณหภูมิ 37 °C ในภาชนะเลี้ยงเซลล์ขนาด 25 ซม.² เซลล์ที่เจริญเติบโตเต็มที่ที่ได้รับการ subculture ทุกๆ 2-3 วัน
- คูดเซลล์ Jurkat ที่ระดับความหนาแน่น 3×10^5 เซลล์/มล. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 1640 ปริมาตร 950 มล. ลงในแต่ละหลุมของถาด 24 หลุม (24 –well plate)
- เติมสารละลายอาหารแต่ละชนิดปริมาตร 50 มล. ลงในแต่ละหลุมที่มีเซลล์อยู่ โดยให้ negative control มีแต่อาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ และ positive control เติม 10 มล./มล. ของ etoposide แทนตัวอย่างอาหาร
- บ่มเซลล์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิ 37 °C ที่สภาวะขึ้น 97% มี CO₂ 5%
- เมื่อครบเวลาเก็บเซลล์แต่ละหลุมมาปั่นที่ 13,400 rpm ณ อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 1 นาที เก็บเซลล์ไว้ทิ้งสารละลายส่วนใส
- ล้างเซลล์ด้วย PBS เย็น ปริมาตร 1 มล. นำไปปั่นที่ 13,400 rpm ณ อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 1 นาที ทำซ้ำสองครั้ง
- ทำเซลล์ให้แขวนลอยด้วยสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับทำปฏิกิริยา (1X assay buffer) ปริมาตร 100 มล. แล้วถ่ายใส่หลอด flow cytometry
- เติมสารละลาย Propidium Iodide (PI) เข้มข้น 0.05 มล./มล. ปริมาตร 1 มล. และ Annexin V-FITC เข้มข้น 0.02 มล./มล. ปริมาตร 0.5 มล.
- บ่มหลอดในความมืดเป็นเวลา 15 นาที

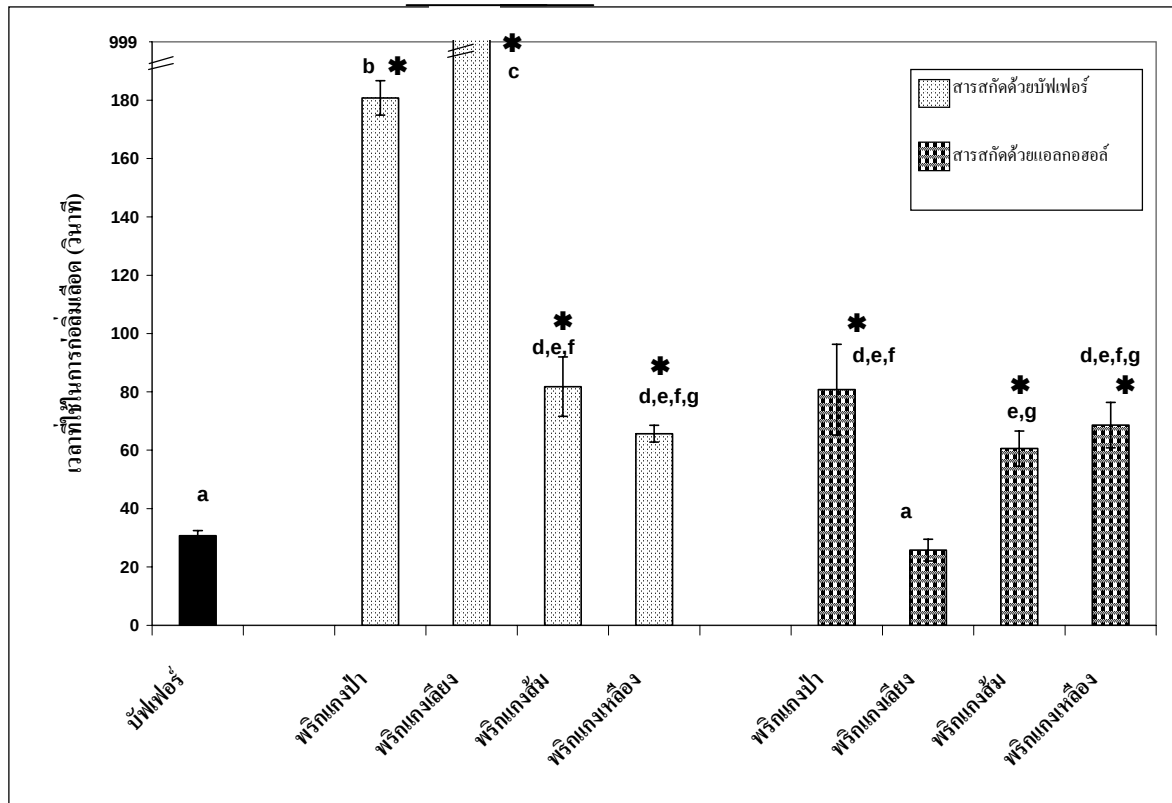
- เติมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับทำปฏิกิริยา (1X assay buffer) ปริมาตร 400 มล.ก.
- ตรวจสอบเซลล์ที่เกิด Apoptosis ทันทีด้วย Dual Parameter Flow Cytometry (FACS)
- การประเมินเซลล์ที่เกิด Apoptosis และ Necrosis
 หลักการคือเซลล์เมื่อเกิด Apoptosis เป็นผลให้ Phosphatidylserine ซึ่งอยู่บนพลาสมาเมมเบรนด้านในพลิกมาอยู่ด้านนอก ซึ่งสามารถติดตามได้โดยใช้โปรตีน annexin-V ที่ติดสารเรืองแสง เช่น Annexin V-FITC ซึ่งจะเห็นเป็นสีแดง ในขณะที่ลักษณะดังกล่าวไม่ปรากฏเมื่อเซลล์ตายแบบ Necrosis ส่วน Propidium Iodide (PI) เป็นสีที่ข้อมติกับดีเอ็นเอสายคู่ของสิ่งมีชีวิต สัดส่วนการข้อมติสีของ Annexin V-FITC และ PI จึงสามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการแยกชนิดของเซลล์ ดังนี้
 Annexin V-FITC⁻/PI⁻ แสดงถึงเซลล์ที่มีชีวิต
 Annexin V-FITC⁺/PI⁻ แสดงถึงเซลล์ที่เกิด Apoptosis ขั้นต้น
 Annexin V-FITC⁺/PI⁺ แสดงถึงเซลล์ที่อยู่ใน Apoptosis ขั้นสุดท้ายหรือ Necrosis ในขั้นสุดท้าย
 PI⁺ แสดงเซลล์ที่ตายด้วย Necrosis
 (เมื่อสัญลักษณ์ '+' หมายถึงการข้อมติสีนั้นๆ และ '-' หมายถึงไม่ข้อมติสีนั้นๆ)
- รายงานผลเซลล์ที่รอดชีวิต และที่ตายด้วย Apoptosis หรือ Necrosis เป็นร้อยละของจำนวนเซลล์ทั้งหมด

บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

4.1) คุณสมบัติด้านการก่อลิ่มเลือด (Anti-thrombosis activity)

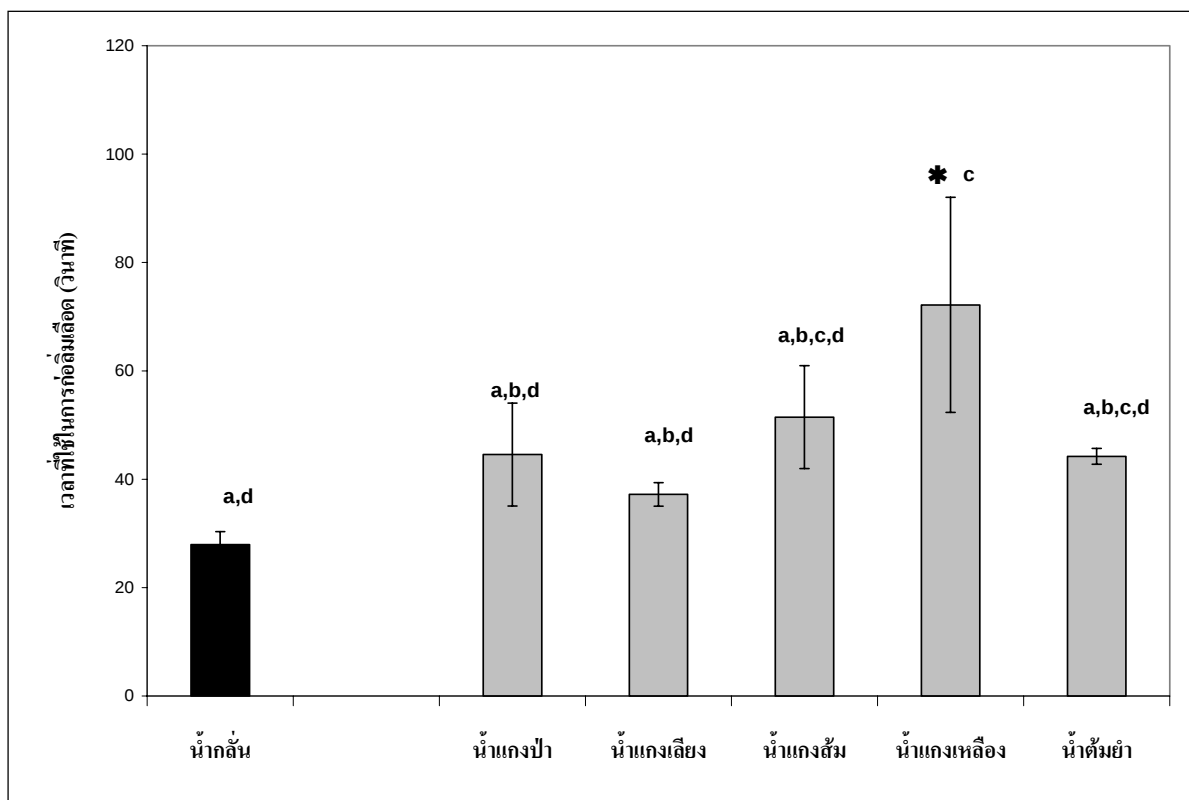
จากการทดสอบคุณสมบัติด้านการก่อลิ่มเลือดของสารสกัดด้วยบัพเฟอร์และสารสกัดด้วย 70% เอทานอลของพริกแกงทั้ง 4 ชนิด โดยเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการสร้างลิ่มเลือดจำลอง หรือ เส้นใยไฟบรินในหลอดทดลองเทียบกับกลุ่มควบคุมคือสารละลายบัพเฟอร์ซึ่งเป็นตัวทำลายสำหรับ สารสกัดทั้งสองกลุ่ม ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มควบคุม(บัพเฟอร์)ใช้เวลา 30.7 ± 1.7 วินาที ในการเกิดเส้นใยไฟบริน ส่วนสารสกัดพริกแกงทั้งที่สกัดด้วยบัพเฟอร์และสกัดด้วยเอทานอลนั้น ส่งผลชะลอการเกิดเส้นใยไฟบรินในหลอดทดลอง โดยใช้เวลานานกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ยกเว้นเพียงชนิดเดียวคือ สารสกัดพริกแกงเลียงด้วยเอทานอล (25.8 ± 3.7 วินาที) ที่ระยะเวลาในการเกิดเส้นใยไฟบรินไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (รูป 4.1.1) เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการด้านการก่อลิ่มเลือดของสารสกัดพริกแกงด้วยบัพเฟอร์กับสารสกัดพริกแกงด้วยเอทานอล พบว่าโดยรวมสารสกัดพริกแกงด้วยบัพเฟอร์สามารถชะลอเวลาในการเกิดเส้นใยไฟบริน ได้นานกว่าสารสกัดพริกแกงด้วยเอทานอล จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการด้านการก่อลิ่มเลือดได้แก่ สารสกัดพริกแกงเลียงด้วยบัพเฟอร์ โดยไม่พบว่าเกิดเส้นใยไฟบรินขึ้นในหลอดทดลองแม้เวลาผ่านไปกว่า 999 วินาที สารสกัดที่มีประสิทธิภาพรองลงมาได้แก่ สารสกัดพริกแกงป่าด้วยบัพเฟอร์ (180.8 ± 5.9 วินาที) ส่วนสารสกัดพริกแกงชนิดอื่นๆทั้งด้วยบัพเฟอร์และเอทานอลส่งผลชะลอการก่อลิ่มเลือดได้ใกล้เคียงกัน โดยใช้เวลาในการเกิดเส้นใยไฟบรินระหว่าง 60 – 80 วินาที (ภาคผนวก ข. ตารางที่ 1)

สำหรับการทดสอบคุณสมบัติด้านการก่อลิ่มเลือดของน้ำแกงทั้ง 5 ชนิด (รูปที่ 4.1.2) พบว่าน้ำแกงเหลือง (72.2 ± 19.9 วินาที) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการชะลอเวลาการเกิดเส้นใยไฟบริน และแตกต่างจากกลุ่มควบคุมคือน้ำกลั่น (28.0 ± 2.4 วินาที) อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนน้ำแกงชนิดอื่นๆได้แก่ น้ำแกงป่า น้ำแกงเลียง น้ำแกงส้ม และต้มยำนั้น ใช้เวลาในการเกิดเส้นใยไฟบรินใกล้เคียงกันโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 35 – 60 วินาที (ภาคผนวก ข. ตารางที่ 1)



รูปที่ 4.1.1 เวลาที่ใช้ในการก่อลิ่มเลือด (Thrombin Time) ของสารสกัดพริกแดง 4 ชนิด ด้วยบัฟเฟอร์และด้วย 70% เอทานอล โดยมีตัวทำลายสารสกัดคือ บัฟเฟอร์ เป็นกลุ่มควบคุม

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุม(บัฟเฟอร์)อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$, พหุคูณชนะที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)



รูปที่ 4.1.2 เวลาที่ใช้ในการก่อลิ่มเลือด (Thrombin Time) ของน้ำแกง 5 ชนิด โดยมีตัวทำละลายสารสกัดคือน้ำกลั่น เป็นกลุ่มควบคุม

