



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของสารสกัดจากมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย
ในการต้านการอักเสบ และลดการเกิดอนุมูลอิสระ
ในเซลล์ลำไส้มนุษย์

โดย ชาญณรงค์ เมืองน้อย
พฤศจิกายน พ.ศ. 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของสารสกัดจากมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย ในการ
ต้านการอักเสบ และลดการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์

คณะผู้วิจัย

- นายชาญณรงค์ เมืองน้อย
- ดร. ศิริพร ตันติโพธิ์พัฒน์

สังกัด

สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง “ผลของสารสกัดจากมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วยในการต้านการอักเสบ และลดการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์” เป็นโครงการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจากฝ่ายเกษตรสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่สนับสนุนให้โครงการนี้ได้เริ่มต้นดำเนินการและสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คณะผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณท่านผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ให้คำแนะนำที่มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการวิจัยในครั้งนี้

นอกจากนี้โครงการวิจัยนี้จะไม่สามารถดำเนินการแล้วสำเร็จลุล่วงไปได้ ถ้าปราศจากความร่วมมือ ความช่วยเหลือและกำลังใจจากบุคคลต่าง ๆ ทั้งที่กล่าวมาข้างต้นและอาจไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้

คณะผู้วิจัย

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

ชื่อโครงการ ผลของสารสกัดจากมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วยในการต้านการอักเสบ และลดการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์

ชื่อหัวหน้าโครงการ **หน่วยงานสังกัด** **ที่อยู่** **หมายเลขโทรศัพท์** **โทรสาร** และ **e-mail**

ชื่อ-สกุล นายชาญณรงค์ เมืองน้อย

หน่วยงาน สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

ที่อยู่ สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล 25/25 ถ.พุทธมนตลสาย 4

ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

โทรศัพท์/โทรสาร 0-2800-2380 ต่อ 419/ 0-2441-9344

E-mail nucmn@mahidol.ac.th

ชื่อและสถานที่ติดต่อผู้ร่วมวิจัย **หน่วยงานสังกัด** **ที่อยู่** **หมายเลขโทรศัพท์** **โทรสาร** และ **e-mail**

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) ดร. ศิริพร ตันติโพธิ์พัฒน์

หน่วยงาน สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

ที่อยู่ สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล 25/25 ถ.พุทธมนตลสาย 4

ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

โทรศัพท์/โทรสาร 0-2800-2380 ต่อ 419/ 0-2441-9344

E-mail stuntipopipat@hotmail.com

ปัญหาและความสำคัญของปัญหา

โรคไม่ติดต่อเรื้อรัง เช่น โรคอ้วน เบาหวาน มะเร็ง และหัวใจและหลอดเลือด เป็นปัญหาที่สำคัญระดับโลกรวมทั้งประเทศไทยด้วย พวกสารที่ก่อให้เกิดภาวะการอักเสบ(pro-inflammatory mediators)และอนุมูลอิสระเป็นปัจจัยภายในร่างกายที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุหนึ่งที่น่าไปสู่การเกิดพยาธิสภาพ และเป็นปัจจัยส่งเสริมความรุนแรงของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังหลายชนิด แต่มีการศึกษามากมายที่บ่งชี้ว่าการสารพฤกษเคมีจาก ผัก ผลไม้ และเครื่องเทศสามารถป้องกันหรือลดความเสี่ยงในการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังโดยการลดสารที่ก่อให้เกิดอักเสบและลดการเกิดพวกอนุมูลอิสระ ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีภูมิอากาศแบบร้อนชื้น ทำให้มีความหลากหลายทางชีวภาพ อีกทั้งสภาพภูมิอากาศดังกล่าวมีความเหมาะสมกับการเพาะปลูกพืชพันธุ์ธัญญาหาร ด้วยเหตุนี้เองทำให้ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตอาหารที่สำคัญของโลก โดยเฉพาะผลไม้มีนานาชนิด เรามีผลไม้หลายชนิดมาก มีทั้งชนิดที่ออกผลทั้งปี และออกตามฤดูกาล ผลไม้ไทยมีรสชาติดี หลายชนิดเป็นที่นิยมของต่างชาติ เป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้เป็นกอบเป็นกำ นอกจากรสชาติดีแล้วผลไม้เหล่านั้นยังอุดมสมบูรณ์ไปด้วยสารอาหารมากมาย เช่น วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น นอกจากสารอาหารแล้วผลไม้ต่างๆ โดยเฉพาะผลไม้ที่มีสีสัณยังเป็นแหล่งสำคัญของสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ซึ่งพบในพืชผักต่างๆ และได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางพบว่า สารพฤกษเคมีเหล่านี้มีบทบาทในการส่งเสริมสุขภาพและช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆ โดยลดการเกิดการอักเสบ และด้านการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นการช่วยลดปัจจัยเสี่ยงที่อาจชักนำไปสู่การเกิดความผิดปกติต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้ เป็นต้น