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุม(บัฟเฟอร์)อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$, พหุคูณที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)

การที่สารสกัดด้วยบัฟเฟอร์และสารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแกงชนิดเดียวกัน มีประสิทธิภาพในการต้านการก่อลิ่มเลือดที่แตกต่างกันนั้น อาจสันนิษฐานได้ว่าสารสำคัญที่ถูกสกัดออกมาได้นั้นเป็นสารต่างชนิดหรือต่างกลุ่มกัน จากผลการศึกษาที่สารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงเลียงมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยไม่มีเส้นใยไฟบรินเกิดขึ้นเลยตลอดระยะเวลาการทดลอง องค์ประกอบสำคัญของพริกแกงเลียงที่น่าจะส่งผลดังกล่าวน่าจะเป็นกะปิซึ่งมีอยู่ในพริกแกงถึง 28.6% (ภาคผนวก ก.) ในขณะที่พริกแกงชนิดอื่นมีกะปิเพียง 8-14% ของน้ำหนักรวม กะปิเป็นอาหารประเภทหมัก มีรายงานการศึกษาทางวิทยาศาสตร์พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ในกะปิจะปล่อยเอนไซม์ออกมาในอาหาร เอนไซม์นี้มีฤทธิ์ในการย่อยสลายเส้นใยไฟบรินได้ (Mine et al., 2004) เช่นเดียวกับที่พบในอาหารหมักดองชนิดอื่นๆ ที่นิยมบริโภคในแถบเอเชีย เช่น Natto (ถั่วเหลืองหมัก, ถั่วเน่า) Tofuyo (เต้าหู้หมัก) Skipjack Shiokara (สัตว์ทะเลหมักเค็ม) (Sumi et al. 1995) นอกจากนั้นยังมี

Kimchi (ผักดอง) Douchi (ถั่วเหลืองหมัก) (Peng, et al., 2003) จึงเป็นไปได้ว่าเอนไซม์จากกะปิในสารสกัดบัพเฟอร์เป็นตัวขัดขวางไม่ให้ เอนไซม์Thrombin ที่มีหน้าที่สร้างไฟบรินทำงานได้ หรืออาจเป็นไปได้ว่าเอนไซม์จากกะปิย่อยสลายเส้นใยไฟบรินในขณะที่เอนไซม์ Thrombin กำลังทำงาน จึงทำให้ปฏิกิริยาไม่สามารถเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์จึงไม่สามารถสังเกตเห็นเส้นใยไฟบรินในหลอดทดลองได้ อย่างไรก็ตาม เอนไซม์จากกะปิอาจจะไม่ใช่เป็นสารสำคัญเพียงชนิดเดียวที่ส่งผลต่อคุณสมบัติด้านการก่อลิ่มเลือด เช่นที่พบในสารสกัดบัพเฟอร์ของพริกแกงป่าซึ่งมีสัดส่วนของกะปิที่น้อยที่สุด (8%) กลับใช้เวลาในการเกิดเส้นใยไฟบรินได้นานกว่า พริกแกงส้มและพริกแกงเหลือง อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเป็นผลจากการทำงานร่วมกันของสารสำคัญจากสมุนไพรและเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบของพริกแกง เช่น พริก กระเทียม และหัวหอมแดง เป็นต้น นอกจากความแตกต่างของสัดส่วนขององค์ประกอบในพริกแกงแต่ละชนิด ความแตกต่างของชนิดสมุนไพร เช่นการใช้พริกแห้ง พริกขี้หนูในแต่ละพริกแกง ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของสารสกัดพริกแกงในการด้านการก่อลิ่มเลือด

กรณีของน้ำแกงนั้น เอนไซม์จากกะปิ จะถูกทำลายด้วยความร้อนสูงในระหว่างการปรุงน้ำแกง จึงไม่น่าจะเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการด้านการเกิดเส้นใยไฟบริน จากผลการทดลองจะเห็นว่าเวลาที่ใช้ในการก่อลิ่มเลือด (เส้นใยไฟบริน) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม คือน้ำ ยกเว้นน้ำแกงเหลือง ที่นอกจากจะมีส่วนประกอบของ พริก กระเทียม หัวหอม ข่า ตะไคร้ ดังเช่นพริกแกงชนิดอื่นๆ แล้วยังมีส่วนประกอบเพิ่มขึ้นอีก 2 ชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน และส้มแขก ซึ่งคาดว่าสมุนไพรทั้งสองชนิดอาจให้สารสำคัญบางอย่างที่มีคุณสมบัติด้านการก่อลิ่มเลือดได้ ซึ่งอาจเห็นได้จากการเปรียบเทียบผลระหว่างสารสกัดของพริกแกงด้วยบัพเฟอร์ (รูป 4.1.1) กับส่วนของน้ำแกง (รูป 4.1.2) ทั้ง 4 ชนิด พบว่าความสามารถในการด้านการก่อลิ่มเลือดของน้ำแกงเหลืองไม่เปลี่ยนแปลง ขณะที่คุณสมบัติดังกล่าวของน้ำแกงอีก 3 ชนิด คือ น้ำแกงป่า น้ำแกงส้ม และน้ำแกงเลียงมีแนวโน้มลดลง

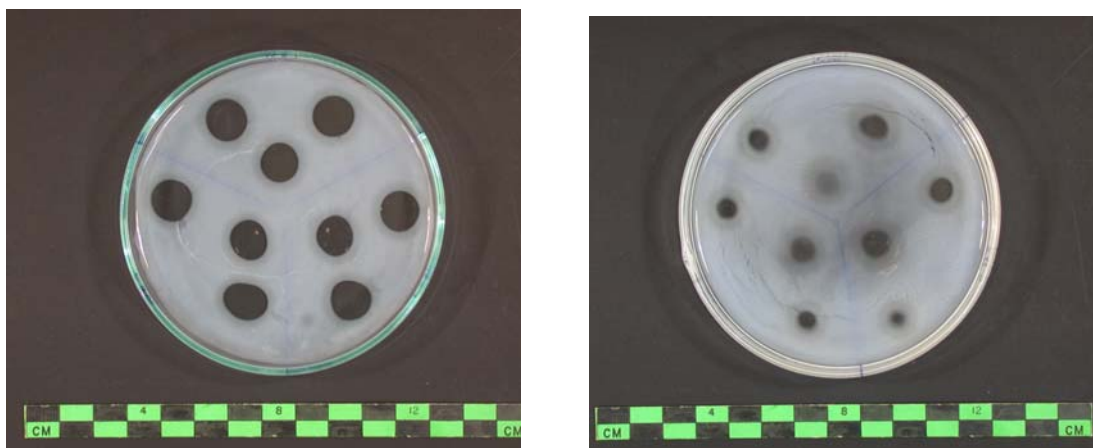
4.2) คุณสมบัติการสลายลิ่มเลือด (Fibrinolytic activity)

การศึกษาคุณสมบัติการสลายลิ่มเลือดนี้ ได้เลือกศึกษาเฉพาะสารสกัดพริกแกงด้วยบัฟเฟอร์ (0.1M Tris buffer saline, pH 8) เท่านั้น ไม่ได้ศึกษาสารสกัดพริกแกงด้วยเอทานอล เนื่องจากหลักการสลายเส้นใยไฟบรินซึ่งเป็นร่างแหโปรตีนนั้น หากไม่ใช้ความร้อน หรือสารละลายกรด-ด่างแล้ว มีเพียงเอนไซม์ชนิดที่มีคุณสมบัติการย่อยโปรตีนเท่านั้นที่จะสลายเส้นใยโปรตีนได้ และจากการศึกษาที่คล้ายคลึงกันโดยทดสอบกับสารสกัดด้วยเอทานอลของอาหารไทยซึ่งรวมทั้งน้ำพริกด้วย(สมศรีและคณะ,พ.ศ.2549)

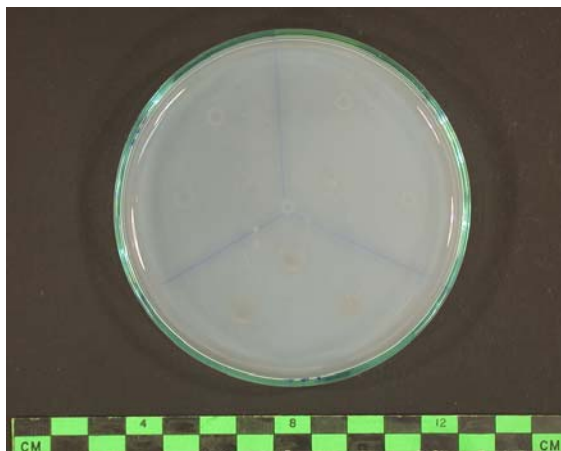
พบว่า สารสกัดเอทานอลของตัวอย่างอาหารที่ทดสอบทุกชนิด ไม่มีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด

ผลจากการศึกษาพบว่า มีเพียงสารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงเผ็ดและพริกแกงส้มเท่านั้น ที่แสดงคุณสมบัติการสลายเส้นใยไฟบรินได้อย่างชัดเจน(รูป 4.2.1) โดยพริกแกงเผ็ดมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า สังเกตได้จากพื้นที่วงใสที่เกิดขึ้น สารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงเผ็ดก่อให้เกิดวงใสที่ชัดเจน มีขนาดใหญ่ (121.0 ± 7.1 มม.²) ขณะที่สารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงส้มก่อให้เกิดวงใสขนาดเล็กกว่า (31.0 ± 4.2 มม.²)

สารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงอีกสองชนิด และน้ำแกงทั้ง 5 ชนิด (แกงป่า แกงเผ็ด แกงส้ม แกงเหลือง และต้มยำ) ไม่สามารถสลายเส้นใยไฟบรินได้ (รูป 4.2.2)



รูปที่ 4.2.1 (ซ้าย) การสลายของเส้นใยไฟบรินเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงเผ็ด
(ขวา) การสลายของเส้นใยไฟบรินเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงส้ม



รูปที่ 4.2.2 ตัวอย่างลักษณะเส้นใยไฟบรินซึ่งไม่เกิดการสลายตัวเมื่อทดสอบกับน้ำแกงทั้ง 5 ชนิด

งานศึกษาวิจัยจำนวนมากได้กล่าวถึงคุณสมบัติการสลายลิ่มเลือดของอาหารจำพวกหมักดองที่นิยมบริโภคในแถบทวีปเอเชีย ว่าเป็นผลมาจากเอนไซม์ที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการหมักดองอาหาร ดังที่ได้กล่าวถึงบ้างแล้วในหัวข้อคุณสมบัติการด้านการก่อลิ่มเลือด ตัวอย่างเอนไซม์ที่มีการศึกษาเช่น Nattokinase ใน Natto (ถั่วเหลืองหมัก) (Sumi et al, 1987) Katsuwokinase ใน Skipjack Shiokara (สัตว์ทะเลหมักเค็ม) (Sumi et al. 1995) นอกจากนั้นยังมีเอนไซม์ที่ได้จากซอสถั่วเหลืองของเกาหลี Chungkook-Jang Kimchi (Kim et al., 1996) และ Kimchi (ผักดอง) (Noh et al., 1991) ในปี ค.ศ. 2004 Mine et al. ทำการศึกษาโดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสลายเส้นใยไฟบรินของเอนไซม์ในอาหารหมักดองที่นิยมบริโภคในทวีปเอเชีย และพบว่าเอนไซม์จาก Shrimp paste หรือ กะปิมีประสิทธิภาพสูงกว่าเอนไซม์จากอาหารชนิดอื่นๆ

เมื่อพิจารณาส่วนประกอบของพริกแกงแต่ละชนิดในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าพริกแกงเลียงมีส่วนของกะปิมากที่สุดคือ 28.6% จึงไม่น่าแปลกใจที่สารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงเลียงจะแสดงประสิทธิภาพในการสลายเส้นใยไฟบรินได้ดีที่สุด รองลงมาคือพริกแกงส้มซึ่งมีส่วนของกะปิอยู่ถึง 13.6% สำหรับน้ำแกงนั้นเนื่องจากต้องผ่านการต้ม เอนไซม์จากกะปิจึงถูกทำลายและไม่สามารถทำหน้าที่ในการสลายเส้นใยไฟบรินได้ จึงไม่พบว่าน้ำแกงชนิดใดมีคุณสมบัติสลายลิ่มเลือด ซึ่งผลดังกล่าวเป็นไปในทำนองเดียวกันกับที่พบในการศึกษาของสมศรีและคณะ 2549 ซึ่งทดสอบสารสกัดแกงเลียง แกงเผ็ด แกงเขียวหวาน รวมทั้งต้มยำ ต่างก็พบว่าไม่สามารถสลายลิ่มเลือดได้

4.3) คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation activity)

ในการศึกษาครั้งนี้ ทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระกับสารสกัดด้วยเอธานอลเท่านั้น มิได้ทดสอบกับสารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ ทั้งนี้เนื่องจากมีปัญหาการตกตะกอนของสารสกัดตัวอย่างเมื่อทำปฏิกิริยากับระบบการทดสอบของ DPPH ซึ่งมีแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย จึงไม่สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดจากการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้