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาศักยภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดและส่วนที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลองของผลไม้ไทย

สิ่งที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงศักยภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดและส่วนที่ผ่านการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ของ มะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย
2. ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่เป็นที่ยอมรับทั้งในและต่างประเทศว่า มะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วยที่เป็นผลไม้ที่นิยมรับประทานกันนั้นมีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะศักยภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นต้นเหตุของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังหลายชนิด
3. ได้ต้นแบบสำหรับการใช้ในการคัดกรองคุณสมบัติต่อสุขภาพจากตัวอย่างอาหารซึ่งมีมากมายหลากหลายชนิดที่รวดเร็ว
4. น่าจะได้เผยแพร่ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

กระบวนการผลิตค้นผลงานดังกล่าวออกสู่การใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยครั้งนี้ไปเสนอเป็นผลงานตามงานวิชาการต่าง ๆ
2. ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลหนึ่งที่ทำให้ทราบถึงข้อดีในการที่จะบริโภคมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลสำหรับเชิญชวนให้ผู้บริโภคหันมาบริโภคผลไม้ไทยมากขึ้น และยังเป็นการส่งเสริมการส่งออกผลไม้ไทยให้แพร่หลายอีกด้วย

วิธีดำเนินงานวิจัย

ตัวอย่างผลไม้ไทยที่ใช้ทำการศึกษา คือ มะละกอ (พันธุ์แขกดำและฮอลแลนด์) ส้มโอ (พันธุ์ขาวน้ำผึ้งและทองดี) กล้วย (กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอมและกล้วยไข่) และมะม่วง (พันธุ์เขียวเสวย แรด น้ำดอกไม้และอกร่อง) ผลไม้เหล่านี้จะถูกนำมาสกัดด้วย 90% เอทานอล หรือ นำไปผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง แล้วจึงนำทั้งสองส่วนนี้มาทำการทดสอบหาประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ

1. การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบของสารสกัดและส่วนที่ผ่านการย่อยของร่างกายของผลไม้ นั้น จะทดสอบโดยใช้เซลล์ลำไส้มนุษย์เป็นแบบในการศึกษา โดยวัดจากปริมาณของ cytokines และ chemokines (IL-6, IL-8 และ TNF- α) ที่หลังจากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ

2. การทดสอบประสิทธิภาพในการลดการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดและส่วนที่ผ่านการย่อยของร่างกายของผลไม้ นั้น จะทดสอบด้วยวิธีทางเคมีและใช้เซลล์ลำไส้มนุษย์เป็นแบบในการศึกษา ดังนี้

2.1. การทดสอบด้วยวิธีทางเคมี จะทดสอบโดยใช้วิธี ORAC, DPPH และ Deoxyribose assay

2.2. การทดสอบโดยใช้เซลล์ลำไส้เป็นแบบในการศึกษานั้นจะใช้ตัวชี้วัดโดยวัดจากตัวอนุมูลอิสระ (ROS) ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบหรือภาวะ oxidative stress

ในการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระนั้น โดยใช้เซลล์ลำไส้เป็นแบบในการทดสอบนั้นจะทำได้โดยการเลี้ยงเซลล์ลำไส้ด้วยสารสกัดหรือส่วนที่ผ่านการย่อยของผลไม้ที่ผสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ (test medium) แล้วจะนำไป incubate ไว้ที่ 37 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเซลล์จะถูกล้างด้วย basal media 1 ครั้งก่อนการกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β ใน basal media เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บ media สำหรับนำไปหาปริมาณของ cytokines (IL-6, IL-8 และ TNF- α) ด้วยวิธี ELISA และทำการเก็บ cell สำหรับนำไปหาปริมาณของ ROS (เป็นตัวชี้วัดของการเกิดอนุมูลอิสระ) ในการวิเคราะห์ผลนั้นถ้าปริมาณของ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ของเซลล์ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดหรือส่วนที่ผ่านการย่อยของร่างกายของผลไม้ แล้วถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบมีน้อยกว่ากลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบเพียงอย่างเดียว นั้น ก็ถือว่าสารสกัดหรือส่วนที่ผ่านการย่อยของร่างกายของผลไม้มีมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ