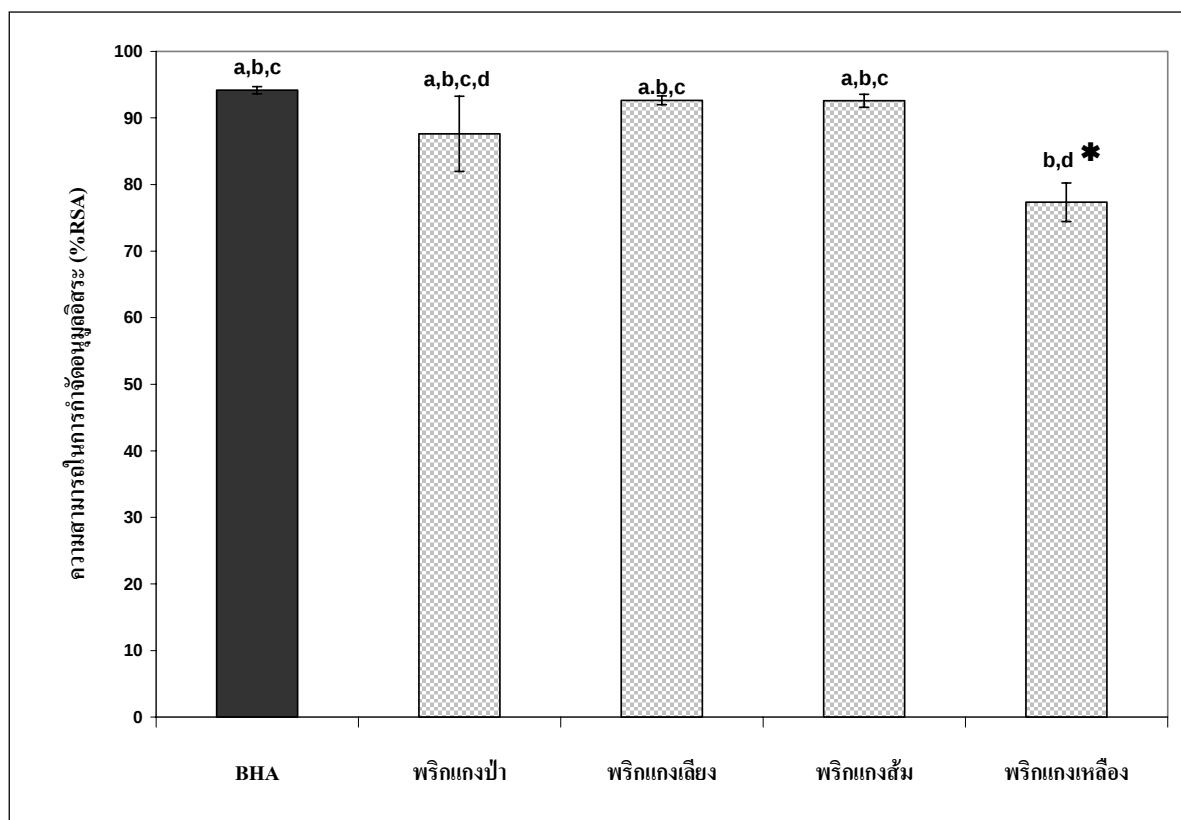
จากการทดสอบสารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแกงทั้ง 4 ชนิด โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารต้านอนุมูลอิสระ BHA เข้มข้น 1 มก./มล. (100 ppm) ซึ่งมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ถึง $94.2 \pm 0.5\%$ พบว่าสารสกัดของพริกแกงทั้ง 4 ชนิดสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีเทียบเท่ากับสารต้านอนุมูลอิสระ BHA (รูปที่ 4.3.1) โดยพริกแกงป่า ($87.6 \pm 5.6\%$) พริกแกงเลียง ($92.6 \pm 0.7\%$) พริกแกงส้ม ($92.6 \pm 1.0\%$) มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ส่วนพริกแกงเหลืองมีประสิทธิภาพน้อยที่สุดในกลุ่ม แต่ก็มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้สูงถึง $77.4 \pm 2.9\%$ (ภาคผนวก ข. ตารางที่ 2)

เมื่อทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำแกง 5 ชนิด เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระ BHA เข้มข้น 1 มก./มล. ผลที่ได้เป็นเช่นเดียวกับที่พบในสารสกัดด้วยเอธานอล นั่นคือน้ำแกงส่วนใหญ่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระที่ดีใกล้เคียงกับ BHA อย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 4.3.2) โดยน้ำต้มยำ ($91.6 \pm 1.9\%$) มีประสิทธิภาพสูงสุดในกลุ่ม รองลงมาคือน้ำแกงส้ม ($89.5 \pm 2.7\%$) น้ำแกงเลียง ($86.7 \pm 1.3\%$) น้ำแกงเหลือง ($83.0 \pm 5.9\%$) ตามลำดับ ส่วนน้ำแกงป่าพบว่ามีค่าต่างจากสารต้านอนุมูลอิสระ BHA อย่างมีนัยสำคัญ แต่ก็มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้สูงถึง $73.4 \pm 10.0\%$ (ภาคผนวก ข. ตารางที่ 2)

เป็นที่ยอมรับว่า สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ที่พบในอาหารจำพวกพืชสมุนไพรนั้น นอกจากเป็นกลุ่มสารอาหารจำพวกวิตามินแล้ว พืชสมุนไพรยังเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีอีกมากมายหลายชนิด สารเหล่านี้มักถูกสกัดออกมาได้ด้วยแอลกอฮอล์ และส่วนใหญ่มักจะมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน ตัวอย่างสารพฤกษเคมีที่สำคัญและมักพบในพืชสมุนไพรที่ใช้ประกอบอาหารได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบโพลีฟีนอล (Miean and Mohamed 2001, Nuutila et al., 2003, Materska and Perucka, 2005) สารพฤกษเคมีชนิดอื่นที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระรวมถึง capsaicinoid จากพริก (Rosa et al., 2002) สารประกอบซัลไฟด์ เช่น Allicin, diallyl disulphide และ diallyl trisulphide ที่พบในพืชตระกูล Allium เช่นกระเทียม และหัวหอมชนิดต่างๆ (Kim et al., 1997) สารประกอบ curcumin จากขมิ้น (Meghana et al., 2007 in press) การที่พริกแกงมีส่วนประกอบของพืชสมุนไพรหลายชนิดรวมกันทำ

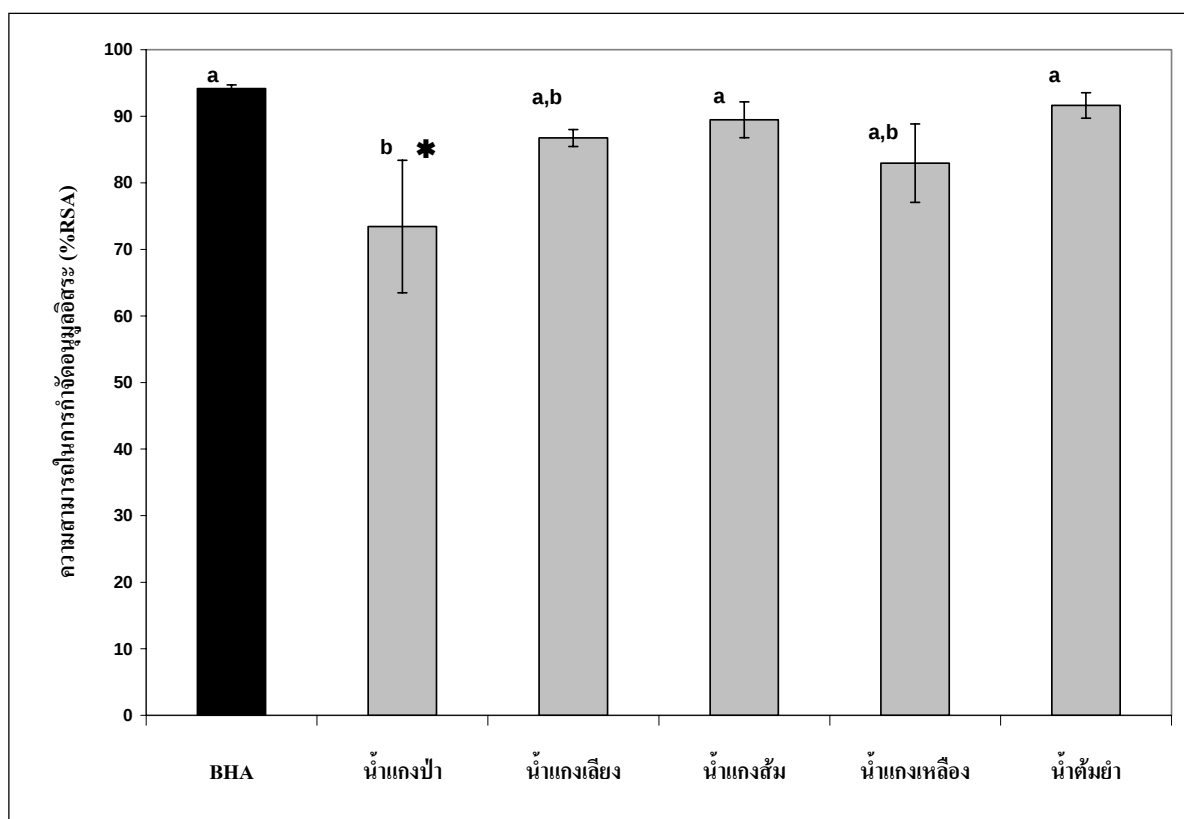
ให้มีสารต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลาย จึงไม่น่าแปลกใจที่พบว่าสารสกัดจากพริกแกงเหล่านี้จะมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี

วิตามินที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระบางชนิดไม่ทนต่อความร้อน เช่น วิตามินซีจึงมักจะสูญเสียไปในระหว่างการปรุงอาหารที่ใช้ความร้อนสูงเช่นการต้ม แต่ในการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำแกง ยังคงมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูง จึงอาจสันนิษฐานได้ว่าคุณสมบัติดังกล่าวน่าจะเป็นผลจากวิตามินอี และสารพฤกษเคมี ซึ่งมักจะทนต่อความร้อนได้ดีกว่า การศึกษาผลของความร้อนในการปรุงอาหารต่อคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของกระเทียมและหัวหอม พบว่าคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แม้ต้มกระเทียมและหัวหอมด้วยความร้อนสูงถึง 102 °C เป็นเวลา 30 นาที (Gazzani et al, 1998) นอกจากนี้การศึกษ ปริมาณฟลาโวนอยด์ในอาหารไทยโดย สมศรีและคณะ 2550 ยังแสดงให้เห็นว่าอาหารหลายชนิดแม้ว่าจะผ่านการปรุงแต่ก็ยังคงมีสารฟลาโวนอยด์อยู่มาก



รูปที่ 4.3.1 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging Activity, RSA) ของสารสกัดพริกแกง 4 ชนิด ด้วย 70% เอทานอล เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระ BHA เข้มข้น 1 มก./มล. (100 ppm)

*แตกต่างจากกลุ่มเปรียบเทียบ(BHA)อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$, พหุคูณชนะที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)



รูปที่ 4.3.2 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging Activity, RSA) ของน้ำแกง 5 ชนิด เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระ BHA เข้มข้น 1 มก./มล. (100 ppm)

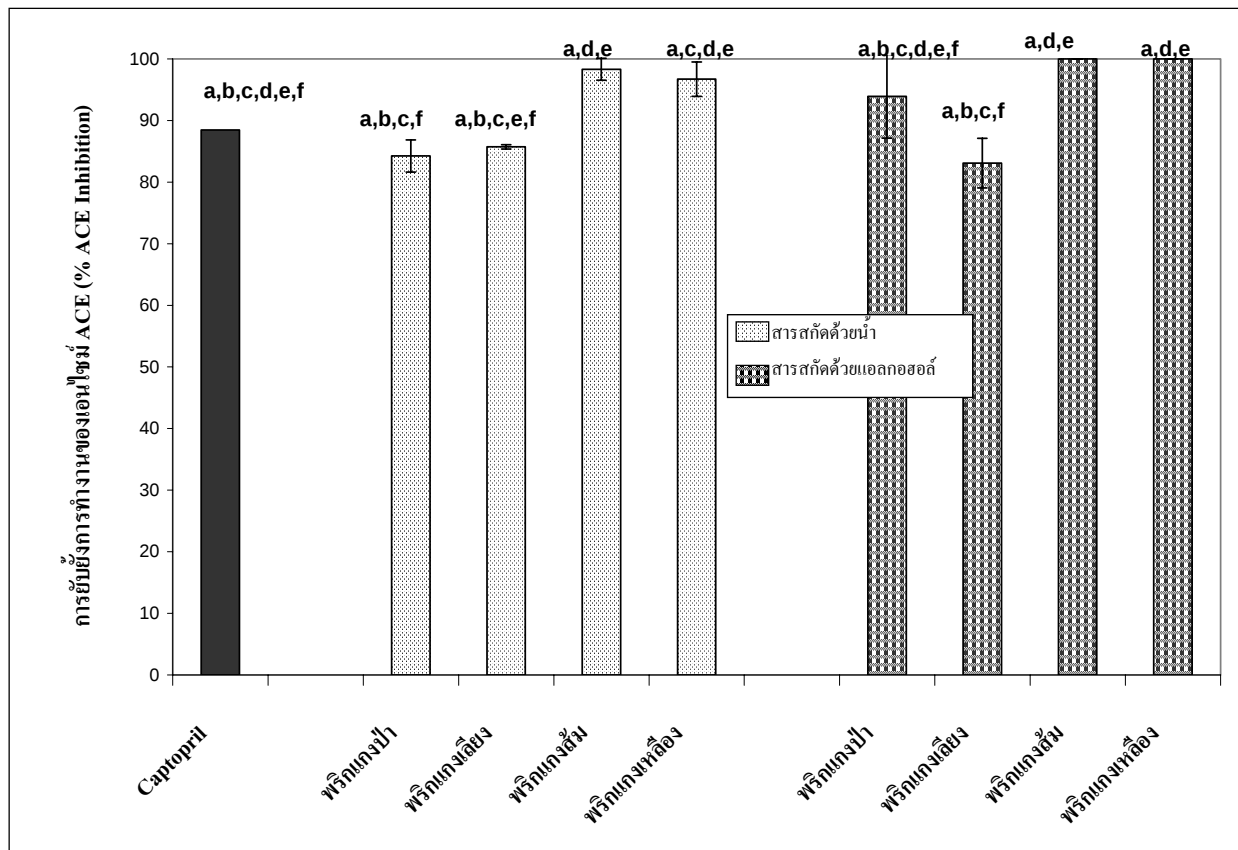
*แตกต่างจากกลุ่มเปรียบเทียบ(BHA)อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$, พหุคูณชนะที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)

4.4) คุณสมบัติการต้านความดันโลหิตสูง (Anti-hypertension)

กระบวนการทำงานของร่างกายที่ส่งผลต่อความดันโลหิตสูงมีหลายขั้นตอน หนึ่งในนั้นเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่เรียกว่า Angiotensin-I converting enzyme (ACE) ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะความดันโลหิตสูงขึ้น ดังนั้นในการศึกษาคุณสมบัติการต้านความดันโลหิตสูง จึงเลือกทดสอบสารสกัดพริกแดงและน้ำแกงว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดดังกล่าวได้หรือไม่

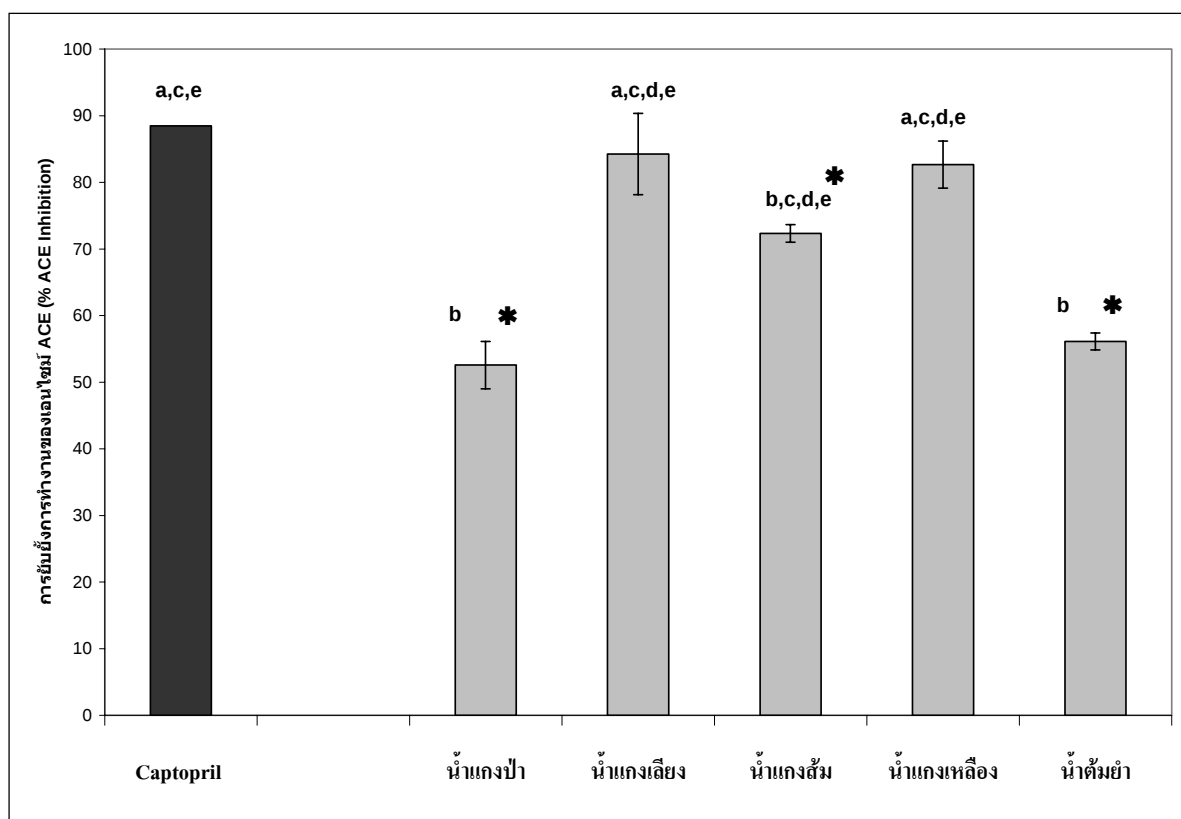
ผลจากการศึกษาสารสกัดพริกแดงทั้ง 4 ชนิดด้วยน้ำและด้วย 70% เอทานอลพบว่าสารสกัดทุกชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงและเทียบเท่ากับสาร Captopril ซึ่งเป็นยาในการต้านความดันโลหิตสูงที่มีการใช้อยู่ทั่วไปในปัจจุบัน (รูปที่ 4.4.1) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า Captopril เข้มข้น 1 μM สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ถึง $88.5 \pm 0.3 \%$ ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำของพริกแดงป้าและพริกแดงเลียงมีค่าประมาณ 85% ส่วนสารสกัดด้วยน้ำของพริกแดงส้มและพริกแดงเหลืองมีค่าสูงกว่าเล็กน้อยคือประมาณ 97% (ภาคผนวก ข. ตารางที่ 3) ผลทดสอบของสารสกัดด้วย 70% เอทานอลของพริกแดงเป็นไปในทำนองเดียวกันกับผลของสารสกัดด้วยน้ำ นั่นคือสารสกัดด้วยเอทานอลของพริกแดงส้มและพริกแดงเหลืองมีค่าสูงสุดในกลุ่ม ในที่นี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้อย่างสมบูรณ์

ผลจากการศึกษาน้ำแกง 5 ชนิดต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE พบว่า มีประสิทธิภาพโดยรวมต่ำกว่าของสารสกัดพริกแดง โดยมีค่าประมาณอยู่ระหว่าง 50 – 85% (รูปที่ 4.4.2) น้ำแกงที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในกลุ่มได้แก่น้ำแกงเลียง ($84.3 \pm 6.1\%$) และน้ำแกงเหลือง ($82.7 \pm 3.5\%$) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ รองลงมาคือ น้ำแกงส้ม ($72.3 \pm 1.3\%$) น้ำต้มยำ ($56.1 \pm 1.3\%$) และน้ำแกงป้า ($52.6 \pm 3.6\%$) ตามลำดับ (ภาคผนวก ข. ตารางที่ 3)



รูปที่ 4.4.1 ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ Angiotensin-I Converting enzyme; ACE (% ACE Inhibition) ของสารสกัดพริกแกง 4 ชนิด ด้วยน้ำและด้วย 70% เอทานอล เทียบกับประสิทธิภาพของยาต้านความดันโลหิต Captopril เข้มข้น 1 μ M

พหุคูณะที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)



รูปที่ 4.4.2 ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ Angiotensin-I Converting enzyme; ACE (% ACE Inhibition) ของน้ำแกง 5 ชนิด เทียบกับประสิทธิภาพของยาต้านความดันโลหิต Captopril เข้มข้น 1 μ M

*แตกต่างจากกลุ่มเปรียบเทียบ(Captopril)อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$, พหุคูณชนะที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)

การศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE นั้นส่วนใหญ่มักเป็นการศึกษาสารจำพวกเปปไทด์สายสั้นๆ ที่ได้จากการย่อยสลายอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีน ทั้งประเภทเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ได้แก่ เนื้อวัว (Jang and Lee, 2005) โปรตีน casein ในนม (Mizuno et al, 2004) และประเภทพืช ได้แก่ ถั่วเหลือง (Cha and Park, 2005) บร็อกคอลลี (Lee et al., 2006) กระเทียม (Suetsana et al., 1998) หรือจากสาหร่ายได้แก่ สาหร่ายสีน้ำตาล wakame (Sato et al., 2002; Suetana et al., 2004) การศึกษาเปปไทด์จากอาหารเหล่านี้ทั้งในหลอดทดลองและในสิ่งมีชีวิต พบว่าเปปไทด์ดังกล่าวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE และลดความดันโลหิตสูงได้ ดังนั้นการที่พบว่าสารสกัดด้วยน้ำของพริกแกงเลียง รวมทั้งแกงเลียงมีประสิทธิภาพสูงในการต้านการทำงานของเอนไซม์ ACE นั้น เป็นไปได้ว่าอาจเกิดจากเปปไทด์ของกะปิ ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนหลักของพริกแกงเลียง ทั้งนี้เปปไทด์ดังกล่าวอาจเป็นผลจากการทำงานของ

เอนไซม์ที่มีความเกี่ยวข้องกับการสลายเส้นใยไฟโบรในคุณสมบัติสลายลิมเลือด หรืออาจเป็นผลของเอนไซม์โปรตีเอสชนิดอื่นๆที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์ในกะปี้ก็ได้ อย่างไรก็ตามในขณะนี้ยังไม่มีงานวิจัยใดที่ศึกษาและให้คำตอบสำหรับประเด็นนี้

เปปไทด์อาจจะไม่ใช่สารสำคัญเพียงประเภทเดียวที่ส่งผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE อย่างไรก็ตามยังมีงานวิจัยบางส่วนที่ศึกษาสารสกัดด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ของผลไม้บางชนิด และพบว่าสารสกัดนั้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE ได้เช่น สารสกัดจากผลกีวี (Jung et al., 2005) ในการศึกษาที่สารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแองแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE ได้เช่นเดียวกับที่พบในสารสกัดด้วยน้ำ แต่ไม่แน่ชัดว่าผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE นั้นจะเกิดจากเปปไทด์ เนื่องจากแอลกอฮอล์มีคุณสมบัติในการตกตะกอนโปรตีน จึงอาจเป็นไปได้ว่าแอลกอฮอล์สามารถสกัดเอาสารสำคัญชนิดอื่นๆจากสมุนไพรที่เป็นองค์ประกอบของพริกแอง

จากการทบทวนเอกสารงานวิจัยพบว่ามีงานวิจัยบางส่วนที่แสดงให้เห็นว่าสารพฤกษเคมีจากพืชบางชนิดมีคุณสมบัติด้านความดันโลหิตสูง เช่น สารสกัดจากกระเทียม (Orekhov and Grunwald, 1997) และ หัวหอม (Yamamoto, 2005) จึงสันนิษฐานได้ว่าคุณสมบัติการด้านความดันโลหิตสูงที่พบในสารสกัดด้วยเอธานอล อาจเป็นผลจากกระเทียมและหัวหอมซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของพริกแอง นอกจากนี้ การศึกษาโดย Venkatesan 1999 แสดงให้เห็นว่า curcumin ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในขมิ้น มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณ ACE ในปอดของหนูทดลองที่ได้รับสารกำจัดวัชพืช แม้ว่าจะยังไม่มี การสรุปถึงบทบาทของ curcumin ในการลดความดันโลหิตสูงโดยตรง แต่จากงานวิจัยนี้อาจสันนิษฐานได้ว่า curcumin อาจมีส่วนสำคัญที่ส่งผลในการลดความดันโลหิตสูง โดยเห็นได้จากคุณสมบัติที่สูงของสารสกัดจากพริกแอง เหลืองและในน้ำแกงเหลืองพร้อมปรุงอย่างใดก็ตามจำเป็นต้องมีหลักฐานสนับสนุนมากกว่านี้ก่อนที่จะสรุปได้

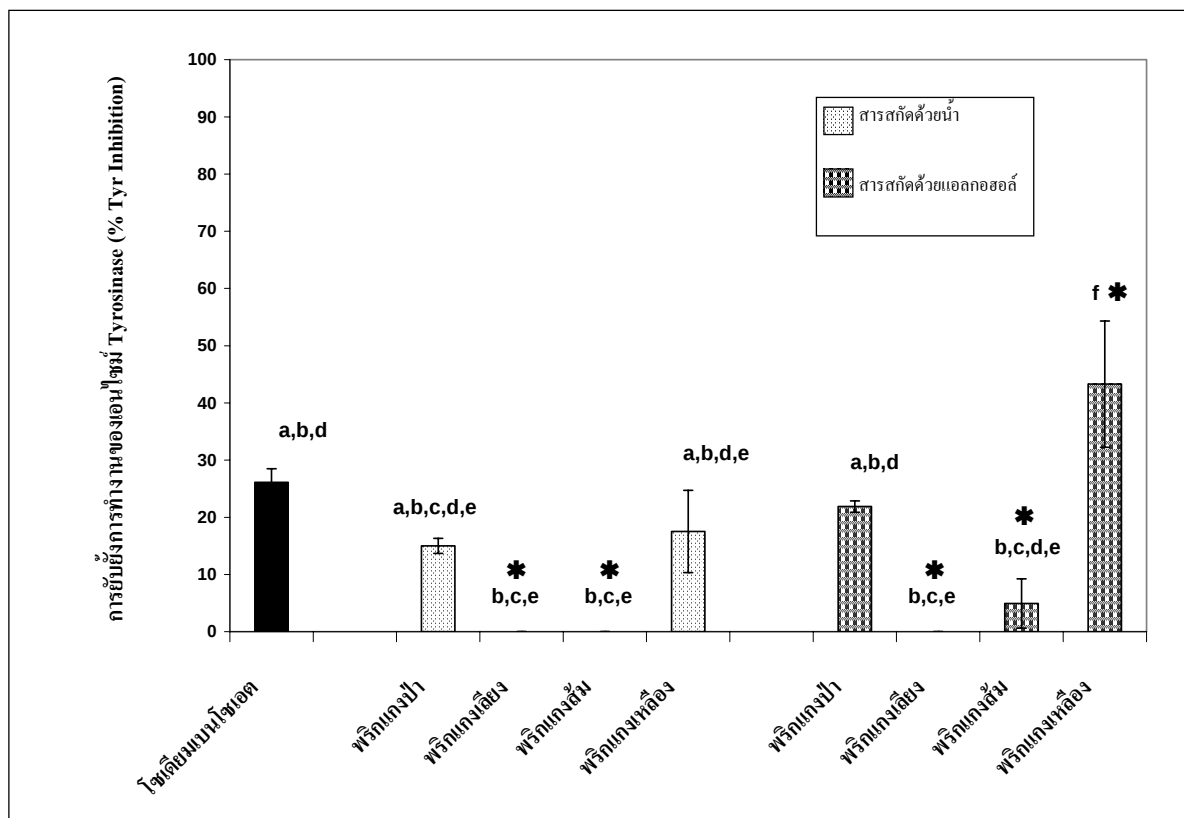
4.5) คุณสมบัติชะลอความชรา (Anti-ageing)