ผลการวิจัย

สารสกัดจากผลไม้ด้วย 90% เอทานอล แสดงประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระโดยการลดการหลั่งของ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเป็นแบบแปรผันตรงกับความเข้มข้น โดยที่สารสกัดเหล่านั้นไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ และในการตรวจสอบด้วยวิธีทางเคมีก็พบว่า สารสกัดจากผลไม้ก็มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเป็นแบบแปรผันตรงกับความเข้มข้นเช่นเดียวกัน

ในส่วนของผลไม้ที่นำมาผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลองแล้วนำมาทำการทดสอบนั้น พบว่า มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระโดยการลดการหลั่งของ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)สามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ด้วยวิธีทางเคมีเช่นเดียวกับสารสกัดของผลไม้ชนิดนั้น ๆ และผลไม้บางชนิดนั้นยังพบว่า เมื่อนำมาผ่านกระบวนการย่อยแล้วมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าในสารสกัด

จากข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าผลไม้ไทยที่นำมาทดสอบนี้มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ และถึงแม้ว่าจะผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายไปแล้วซึ่งเปรียบเสมือนกับการรับประทานผลไม้เหล่านี้เข้าไป ประสิทธิภาพเหล่านั้นก็ยังคงอยู่และบางชนิดอาจมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นด้วยซ้ำ แต่ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นเพียงข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในหลอดทดลองเท่านั้น ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำไปสู่การศึกษาต่อไป โดยเฉพาะในส่วนของประสิทธิภาพของผลไม้หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายเพื่อที่จะได้ข้อมูลที่ชัดเจนสำหรับการบริโภคเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพจากผลไม้เหล่านี้ นอกจากกระบวนการย่อยของร่างกายแล้ว ควรคำนึงถึงการดูดซึมผ่านเซลล์ลำไส้ และการ metabolism ของร่างกายด้วย โดยเฉพาะการดูดซึมผ่านเซลล์ลำไส้และการ metabolism ของร่างกายเมื่อได้รับสารพฤกษเคมีจากผลไม้เหล่านี้เข้าไป ดังนั้นการที่จะได้ถึงข้อมูลในด้านของประโยชน์ต่อสุขภาพของผลไม้ไทยโดยเฉพาะในส่วนของ การต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระที่ชัดเจนและสมบูรณ์กว่านี้ควรจะทำการศึกษาในส่วนที่เป็น animal และ human model ต่อไป

คำสำคัญ มะละกอ มะม่วง ส้มโอ กล้วย การต้านการอักเสบ การต้านอนุมูลอิสระ
เซลล์ลำไส้มนุษย์

บทคัดย่อ

โครงการ ผลของสารสกัดจากมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย ในการต้านการอักเสบ และลดการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์

ความเป็นมา โรคไม่ติดต่อเรื้อรัง เช่น โรคอ้วน เบาหวาน มะเร็ง และหัวใจและหลอดเลือด เป็นปัญหาที่สำคัญระดับโลกรวมทั้งประเทศไทยด้วย พวกลสารที่ก่อให้เกิดภาวะการอักเสบ(pro-inflammatory mediators)และอนุมูลอิสระเป็นปัจจัยภายในร่างกายที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุหนึ่งนำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพ และเป็นปัจจัยส่งเสริมความรุนแรงของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังหลายชนิด แต่มีการศึกษามากมายที่บ่งชี้ว่าการสารพฤกษเคมีจาก ผัก ผลไม้ และเครื่องเทศสามารถป้องกันหรือลดความเสี่ยงในการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังโดยการลดสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบและลดการเกิดพวกลอนุมูลอิสระ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาศักยภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้ และส่วนของผลไม้ที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย

วิธีการทดลอง นำตัวอย่างแห้งของผลไม้ มาเตรียมเป็นสารสกัดด้วย 90% เอทานอล หรือนำมาผ่านกระบวนการย่อยภายในร่างกายในสภาวะจำลอง การทดสอบการต้านการอักเสบทำโดยการวัดจากปริมาณของ cytokines และ chemokines (IL-6, IL-8 และ TNF- α) จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ และการทดสอบในส่วนของการลดอนุมูลอิสระจะทำการทดสอบด้วยวิธีทางเคมี (ORAC, DPPH and deoxyribose assay) และ หาปริมาณของอนุมูลอิสระ (ROS) ที่เกิดขึ้นในเซลล์ลำไส้มนุษย์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบ

ผลการทดลอง สารสกัดจากผลไม้ด้วย 90% เอทานอล แสดงประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระโดยการลดการหลั่งของ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเป็นแบบแปรผันตรงกับความเข้มข้นและในการตรวจสอบด้วยวิธีทางเคมีก็พบว่า สารสกัดจากผลไม้ก็มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเป็นแบบแปรผันตรงกับความเข้มข้นเช่นเดียวกัน ในส่วนของผลไม้ที่นำมาผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในสภาวะจำลองแล้วนำมาทำการทดสอบนั้น พบว่า มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระโดยการลดการหลั่งของ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และสามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธีทางเคมี จากข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าผลไม้ไทยที่นำมาทดสอบนี้มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ และถึงแม้ว่าจะผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายไปแล้วซึ่งเปรียบเสมือนกับการรับประทานผลไม้เหล่านี้เข้าไป ประสิทธิภาพเหล่านั้นก็ยังคงอยู่แต่การศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาในหลอดทดลอง ดังนั้นการที่จะได้ถึงข้อมูลในด้านของประโยชน์ต่อสุขภาพของผลไม้ไทยที่ชัดเจนและสมบูรณ์กว่านี้ควรจะทำการศึกษาในส่วนที่เป็น animal และ human model ต่อไป

คำสำคัญ สารพฤกษเคมี ผลไม้ไทย การต้านการอักเสบ การต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Effect of *Carica papaya* , *Magifera indica* , *Citrus maxima*, and *Musa sapientum* extract on anti-inflammatory and antioxidant activity in Caco-2 human intestinal cells

Background : Non-communicable chronic diseases are world wide public health problem including Thailand. Pro-inflammatory mediators and radical species are risk factors and play critical roles for developmental pathology of several chronic diseases. Several studies have been demonstrated that phytochemicals in fruits and vegetables could prevent or reduce severity of some chronic diseases by reducing pro-inflammatory mediators and free radicals level.

Objective : This study evaluated the anti-inflammatory and anti-oxidant activities of ethanol extract from Thai fruits and the bioaccessible fraction of Thai fruits (The part of Thai fruits were digested by simulated digestion).

Method : Thai fruits were extracted with 90% ethanol or digested by simulated digestion. The anti-inflammatory activities were evaluated by measuring IL-6, IL-8 and TNF- α producing by activated human intestinal cells. The anti-oxidant activities were assessed by various chemical antioxidant assays (ORAC, DPPH and deoxyribose assay) and intracellular reactive oxygen species (ROS) producing by activated human intestinal cells.

Result : The 90% ethanol extraction of fruits significantly ($p<0.05$) decreased levels of IL-6, IL-8, TNF- α and ROS produced from activated human intestinal cells when compared with induced group in a dose dependent manner. The chemicals assay fruit extracts significantly ($p<0.05$) exhibited free radical scavenging in a dose dependent manner too. The bioaccessible fraction of the fruits, which could be compared with products derived from digested fruits demonstrated significantly ($p<0.05$) decreased levels of levels of IL-6, IL-8, TNF- α and ROS produced from activated human intestinal cells and showed free radical scavenging in the chemical assay in significantly ($p<0.05$). The present study indicates that both extracts and bioaccessible fraction of fruits have anti-inflammatory and antioxidant activities in the intestinal cells. This implies that fruits even after digestion still retains anti-inflammatory and antioxidant activities. This is an *in vitro* study. Thus, the health benefits of fruits should be further investigated in animals and humans.