ผลของอนุมูลอิสระและมลภาวะที่ประสบอยู่ทุกวัน เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดความหมองคล้ำของผิวหนัง รวมทั้งฝ้า และด่างกระ ผลผลิตของเครื่องสำอางมากมายจึงมีส่วนผสมของสารสำคัญที่ช่วยลดการเกิดปัญหาดังกล่าว และรักษาผิวหน้าให้ขาวเนียน หนึ่งในนั้นคือสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเม็ดสี หรือ เมลานิน ในการศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาสารสกัดพริกแกงและน้ำแกง เพื่อตรวจหาคุณสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase โดยเปรียบเทียบกับโซเดียมเบนโซเอตเข้มข้น 5 mM

ผลจากการศึกษาพบว่าสารสกัดด้วยน้ำและเอธานอลของทั้งพริกแกงป่าและพริกแกงเหลืองแสดงคุณสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ในขณะที่พริกแกงเลียงและพริกแกงส้มอาจกล่าวได้ว่าไม่มีคุณสมบัติดังกล่าว (รูปที่ 4.5.1) โซเดียมเบนโซเอตเข้มข้น 5 mM ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ได้ $26.1 \pm 2.4\%$ ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำของพริกแกงป่าและพริกแกงเหลืองมีค่าใกล้เคียงกันคือประมาณ 16 % สำหรับสารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแกงเหลืองมีค่าสูงสุด คือ $43.3 \pm 11.0\%$ รองลงมาคือพริกแกงป่า ซึ่งสามารถยับยั้งได้ $21.9 \pm 1.0\%$ (ภาคผนวก ข. ตารางที่4)

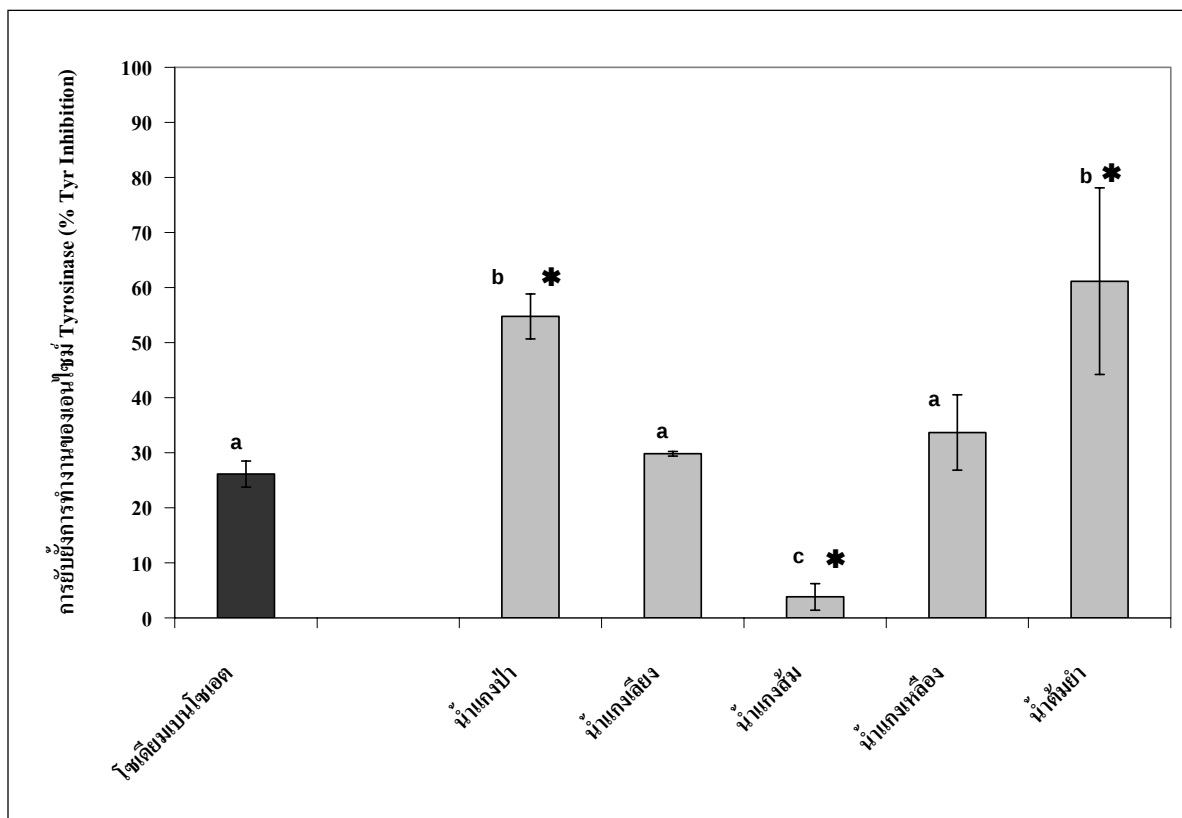
การศึกษาผลของน้ำแกง 5 ชนิดต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase พบว่า ทุกชนิดมีประสิทธิภาพสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดของพริกแกงชนิดเดียวกัน (รูปที่ 4.5.2) ยกเว้นน้ำแกงส้ม ($3.8 \pm 2.4\%$) ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างจากสารสกัด น้ำแกงที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase สูงสุดได้แก่ น้ำดื่มข่า ($61.2 \pm 17.0\%$) รองลงมาคือ น้ำแกงป่า ($54.8 \pm 4.1\%$) ส่วนน้ำแกงเลียง และน้ำแกงเหลืองนั้นมีค่าใกล้เคียงกับสารละลายโซเดียมเบนโซเอต (ภาคผนวก ข. ตารางที่4)

จากรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase พบว่าการศึกษาส่วนใหญ่มุ่งเน้นในการหาสารสำคัญจากพืชสมุนไพร และผลไม้ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอางมากกว่าประโยชน์จากการบริโภคเป็นอาหาร (Baurin et al., 2002, Wang et al., 2006, Rout, S. and Banerjee, R., 2007, Rangkadilok et al. 2007) ผลจากการศึกษานี้จึงเป็นหลักฐานชิ้นหนึ่งที่แสดงให้เห็นว่าอาหารบางชนิดในรูปแบบที่บริโภคกันอยู่เป็นประจำนั้น อาจช่วยต้านริ้วรอยของความชราได้จากภายใน เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ดีในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase อย่างไรก็ตาม ในขณะนี้ยังไม่มีข้อมูลการศึกษาสารสำคัญในพืชสมุนไพรที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในพริกแกงหรือในอาหารไทย จึงไม่สามารถระบุได้ว่าคุณสมบัติดังกล่าวเกิดจากสารหรือสมุนไพรชนิดใดแน่



รูปที่ 4.5.1 ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase (% Tyr Inhibition) ของสารสกัดพริกแกง 4 ชนิด ด้วยน้ำและด้วย 70% เอทานอล เทียบกับประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมเบนโซเอตเข้มข้น 5 mM

*แตกต่างจากกลุ่มเปรียบเทียบ(โซเดียมเบนโซเอต)อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$, พหุคูณชนะที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)



รูปที่ 4.5.2 ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase (% Tyr Inhibition) ของน้ำแฉง 5 ชนิด เทียบกับประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมเบนโซเอต เข้มข้น 5 mM

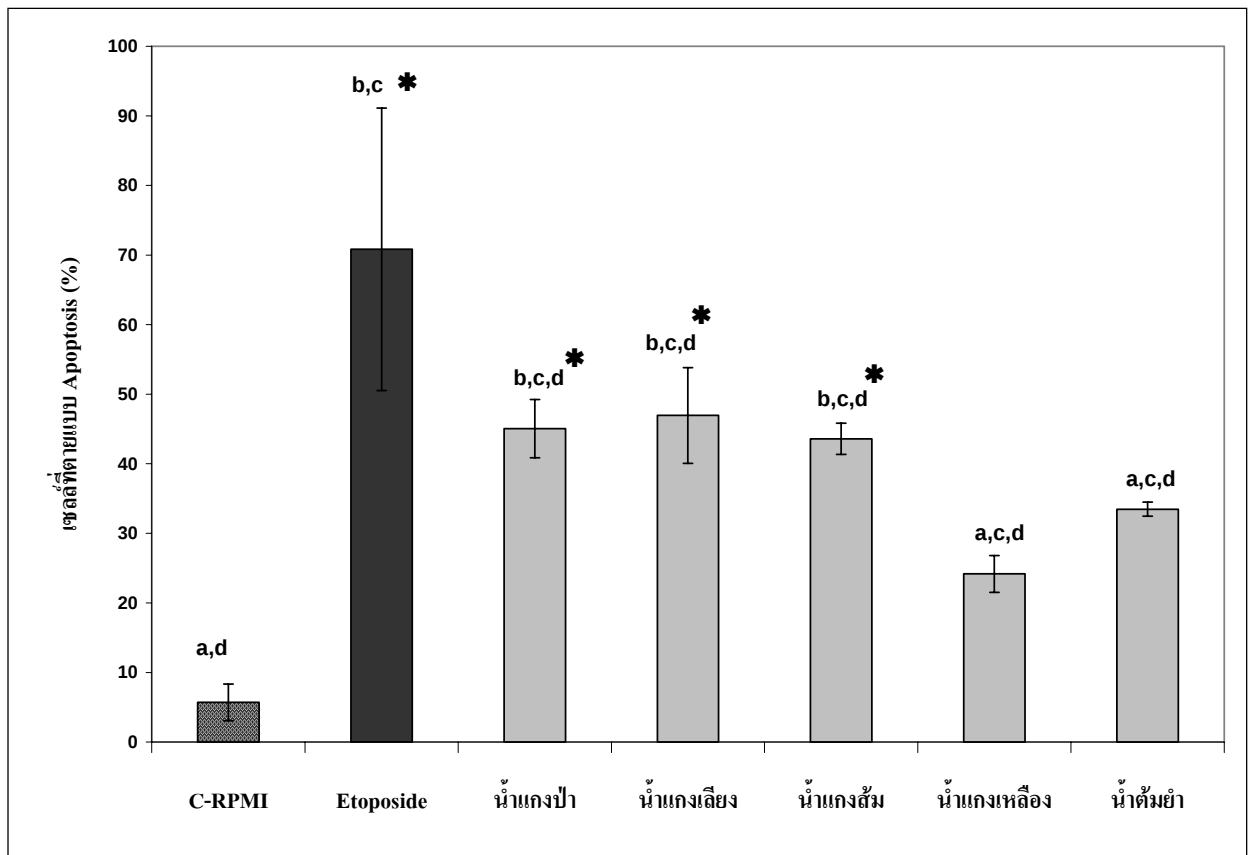
* แตกต่างจากกลุ่มเปรียบเทียบ(โซเดียมเบนโซเอต)อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$, พหุคูณชนะที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)

4.6) คุณสมบัติการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Apoptosis Induction)

คุณสมบัติการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (Apoptosis Induction) ในน้ำแกง 5 ชนิด ทำโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว Jurkat cells ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผสมน้ำแกงแต่ละชนิด และเปรียบเทียบอัตราการตายของเซลล์แบบ Apoptosis เทียบกับกลุ่มควบคุม คืออาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ (C-RPMI) และกลุ่มที่ให้สาร Etoposide ซึ่งมีฤทธิ์ในการเหนี่ยวนำ Apoptosis ในเซลล์ (ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทดสอบสารสกัดของพริกแกง เนื่องจากคำนึงถึงหลักการที่ว่าสารสกัดของพริกแกงมีความเข้มข้นที่สูงเกินกว่าความเป็นจริงที่เซลล์จะได้รับและอาจมีผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์ ดังนั้นจึงเลือกศึกษาเฉพาะในน้ำแกงปรุงสำเร็จ 5 ชนิดซึ่งเป็นรูปแบบที่บริโภคจริงในชีวิตประจำวันมาใช้ในการทดลอง โดยไม่มีการเจือจางเพิ่มเติมก่อนการผสมกับอาหารเลี้ยงเซลล์)

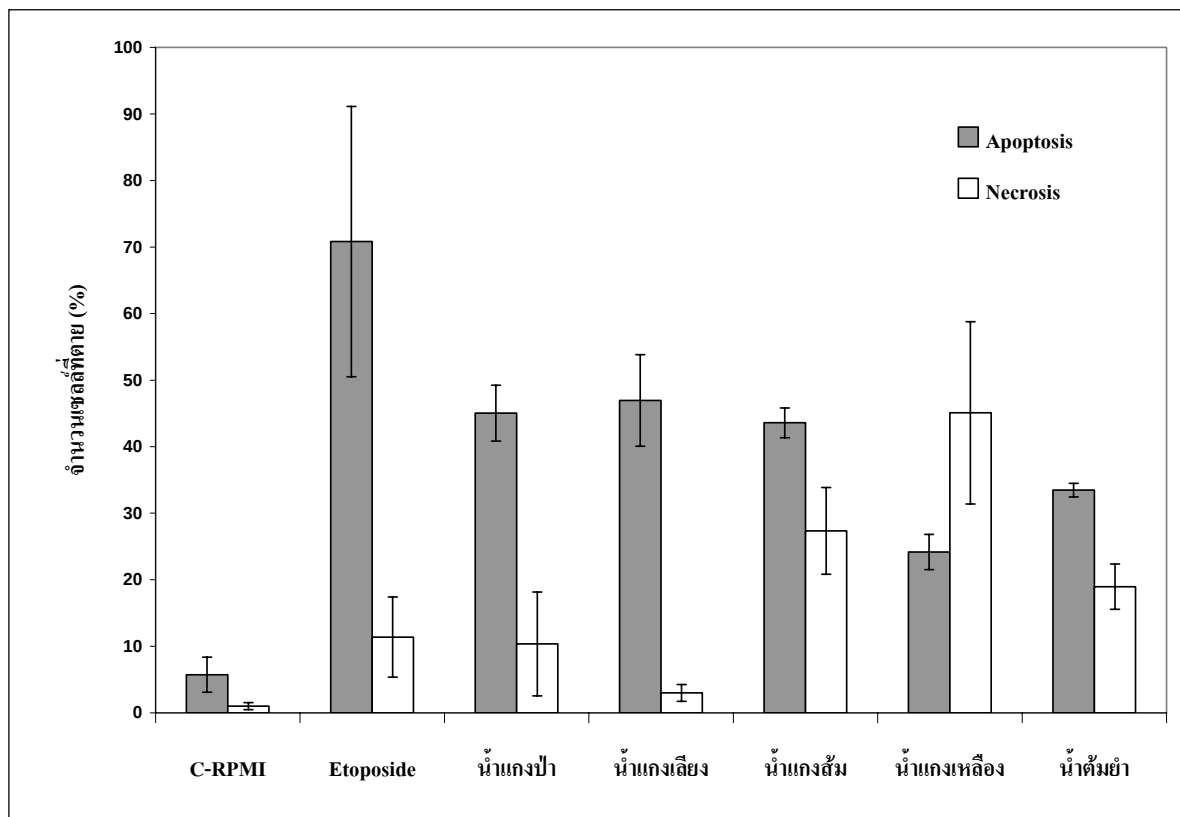
ผลการศึกษา (รูปที่ 4.6.1) พบว่าสาร Etoposide เหนี่ยวนำให้เซลล์ตายแบบ Apoptosis ได้ 70.8 ± 20.3 % ขณะที่น้ำแกงป่า น้ำแกงเลียง และน้ำแกงส้ม มีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เซลล์ตายแบบ Apoptosis ใกล้เคียงกันคือประมาณ 45% (ภาคผนวก ข. ตารางที่ 5) อย่างไรก็ตามความแตกต่างนี้ไม่นับสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ การให้ยา Etoposide น้ำต้มยามีประสิทธิภาพลดลงมาคือ 33.5 ± 1.0 % และน้ำแกงเหลืองมีประสิทธิภาพต่ำสุดคือ 24.2 ± 2.6 % (ภาคผนวก ข. ตารางที่ 5)

การรักษาหรือกำจัดมะเร็งจำเป็นต้องหาวิธีการที่ทำให้เซลล์มะเร็งตาย โดยทั่วไปการตายของเซลล์แบ่งได้เป็นสองแบบ คือการตายแบบธรรมชาติ หรือ Apoptosis ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ก่อให้เกิดผลเสียหรือกระทบต่อเซลล์ข้างเคียงและร่างกาย การตายอีกแบบคือ Necrosis ซึ่งมีผลข้างเคียงคือทำให้เกิดการอักเสบ (Inflammation) ของเซลล์ ในผู้ป่วยการทำให้เซลล์ตายแบบ Necrosis จึงอาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพได้ โดยเฉพาะเมื่อสารใดกระตุ้นให้เกิดการตายแบบ Necrosis ในอัตราสูงอาจกล่าวได้ว่าสารนั้นเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxic) ความพยายามในการรักษามะเร็งจึงมุ่งเน้นที่จะหาสารที่มีคุณสมบัติกระตุ้นให้เซลล์มะเร็งมีการตายแบบ Apoptosis มากกว่า Necrosis จากการศึกษาครั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนการตายแบบ Apoptosis และ Necrosis ของน้ำแกงแต่ละชนิด (รูปที่ 4.6.2) จะเห็นได้ว่าน้ำแกงทุกชนิดมีแนวโน้มในการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis มากกว่าแบบ Necrosis ยกเว้นน้ำแกงเหลือง ซึ่งมีสัดส่วนการตายแบบ Necrosis ที่สูงกว่า จากข้อมูลในตารางที่ 5 (ภาคผนวก ข.) พบว่าน้ำแกงเลียงเหนี่ยวนำการตายแบบ Apoptosis ได้สูงกว่า Necrosis ถึง 15 เท่า ซึ่งมากกว่าสาร Etoposide ที่สัดส่วนของการตายแบบ Apoptosis ต่อ Necrosis มีค่าประมาณ 7 เท่า จึงอาจกล่าวได้ว่าน้ำแกงเลียงเป็นน้ำแกงที่น่าสนใจที่จะนำมาศึกษาต่อในด้านคุณสมบัติการต้านมะเร็งต่อไป



รูปที่ 4.6.1 ความสามารถในการทำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวตายแบบ Apoptosis ของน้ำแกง 5 ชนิด เทียบกับประสิทธิภาพของยา Etoposide เข้มข้น 10 ug/ml, กลุ่มควบคุมคือเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (C-RPMI)

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (C-RPMI) อย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$, พหุคูณที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างชนิดของสารสกัดที่ $p < 0.05$ (ANOVA, Post hoc test : Scheffe)



รูปที่ 4.6.2 สัดส่วนการเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวตายแบบ Apoptosis และ Necrosis ของน้ำแกง 5 ชนิด เทียบกับประสิทธิภาพของยา Etoposide เข้มข้น 10 ug/ml, กลุ่มควบคุมคือเซลล์ที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (C-RPMI)

เนื่องจากมะเร็งเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในโลก จึงมีความพยายามอย่างมากในการศึกษาหาสารสำคัญโดยเฉพาะสารจากธรรมชาติ เพื่อใช้รักษามะเร็งผ่านทางกระบวนการ Apoptosis ซึ่งเป็นวิธีที่มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยน้อยที่สุด ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้สนใจศึกษาพืช สมุนไพรมากมายหลายชนิดที่มีคุณสมบัติดังกล่าว พริกแกงที่ศึกษาในงานวิจัยนี้มีส่วนประกอบของสมุนไพรหลายชนิดรวมกันและมีรายงานวิจัยที่พบว่ามียุทธในการเหนี่ยวนำ Apoptosis ได้แก่ กระเทียม โดยมีสารสำคัญคือ Allicin (Oommen et al., 2004) และสารอนุพันธ์ Ajoene (Hassan, 2004) ข่า มีสารสำคัญคือ 1-acetoxychavicol acetate (Ito et al., 2004) พริก ซึ่งมีสารสำคัญคือ Capsiacinoids (Sanchez et al., 2006) และขมิ้นซึ่งมีสารสำคัญคือ Curcumin (Cao et al., 2007, Sandur et al., 2007) นอกจากนั้นสารประกอบโพลีฟีนอลซึ่งมีอยู่มากในพืช

สมุนไพรร ยังเป็นสารสำคัญอีกตัวที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการ Apoptosis โดยการศึกษาของ Mertens-Talcott and Percival (2005) ได้แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างสาร Ellagic acid, Quercetin และ resveratrol ว่ามีฤทธิ์เสริมกันในการเหนี่ยวนำการตายของเซลล์แบบ Apoptosis ได้

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดสอบเพื่อศึกษาคุณสมบัติเชิงสุขภาพของสารสกัดพริกแกง 4 ชนิด และน้ำแกงชนิดไม่ใช้กะทิ 5 ชนิดในการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดด้วยน้ำ (หรือบัฟเฟอร์) และเอธานอลของพริกแกงชนิดเดียวกันอาจมีคุณสมบัติเชิงสุขภาพที่เหมือนหรือแตกต่างกันได้ตามแต่ละชนิดของน้ำพริกแกงนั้นๆ ในที่นี้จะสรุปสารสกัดที่แสดงประสิทธิภาพสูงสุดของคุณสมบัติเชิงสุขภาพแต่ละด้าน (ยกเว้นคุณสมบัติการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis ซึ่งศึกษาเฉพาะน้ำแกงเท่านั้น)

- คุณสมบัติด้านการก่อกลิ้มเลือด ได้แก่ สารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงเลียงซึ่งสามารถด้านการก่อกลิ้มเลือดได้อย่างสมบูรณ์
- คุณสมบัติการสลายลิ้มเลือด ได้แก่ สารสกัดด้วยบัฟเฟอร์ของพริกแกงเลียงซึ่งสามารถสลายเส้นใยไฟบริน(ลิ้มเลือดจำลอง) ได้อย่างชัดเจน
- คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารสกัดด้วยน้ำของพริกแกงป่า พริกแกงเลียง และพริกแกงส้ม ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันโดยมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้สูงถึงประมาณ 90%
- คุณสมบัติการต้านความดันโลหิตสูง ได้แก่ สารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเอธานอล ของทั้งพริกแกงส้ม และพริกแกงเหลืองซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE ได้อย่างสมบูรณ์
- คุณสมบัติชะลอความชรา ได้แก่ สารสกัดด้วยเอธานอลของพริกแกงเหลือง ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ได้ถึง 43%

เมื่อนำน้ำพริกแกงแต่ละชนิดไปผ่านกระบวนการปรุงเป็นน้ำแกงปรุงสำเร็จพบว่าคุณสมบัติเชิงสุขภาพบางชนิดสูญเสียประสิทธิภาพไป บางคุณสมบัติถูกทำลายไปเมื่อผ่านการปรุง แต่ก็มีคุณสมบัติเชิงสุขภาพบางชนิดที่ยังสามารถคงประสิทธิภาพไว้ได้ ในที่นี้ได้สรุปชนิดน้ำแกงที่แสดงประสิทธิภาพสูงสุดในคุณสมบัติเชิงสุขภาพด้านต่างๆ ดังนี้

- คุณสมบัติด้านการก่อกลิ้มเลือด ได้แก่ น้ำแกงเหลือง โดยใช้เวลานานกว่า 1 นาทีในการก่อกลิ้มเลือด
- คุณสมบัติการสลายลิ้มเลือดนั้น ไม่พบในน้ำแกงทั้ง 5 ชนิดที่ศึกษา
- คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ น้ำแกงเลียง น้ำแกงส้ม น้ำแกงเหลือง และน้ำต้มยำ ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน โดยมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้มากกว่า 80% ขึ้นไป

- คุณสมบัติการต้านความดันโลหิตสูง ได้แก่ น้ำแกงเลียงและน้ำแกงเหลือง ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACE ได้สูงถึงประมาณ 80%
- คุณสมบัติชะลอความชรา ได้แก่ น้ำแกงป่า และน้ำต้มยำ ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase ได้มากกว่า 50%
- คุณสมบัติการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ Apoptosis โดยการทดสอบกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ได้แก่ น้ำแกงป่า น้ำแกงเลียง ซึ่งประสิทธิภาพใกล้เคียงกันคือสามารถเหนี่ยวนำการตายแบบ Apoptosis ได้ถึงประมาณ 45% ทั้งยังมีสัดส่วนการตายแบบ Necrosis ต่ำอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นในด้านคุณสมบัติเชิงสุขภาพที่สำคัญของพริกแกงต่างๆ และผลิตภัณฑ์น้ำแกงพร้อมปรุงซึ่งได้จากการนำพริกแกงไปผ่านกระบวนการให้ความร้อนในระดับหนึ่งและปรุงรสให้เป็นรูปแบบที่ผู้บริโภคจะนำไปประกอบอาหารได้สะดวกและรวดเร็วขึ้น และยังคงรสชาติและเอกลักษณ์ของแกงไว้อย่างครบถ้วน อย่างไรก็ตามตัวอย่างทั้งหมดในการศึกษานี้ได้มาจากผู้ประกอบการเพียงรายเดียวที่พร้อมจะร่วมกับ สกว. ในการสนับสนุนการวิจัย ถือว่าเป็นการเริ่มต้นที่ดีของภาคเอกชน แต่ก็มีทั้งข้อดีและข้อจำกัด ข้อดี คือ ตัวอย่างเหล่านี้มีตำรับหรือสูตรที่ชัดเจน รวมถึงทราบแหล่งที่มาของวัตถุดิบตลอดจนมีกระบวนการผลิตที่ปลอดภัยและได้มาตรฐานทางอุตสาหกรรม ข้อจำกัดคือเรื่องของตำรับหรือสูตร ที่มีความแตกต่างและหลากหลายค่อนข้างมากแม้แต่ในพริกแกงชนิดเดียวกันก็ตาม นอกจากนั้นแหล่งของวัตถุดิบ รวมถึงกระบวนการปลูกและเก็บเกี่ยวต่างก็อาจมีผลต่อสารอาหารและสารสำคัญต่างๆ ที่พบในพืชสมุนไพร และเครื่องเทศที่นำมาเป็นส่วนประกอบ ดังนั้นในขณะนี้จึงสามารถกล่าวได้เพียงว่า พริกแกงและน้ำแกงบางชนิดน่าจะมีศักยภาพในการป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ โดยดูจากผลการทดลองที่พบเทียบกับส่วนประกอบของพืชสมุนไพร และเครื่องเทศที่นำมาเป็นส่วนประกอบของพริกแกง ว่ามีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์บ่งบอกไว้อย่างไรบ้าง อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ยังไม่สามารถจะระบุได้แน่ชัดว่าสารสำคัญใดหรือสมุนไพรชนิดใดที่เป็นส่วนสำคัญทำให้พริกแกงและน้ำแกงมีคุณสมบัติเชิงสุขภาพดังที่ตรวจพบ จึงต้องมีการศึกษาต่อไปในด้านของการวิเคราะห์หาสารสำคัญต่างๆ ที่มีศักยภาพทั้งในพริกแกงและส่วนประกอบต่างๆ เพื่อให้สามารถทราบต้นตอว่ามาจากส่วนประกอบชนิดใดบ้าง ทั้งนี้อาจเป็นข้อดีในการนำไปปรับสูตรให้มีสารสำคัญต่างๆ มากขึ้นได้โดยไม่กระทบต่อเอกลักษณ์และรสชาติของพริกแกงและอาหาร สำหรับการพัฒนาเป็นอาหารป้องกันโรคอีกระดับหนึ่งจากอาหารที่บริโภคในชีวิตประจำวัน จากการทบทวนข้อมูลเชิงวิชาการที่มีผู้ศึกษาไว้ ทำให้สามารถตั้งสมมติฐานขึ้นได้เพียงแต่ว่า คุณสมบัติเชิงสุขภาพที่พบนั้นน่าจะเป็นผลมาจากส่วนประกอบหลักที่สำคัญของพริกแกงและน้ำแกง เช่น พริก กระเทียม หัวหอม ขมิ้น กระชาย กะปิ เป็นต้น นอกจากนี้ประสิทธิภาพที่ดินนั้นน่าจะเกิดจากผลของการมีสารสำคัญหลายชนิดร่วมกัน มากกว่าผลจากสารสำคัญเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้ทำให้เห็น