Key Words : Phytochemicals, Thai fruits, Antioxidant and Anti-inflammatory activities

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
สารบัญเรื่อง	iii
สารบัญตาราง	v
สารบัญภาพ	vi
เนื้อหางานวิจัย	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง	1
2. วัตถุประสงค์	4
3. ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย	4
3.1. การเตรียมตัวอย่าง	6
3.2. การสกัดตัวอย่าง	6
3.3. การจำลองการย่อยภายในร่างกาย	6
3.4. เซลล์ลำไส้มนุษย์ Caco-2	9
3.5. การทดสอบศักยภาพการต้านการอักเสบ (anti-inflammation) ของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้	9
3.6. การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้	10
3.7. การทดสอบศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้	10
3.7.1. ทดสอบศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีทางเคมี	10
3.7.2. ทดสอบศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระ ภายในเซลล์ลำไส้มนุษย์	11
3.8. การทดสอบศักยภาพการต้านการอักเสบและการต้านอนุมูลอิสระ ของตัวอย่างผลไม้หลังผ่านการย่อยเลียนแบบในกระเพาะ และลำไส้เล็ก	12
4. ผลการศึกษา	13
4.1. ผลของสารสกัดจากผลไม้ต่อการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ	13
4.1.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากผลไม้ในเซลล์	13
4.1.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบ ของเซลล์ลำไส้ของสารสกัดจากผลไม้	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดจากผลไม้ด้วยวิธีทางเคมี	27
4.1.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลอิสระ ภายในเซลล์ของสารสกัดจากผลไม้	33
4.1.5 การศึกษาความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของสารสกัด หลังจาก การทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ และการอักเสบในเซลล์	38
4.2 ผลของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยต่อการต้านการอักเสบ และลดการเกิดอนุมูลอิสระ	40
4.2.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบของ เซลล์ลำไส้ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย	40
4.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของผลไม้ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายด้วยวิธีทางเคมี	52
4.2.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลอิสระ ภายในเซลล์ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อย ของร่างกาย	58
4.2.4 การศึกษาความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของผลไม้ หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกาย	63
5. อภิปรายผลการวิจัย	65
5.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบของสารสกัด จากผลไม้และผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย	65
5.2 การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด จากผลไม้และผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายด้วยวิธีทางเคมี	66
5.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ ของสารสกัดจากผลไม้และผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อย ของร่างกาย	67
6. สรุปผลการวิจัย	70

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม	71
ภาคผนวก	74
เอกสารสำหรับการเผยแพร่	
ตารางเปรียบเทียบกิจกรรมตามแผน	

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC ของสารสกัดจากผลไม้	27
ตารางที่ 2 ค่า IC_{30} ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดในการลดการเกิดอนุมูลอิสระ และด้านการอักเสบ	39
ตารางที่ 3 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง	52
ตารางที่ 4 สรุปความสามารถในการลดการเกิดอนุมูลอิสระของผลไม้ทั้ง 12 ชนิด หลังจากผ่านการย่อยของร่างกายในจำลอง	64

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 แผนการดำเนินงานในการวิจัย	5
รูปที่ 2 กระบวนการการจำลองกระบวนการย่อยภายในร่างกาย ในหลอดทดลอง	8
รูปที่ 3 ผลของสารสกัดจากมะละกอ และส้มโอ ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	16
รูปที่ 4 ผลของสารสกัดจากกล้วยต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	17
รูปที่ 5 ผลของสารสกัดจากมะม่วงต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	18
รูปที่ 6 ผลของสารสกัดจากมะละกอ และส้มโอ ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	20
รูปที่ 7 ผลของสารสกัดจากกล้วยต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	21
รูปที่ 8 ผลของสารสกัดจากมะม่วงต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	22
รูปที่ 9 ผลของสารสกัดจากมะละกอ และส้มโอ ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	24
รูปที่ 10 ผลของสารสกัดจากกล้วยต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	25
รูปที่ 11 ผลของสารสกัดจากมะม่วงต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	26
รูปที่ 12 % RSA ของสารสกัดจากมะละกอและส้มโอ	29
รูปที่ 13 % RSA ของสารสกัดจากกล้วย	30
รูปที่ 14 % RSA ของสารสกัดจากมะม่วง	30
รูปที่ 15 % Hydroxyl radicals inhibition ของสารสกัดจากมะละกอและส้มโอ	32
รูปที่ 16 % Hydroxyl radicals inhibition ของสารสกัดจากกล้วย	32
รูปที่ 17 % Hydroxyl radicals inhibition ของสารสกัดจากมะม่วง	33