คุณสมบัติเชิงสุขภาพที่โดดเด่นของพริกแกงหลายชนิด ที่น่าสนใจและควรมีการศึกษาในรายละเอียดเพื่อให้สามารถระบุถึงชื่อและประเภทของสารสำคัญได้ชัดเจน รวมทั้งทดสอบประสิทธิภาพและความเป็นไปได้ในการใช้อาหารดังกล่าวเพื่อป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรังในสิ่งมีชีวิตเช่น สัตว์ทดลอง หรือ แม้แต่ในมนุษย์ต่อไป

บรรณานุกรม

1. Aida K, Shinmoto H, Kobori M and Tsushida T. Purification and identification of melanogenesis inhibitory factors in Miso. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*. 1998;45:202-9
2. Astrup T and Mullertz S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Archs. Biochem. Biophys*. 1952;40:346-51
3. Baurin N, Arnoult E, Scior T, Do QT, Bernard P. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002;82:155-8
4. Blois MS. Antioxidant Determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199-200
5. Bode C, Runge M, Smalling RW. The future of thrombolysis in the treatment of acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 1996;17:55-60
6. Bordia A, Verma SK, Srivastava KC. Effect of garlic (*Allium sativum*) on blood lipids, blood sugar, fibrinogen and fibrinolytic activity in patients with coronary artery disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1998;58(4):257-63
7. Cao J, Liu Y, Jia L, Zhou H-Z, Kong Y, Yang G, Jiang L-P, Li Q-J, Zhong L-F. Curcumin induces apoptosis through mitochondrial hyperpolarization and mtDNA damage in human hepatoma G2 cells, *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;43(6):968-75
8. Cha M, Park JR. Production and Characterization of a soy protein-derived angiotensin I-converting enzyme inhibitory hydrolysis, *J Med Food*. 2005;8(3):305-10
9. Crookston K. Coagulation, PathologyOutlines.com, Inc. (Last access 14 March 2007) <http://www.pathologyoutlines.com/coagulation.html>
10. Cheung HS, Cushman DW. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol*. 1973;20:1637-48
11. Datamonitor. Functional Food and Drink Consumption Trends (Code: dmcm2982) overview, Publication Date: 07 Feb 2007 <http://www.datamonitor.com/> (Last access : 24 Oct 2007)

12. Doig MT, Smiley JW. Direct injection assay of angiotensin-converting enzyme by high-performance liquid chromatography using a shielded hydrophobic phase column. *J Chromatogr.* 1993;613:145-9
13. Ekhard EZ, Filter LJ. Present knowledge in nutrition. 7th ed. Washington, DC: International Life Sciences, 1996
14. Fitzmaurice DA, Blann AD, Lip GYH. ABC of antithrombotic therapy - Bleeding risks of antithrombotic therapy. *BMJ.* 2002;325:828-31
15. Friedland J, Silverstein E. A sensitive fluorimetric assay for serum angiotensin converting enzyme. *Am J Clin Pathol.* 1976;66:416-24
16. Gazzani G, Papetti A, Daglia M, Berte F, Gregotti C. Protective activity of water soluble components of some common diet vegetables on rat liver microsome and the effect of thermal treatment. *J Agric Food Chem.* 1998;45:4123-7
17. Gibson GR, Williams CM. Functional Foods : Concept to product, Edited by Glenn R. Gibson and Christine M Williams, CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, 2000
18. Gordon MW. Perspective in nutrition. 4th ed. Boston: Mc Graw-Hill, 1990
19. Guglielmone HA, Agnese AM, Nunez Montoya SC, Cabrera JL. Anticoagulant effect and action mechanism of sulphated flavoids from *Flaveria bidentis*. *Thromb Res.* 2002;105(2):183-8
20. Hasler CM. Functional Foods: Their role in disease prevention and health promotion, A publication of Institute of Food Technologists, www.nutriwatch.org. (Last access : Aug 2004)
21. Hassan HT. Ajoene (natural garlic compound) : a new anti-leukemia agent for AML Therapy, *Leukemia Research.* 2004;28:667-71
22. Hsieh CL, Lin YC, Yen GC, Chen HY. Preventive effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaves and its active compounds against alpha-dicarbonyl compounds-induced blood coagulation. *Food Chem.* 2007;103(2):528-35

23. Ito K, Nakazato T, Murakami A, Yamato K, Miyakawa Y, Yamada T, Hozumi N, Ohigashi H, Ikeda Y, Kizaki M. Induction of Apoptosis in human myeloid leukemic cells by 1'-acetoxychavicol acetate through a mitochondrial- and FAS-mediated Dual Mechanism. *Clinical Cancer Research*. 2004;10:2120-30
24. Jang A, Lee M. Purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from beef hydrolysates. *Meat Science*. 2005;69:653-61
25. Jee J, Bae IY, Lee HG, Yang C. Tyr-Pro-Lys, an angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide derived from broccoli (*Brassica oleracea Italica*). *Food Chem* (IN PRESS) 2006
26. Johnson IT. Anti-tumour properties In Functional Foods : Concept to product, Eds: Glenn R Gibson, Christine M Williams, CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, 2000
27. Jung K, Song E, Han D, Kim I, Kim Y, Lee C. Cardiovascular Protective properties of Kiwifruit Extracts in vitro. *Biol. Pharm.Bull.* 2005;28(9):1782-5
28. Kim W, Choi K, Kim Y, Park H, Choi J, Lee Y, Oh H, Kwon I, Lee S. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp.strain CK 11-4 screened from Chungkook-Jang. *Appl Environ Microbiol.* 1996;62(7):2482-8
29. Kim G, Lee M, Park I. Acid and Heat Stability of the Anticoagulative Activity of an onion extract, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2002;66(4):859-61
30. Kim SM, Kubota K, Kobayashi A. Antioxidative activity of sulfur-containing flavor compounds in garlic, *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*. 1997;61:1482-5
31. King MW. Blood Coagulation, IU School of Medicine (Last access: October 24, 2007) <http://web.indstate.edu/thcme/mwking/blood-coagulation.html>
32. Kinouchi T, Suaeyun R, Chewonarin T, Intiyot Y, Arimochi H, Kataoka K, Akimoto S, Vinitketkumnuen U, Ohnishi Y. Chemopreventive effects of Thai medicinal plants on formation of azoxymethane-induced DNA adducts and aberrant crypt foci in the rat colon. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1997;379(1), Supplement 1:S181

33. Kinoshita A, Horie N. Inhibitory activity of green tea catechins on thrombin. *Jpn. J Thromb. Hemost.* 1993;4:471-2
34. Kosulwat V. The nutrition and health transition in Thailand. *Public Health Nutr.* 2002;5(1A):183-9
35. Kwon K-B, Yoo S-J, Ryu D-G, Yang J-Y, Rho H-W, Kim J-S, Park J-W, Kim H-R, Park B-H. Induction of apoptosis by diallyl disulfide through activation of caspase-3 in human leukemia HL-60 cells. *Biochemical Pharmacology.* 2002;63(1):41-7
36. Lawson HW. Standard for fat and oil. West port (CT) : A VI Publishing, 1985
37. Lee J, Bae IY, Lee HG, Yang C. Tyr-Pro-Lys, an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from broccoli (*Brassica oleracea Italica*) *Food Chem.* 2006;99(1):143-8
38. Li G-H, Le G-W, Shi Y-H, Shrestha S. Angiotensin I - converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutr Res.* 2004;27:469-86
39. LO Wendy MY, FARNWORTH Edward R, LI-CHAN Eunice CY. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of soy protein digests in a dynamic model system simulating the upper gastrointestinal tract. *J Food Sci.* 2006;71:231-7
40. Lovegrove JA, Jackson KG. Coronary heart disease In Functional Foods : Concept to product, Eds: Glenn R. Gibson and Christine M Willams, CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, 2000
41. Mahan LK, Escot SS. Krause's food, nutrition and diet therapy. 9th ed. Pennsylvania: W.B. Saunders, 1996
42. Martin MJ, Browner WS, Wenworth J, Hulley SB, Kuler LH. Serum cholesterol, blood pressure and mortality : implications from a cohort of 361,662 men. *Lancet.* 1986;2:933-6
43. Materska M, Perucka I. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *J Agric Food Chem.* 2005;53(5):1750-6

44. Matsufuji H, Matsui T, Seki E, Osajima K, Nakashima M, Osajima Y. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in an alkaline protease hydrolysate derived from sardine muscle. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1994;58:2244-5
45. Matsui T, Marsufuji H, Osajima Y. Colorimetric measurement of angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity with trinitrobenzene sulfonate. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1992;56:517-8
46. Meghana K, Sanjeev G, Ramesh B. Curcumin prevents streptozotocin-induced islet damage by scavenging free radicals: A prophylactic and protective role. *European Journal of Pharmacology*. 2007 (*In Press*) **Corrected Proof**, Available online 11 September 2007
47. Mertens-Talcott SU, Percival S. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cell. *Cancer Letters*. 2005;218:141-51
48. Miesan KH, Mohamed S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J Agric Food Chem*. 2001;49:3106-12
49. Mine Y, Wong AHK, Jiang B. Novel fibrinolytic enzyme in fermented shrimp paste, a traditional Asian fermented seasoning. *J Agric Food Chem*. 2004;52:980-6
50. Mizuno S, Nishimura S, Matsuura K, Gotow T, Yamamoto N. Release of short and Proline-Rich Antihypertensive peptides from casein hydrolysate with an *Aspergillus oryzae* Protease. *J Dairy Sci*. 2004;87:3183-8
51. Murakami A, Toyota K, Ohura S, Koshimizu K, Ohigashi H. Structure-activity relationships of (1'S)-1'-acetoxychavicol acetate, a major constituent of a southeast Asian condiment plant *Languas galanga*, on the inhibition of tumor-promoter-induced Epstein-Barr virus activation. *J Agric Food Chem*. 2000;48(5):1518-23
52. Murakami A, Jiwajinda S, Koshimizu K, Ohigashi H. Screening for in vitro anti-tumor promoting activities of edible plants from Thailand. *Cancer Letters*. 1995;95:139-46

53. Murakami A, Ohigashi H, Koshimizu K. Review: Possible anti-tumour promoting properties of traditional Thai food items and some of their active constituents. *Asia Pacific J Clin Nutr.* 1994;3:185-91
54. Murray BA, Wasksh DJ, FitzGerald RJ. Modification of the furanacryloyl-L-phenylalanylglycylglycine assay for determination of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity. *J Biochem Biophys Methods.* 2004;59:127-37
55. Noh KA, Kim DH, Choi NS, Kim SH. Isolation of fibrinolytic enzyme producing strains from Kimchi. *Korean J Food Sci Tech.* 1999;31:219-23
56. Nuutila AM, Puupponen-Pimia R, Aarni M, Oksman-Caldentey K. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chem.* 2003;81:485-93
57. Oommen S, John Anto R, Srinivas G, Karunagaran D. Allicin (from garlic) induces caspase-mediated apoptosis in cancer cells. *European Journal of Pharmacology,* 2004;485(1-3):97-103 (abstract)
58. Orekhov AN, Grunwald J. Effects of garlic on atherosclerosis (Review). *Nutrition.* 1997;13(7-8):656-63
59. Peng Y, Huang Q, Zhang RH, Zhang YZ. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DC-4 screened from *douche*, a traditional Chinese soybean food, *Comparative Biochemistry and Physiology.* Part B 2003;134:45-52
60. Rangkadilok N, Sitthimonchai S, Worasuttayangkurn L, Mahidol C, Ruchirawat M, Satayavivad J. Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract. *Food and Chemical Toxicology.* 2007;45(2):328-36
61. Ronald RW, Siraj IM. Nutrition and cancer prevention. Florida : CRC press, 1995
62. Rosa A, Deiana M, Casu V, Paccagnini S, Appendino G, Ballero M, Dessi MA. Antioxidant activity of capsinoids. *J Agric Food Chem.* 2002;50(25):7396-401

63. Rout S, Banerjee R. Free radical scavenging, anti-glycation and tyrosinase inhibition properties of a polysaccharide fraction isolated from the rind from *Punica granatum*. *Bioresource Technology*. 2007;98(16):3159-63 (abstract)
64. Sánchez AM, Sánchez MG, Malagarie-Cazenave S, Olea N, Díaz-Laviada I. Induction of apoptosis in prostate tumor PC-3 cells and Inhibition of xenograft prostate tumor growth by the vanilloid capsaicin. *Apoptosis*. 2006;11:89-99
65. Sandur SK, Ichikawa H, Pandey MK, Kunnumakkara AB, Sung B, Sethi G, Aggarwal BB. Role of pro-oxidants and antioxidants in the anti-inflammatory and apoptotic effects of curcumin (diferuloylmethane). *Free Radical Biology and Medicine*. 2007;43(4):568-80
66. Sato M, Oba T, Yamaguchi T, Nakano T, Kahara T, Funayama K, Kobayashi A, Nakano T. Antihypertensive Effects of Hydrolysates of Wakame (*Undaria pinnatifida*) and Their Angiotensin I- Converting enzyme inhibitory activity. *Ann Nutr Metab*. 2002;46:259-67
67. Steinmetz KA, Kushi H, Bostick RM, Folsom AR, Potter JD. Vegetables, fruits, and colon cancer in the Iowa Women's Health Study. *Am J Epidemiol*. 1994;139:1-15
68. Suetsuna K, Maekawa K, Chen J. Antihypertensive effects of *Undaria pinnatifida* (wakame) peptide on blood pressure in spontaneously hypertensive rats, *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2004;15:267-72
69. Suetsuna K. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from *Allium sativum* L. (garlic). *Journal of Nutritional Biochemistry*. 1998;9:415-9
70. Sumi H, Hamada H, Tssima H, Mihara H, Muraki H. A novel fibrinolytic enzyme (nattokinase) in the vegetable cheese Natto; a typical and popular soybean food in the Japanese diet. *Experientia*. 1987;43(10):1110-1
71. Sumi H, Nakajima N, Yatagai C. A unique strong fibrinolytic enzyme (katsuwokinase) in skipjack "Shiokara" a Japanese tradition fermented food. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1995;112(3):543-7

72. Townsend CE, Roth RA. Nutrition and diet therapy, 7th Edition, New York : Delmar, 2002
73. Trail WB. Trends towards overweight in lower and middle-income countries : some causes and economic policy options. In malnutrition in six case study countries, 2006 www.fao.org/ag/magazine/06025p1.htm
74. Venkatesan N. Pulmonary protective effects of curcumin against paraquat toxicity. *Life Sciences*. 1999;66(2):PL21-PL28
75. Visudhiphan S, Poolsuppasit S, Piboonnukarintr O, Tumliang S. The relationship between high fibrinolytic activity and daily capsicum ingestion in Thais. *Am J Clin Nutr*. 1982;35:1452-8
76. Wang K, Lin R, Hsu F, Huang Y, Chang H, Huang C, Lee M. Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines, *Journal of Ethnopharmacology*. 2006 (in press)
77. WHO, 2003, Noncommunicable Disease Prevention and Health Promotion, www.who.int/hpr/about.ncds.shtml (Last access :23 Oct 2007)
78. Woteki CE, Thomas PR. Eat for lifes: the food and nutrition board's guide to reducing your risk of chronic diseases. Washington, DC: National Academy Press, 1992
79. Wu J, Ding X. Hypotensive and Physiological effect of Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from sory protein on spontaneously Hypertensive rats. *J Agric Food Chem*. 2001;49:501-6
80. Yamaguchi P. FOSHU Approval – Is It Worth The Price? Articles In Natural and Nutritional Products Industry Center (NPI) Date : 14 Nov 2003 <http://www.npicenter.com/anm/templates/newsATemp.aspx?articleid=10446&zoneid=45> (Last access : 24 Oct 2007)
81. Yamamoto Y, Aoyama S, Hamaguchi N, Rhi G. Antioxidative and Antihypertensive Effects of Welsh Onion on Rats Fed with a High-Fat High-Sucrose Diet. *Biosci. Biotech. and Biochem*. 2005;69(7):1311-7

82. Yoon SJ, Pereira MS, Pavao MSG, Hwang JK, Pyun YR, Mourao PAS. The medicinal plant *Porana volubilis* contains polysaccharides with anticoagulant activity mediated by heparin cofactorII. *Thromb Res*, 2002;106:51-8
83. Zhang RZ, Xu XH, Chen TB, Li L, Rao PF. An assay for Angiotensin-converting enzyme using capillary zone electrophoresis. *Anal Biochem*. 2000;280:286-90
84. สมสกุล ธรรมวิจิตร, Keiko Kataoka, อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, Yoshinari Ohnishi. ผลของสารเคมีที่พบในตะไคร้ต่อเอนไซม์ที่ใช้เมตาบอลิซึมสารพิษในตับ ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ของหนูขาว, *เชี่ยงใหม่เวชสา*. 2542;38(1-2):13-20
85. สมศรี เจริญเกียรติกุล, จุรีพร จิตจำนุญไชย, วชิร ดิษยนุต, เย็นใจ ลีตะฐาน, อุไร เผ่าสังข์ทอง. การศึกษาคุณสมบัติเชิงสุขภาพของอาหารไทยที่นิยมบริโภคต่อระบบการทำงานของบางอย่างของร่างกาย ในหลอดทดลอง (*in vitro*), ในรายงานชุดโครงการวิจัย พัฒนาการผลิตอาหารไทยปลอดภัยสู่ครัวโลก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2549
86. สำนักงานสถิติแห่งชาติ, อัตราการตายต่อประชากร 100,000 คน จำแนกตามสาเหตุที่สำคัญ พ.ศ. 2542-2547, สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข, พ.ศ.2547
87. สำนักงานสถิติแห่งชาติ, อัตราการตายต่อประชากร 100,000 คน จำแนกตามสาเหตุที่สำคัญ พ.ศ. 2548, สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข, พ.ศ.2549

ภาคผนวก ก.

ตำรับพริกแกงและน้ำแกงพร้อมปรุงที่ใช้ในโครงการ(ข้อมูลจากผู้ประกอบการ)

พริกแกงป่า

(ความชื้น 51.1%)

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	สัดส่วน (%ของน้ำหนักรวม)
พริกขี้หนูแห้ง	15	12.5
หอมแดง	10	8.3
กระเทียม	25	20.8
ข่า	20	16.7
ตะไคร้	30	25.0
ผิวมะกรูด	5	4.2
กะปิ	10	8.3
เกลือ	5	4.2
น้ำหนักรวม	120	

น้ำแกงป่า

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	สัดส่วน (%ของน้ำหนักล้างปรุง)
พริกแกงป่า	30	4.3
น้ำซุ๊ปเห็ด	700	
กระชายซอย	2 ราก	(--)
เกลือ	7.5	
ซีอิ๊วขาว	5	
น้ำหนักล้างปรุง	700	

(--) สมุนไพรที่ใส่เพิ่มในน้ำแกงพร้อมปรุง ผู้ประกอบการไม่ระบุน้ำหนัก

พริกแกงเลียง

(ความชื้น 72.8%)

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	สัดส่วน (%ของน้ำหนักรวม)
พริกแห้ง	1 เม็ด	
หอมแดง	20	28.6
กระชาย	20	28.6
พริกไทยป่น	5	7.1
กะปิ	20	28.6
น้ำหนักรวม	70	

น้ำแกงเลียง

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	สัดส่วน (%ของน้ำหนักล้างปรุง)
พริกแกงเลียง	70	11.7
น้ำซุ้จากเห็ด	700	
ซีอิ๊วขาว	5	
เกลือ	2.5	
กุ้งแห้งโขลกหยาบ	1 ช้อนโต๊ะ	
น้ำหนักล้างปรุง	600	

พริกแกงส้ม (ความชื้น 54.6%)

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	สัดส่วน (%ของน้ำหนักรวม)
พริกแห้ง	20	18.2
หอมแดง	70	63.6
กะปิ	15	13.6
เกลือ	5	4.5
น้ำหนักรวม	110	

น้ำแกงส้ม

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	สัดส่วน (%ของน้ำหนักหลังปรุง)
พริกแกงส้ม	50	5
น้ำซุบเห็ด	800	
กระชาย	30	(3)
เกลือ	5	
น้ำปลา	23	
น้ำมะขามเปียก	50	(5)
น้ำตาลปีบ	70	
น้ำหนักล้างปรุง	1000	

() สมุนไพรที่ใส่เพิ่มในน้ำแกงพร้อมปรุง

พริกแกงเหลือง

(ความชื้น 55.3%)

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	สัดส่วน (%ของน้ำหนักรวม)
พริกขี้หนูแห้ง	10	8.3
หอมแดง	20	16.7
กระเทียม	15	12.5
ข่า	10	8.3
ขมิ้นชัน	20	16.7
ตะไคร้	20	16.7
ผิวมะกรูด	3	2.5
กะปิ	15	12.5
เกลือ	5	4.2
น้ำหนักรวม	120	

น้ำแกงเหลือง

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)	สัดส่วน (%ของน้ำหนักล้างปรุง)
พริกแกงเหลือง	120	14.1
น้ำซุปรี่	700	
น้ำปลา	45	
น้ำตาล	100	
เกลือ	7.5	
ส้มแขก	3 ช้อน	(--)
น้ำหนักล้างปรุง	850	

(--) สมุนไพรที่ใส่เพิ่มในน้ำแกงพร้อมปรุง ผู้ประกอบการไม่ระบุน้ำหนัก

น้ำต้มยำ

ส่วนประกอบ	น้ำหนัก (กรัม)
น้ำซุปเห็ด	500
ตะไคร้	1 ต้น*
ข่า	5 แว่น*
รากผักชี	2 ราก*
หอมแดง	1 หัว*
ใบมะกรูด	3 ใบ*
น้ำปลา	45
เกลือ	1
น้ำหนักรวม	(550)*

* ผู้ประกอบการไม่ระบุน้ำหนัก จึงไม่สามารถคิดสัดส่วนได้

ภาคผนวก ข.

รายละเอียดของข้อมูลผลการศึกษาคูณสมบัติเชิงสุขภาพ

ตารางที่ 1: ผลการศึกษาคูณสมบัติด้านการก่อลิ่มเลือด (Anti-thrombosis activity) ของสารสกัดพริก
 แงง (ด้วยบัพเฟอร์และ 70% เอทานอล) และของน้ำแกงโดยเทคนิค Thrombin Time assay

ตัวอย่าง (n=3)	Thrombin Time (วินาที) [†]			
	กลุ่มควบคุม	สารสกัดพริกแกง ด้วยบัพเฟอร์	สารสกัดพริก แกงด้วย 70% เอทานอล	น้ำแกงพร้อม ปรุง
สารละลายบัพเฟอร์ ^a	30.7 ± 1.72			
น้ำกลั่น ^b	28.0 ± 2.4			
แกงป่า		180.8 ± 5.92	80.8 ± 15.6	44.6 ± 9.5
แกงเลียง		> 999	25.8 ± 3.7	37.2 ± 2.2
แกงส้ม		81.8 ± 10.2	60.6 ± 6.0	51.5 ± 9.5
แกงเหลือง		65.7 ± 2.9	68.6 ± 7.8	72.2 ± 19.9
ต้มยำ				44.2 ± 1.5

[†] Thrombin Time = เวลาที่ใช้ในการก่อลิ่มเลือด, mean ± SD

^a กลุ่มควบคุมสำหรับสารสกัดพริกแกง ^b กลุ่มควบคุมสำหรับน้ำแกง

ตารางที่ 2: ผลการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation activity) ของสารสกัดพริกแกงด้วย 70% เอทานอล) และของน้ำแกงโดยเทคนิค DPPH assay

ตัวอย่าง (n=3)	Radical Scavenging Activity (%) [†]		
	กลุ่มควบคุม	สารสกัดพริกแกงด้วย 70%เอทานอล	น้ำแกงพร้อมปรุง
BHA 1 มก./มล.	94.2 ± 0.5		
แกงป่า		87.6 ± 5.6	73.4 ± 10.0
แกงเลียง		92.6 ± 0.7	86.7 ± 1.3
แกงส้ม		92.6 ± 1.0	89.5 ± 2.7
แกงเหลือง		77.4 ± 2.9	83.0 ± 5.9
ต้มยำ			91.6 ± 1.9

[†] Radical Scavenging Activity = ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ , mean ± SD

ตารางที่ 3: ผลการศึกษาคุณสมบัติการต้านความดันโลหิตสูง (Anti-hypertension) ของสารสกัดพริกแกง(ด้วยบัพเฟอร์และ 70% เอทานอล) และของน้ำแกงโดยเทคนิค ACE Inhibitory assay

ตัวอย่าง (n=3)	Inhibition of ACE activity (%) [†]			
	กลุ่มควบคุม	สารสกัดพริกแกงด้วยน้ำ	สารสกัดพริกแกงด้วย 70%เอทานอล	น้ำแกงพร้อมปรุง
Capropril 1 µM	88.5 ± 0.3			
แกงป่า		84.2 ± 2.6	93.9 ± 6.8	52.6 ± 3.6
แกงเลียง		85.7 ± 0.4	83.1 ± 4.0	84.3 ± 6.1
แกงส้ม		98.3 ± 1.8	100	72.3 ± 1.3
แกงเหลือง		96.7 ± 2.8	100	82.7 ± 3.5
ต้มยำ				56.1 ± 1.3

[†] Inhibition of ACE = ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ Angiotensin-I converting enzyme , mean ± SD

ตารางที่ 4: ผลการศึกษาคุณสมบัติชะลอความชรา (Anti-ageing) ของสารสกัดพริกแกง (ด้วยบัพเฟอร และ 70% เอทานอล) และของน้ำแกงโดยเทคนิค Tyrosinase Inhibitory assay

ตัวอย่าง (n=3)	Inhibition of Tyrosinase activity (%) [†]			
	กลุ่มควบคุม	สารสกัดพริกแกงด้วยน้ำ	สารสกัดพริกแกงด้วย 70%เอทานอล	น้ำแกงพร้อมปรุง
Sodiumbenzoate 1 mM	26.1 ± 2.4			
แกงป่า		15.0 ± 1.3	21.9 ± 1.0	54.8 ± 4.1
แกงเลียง		0.0	0.0	29.8 ± 0.4
แกงส้ม		0.0	4.9 ± 4.3	3.8 ± 2.4
แกงเหลือง		17.5 ± 7.2	43.3 ± 11.0	33.7 ± 6.9
ต้มยำ				61.2 ± 17.0

[†] Inhibition of Tyrosinase = ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Tyrosinase , mean ± SD

ตารางที่ 5: ผลการศึกษาคุณสมบัติการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว – Jurkat cells (Apoptosis Induction) ของน้ำแกง

ตัวอย่าง (n=3)	เซลล์ที่รอดชีวิต (%)	เซลล์ที่ตายด้วย Apoptosis (%)	เซลล์ที่ตายด้วย Necrosis (%)
อาหารเลี้ยงเซลล์ C-RPMI	93.1 ± 2.0	5.7 ± 2.6	1.0 ± 0.5
Etoposide	14.0 ± 12.6	70.8 ± 20.3	11.4 ± 6.0
แกงป่า	44.6 ± 12.0	45.0 ± 4.2	10.4 ± 7.8
แกงเลียง	50.0 ± 6.4	47.0 ± 6.9	3.0 ± 1.3
แกงส้ม	29.0 ± 5.5	43.6 ± 2.2	27.3 ± 6.5
แกงเหลือง	30.7 ± 15.6	24.2 ± 2.6	45.1 ± 13.7
ต้มยำ	46.6 ± 5.5	33.5 ± 1.0	19.0 ± 3.4

mean ± SD