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 18 ผลของสารสกัดจากมะละกอ และส้มโอ ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	34
รูปที่ 19 ผลของสารสกัดจากกล้วยต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	35
รูปที่ 20 ผลของสารสกัดจากมะม่วงต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	36
รูปที่ 21 ผลของมะละกอ และส้มโอ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำ ด้วย IL-1 β	41
รูปที่ 22 ผลของกล้วยหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	42
รูปที่ 23 ผลของมะม่วงหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	43
รูปที่ 24 ผลของมะละกอ และส้มโอ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำ ด้วย IL-1 β	45
รูปที่ 25 ผลของกล้วยหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	46
รูปที่ 26 ผลของมะม่วงหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	47
รูปที่ 27 ผลของมะละกอ และส้มโอ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำ ด้วย IL-1 β	49
รูปที่ 28 ผลของกล้วย หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	50
รูปที่ 29 ผลของมะม่วง หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	51

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 30 %RSA ของมะละกอและส้มโอหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในสภาวะจำลอง	54
รูปที่ 31 %RSA ของกล้วยหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในสภาวะจำลอง	55
รูปที่ 32 %RSA ของมะม่วงหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในสภาวะจำลอง	55
รูปที่ 33 % Hydroxyl radicals inhibition ของมะละกอและส้มโอ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในสภาวะจำลอง	56
รูปที่ 34 % Hydroxyl radicals inhibition ของมะละกอและส้มโอ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในสภาวะจำลอง	57
รูปที่ 35 % Hydroxyl radicals inhibition ของมะละกอและส้มโอ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในสภาวะจำลอง	57
รูปที่ 36 ผลของมะละกอ และส้มโอ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำ ด้วย IL-1 β	59
รูปที่ 37 ผลของกล้วยหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	60
รูปที่ 38 ผลของมะม่วงหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	61
รูปที่ 39 กลไกของ Flavonoids ในด้านการต้านอนุมูลอิสระและภาวะการอักเสบ	68
รูปที่ 40 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะละกอแขกดำ และ สอัสแลนด์ ที่มีต่อ Caco-2 cells	77
รูปที่ 41 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากส้มโอขาวน้ำผึ้งและทองดี ที่มีต่อ Caco-2 cells	78
รูปที่ 42 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากกล้วยเล็บมือนางและกล้วยน้ำว้า ที่มีต่อ Caco-2 cells	79
รูปที่ 43 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากกล้วยหอมและกล้วยไข่ ที่มีต่อ Caco-2 cells	80

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 44 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะม่วงเขียวเสวยและน้ำดอกไม้วี ที่มีต่อ Caco-2 cells	81
รูปที่ 45 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะม่วงแดงและออกร่อง ที่มีต่อ Caco-2 cells	82
รูปที่ 46 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะละกอและส้มโอที่มีต่อ Caco-2 cells ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	83
รูปที่ 47 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากกล้วยที่มีต่อ Caco-2 cells ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	84
รูปที่ 48 ผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะม่วงที่มีต่อ Caco-2 cells ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	85
รูปที่ 49 ผลความเป็นพิษของมะละกอและส้มโอหลังจากผ่าน กระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลอง ต่อ Caco-2 cells ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	86
รูปที่ 50 ผลความเป็นพิษของกล้วยหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในภาวะจำลอง ต่อ Caco-2 cells ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	87
รูปที่ 51 ผลความเป็นพิษของมะม่วงหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ในภาวะจำลอง ต่อ Caco-2 cells ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย IL-1 β	88

เนื้อหางานวิจัย

1. ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง

ปัจจุบันโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (non-communicable chronic diseases) ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคอ้วน เบาหวาน ความดันโลหิตสูง เป็นปัญหาที่สำคัญทั้งในระดับชาติ และ นานาชาติรวมทั้งประเทศไทยด้วย อัตราความชุกของโรคเหล่านี้มีแนวโน้มสูงขึ้นเป็นลำดับทั่วโลก ปัจจัยของการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังเหล่านี้มีอยู่ด้วยกันหลายสาเหตุ เช่น ปัจจัยทางด้านพันธุกรรมของมนุษย์เอง ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมภายนอก และ ภายในร่างกาย โดยเฉพาะกระบวนการอักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic inflammation) เป็นปัจจัยภายในร่างกายที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุหนึ่งนำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพ และเป็นปัจจัยส่งเสริมความรุนแรงของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังหลายชนิด ถึงแม้กระบวนการอักเสบ (inflammation) จะเป็นปฏิกิริยาปกติของร่างกายในการตอบสนองต่ออันตรายที่มีต้นเหตุทั้งจากภายในและภายนอก ร่างกายเพื่อปรับสภาวะทางชีวเคมีที่ไม่สมดุลให้เข้าสู่สมดุลเพื่อป้องกันมิให้เกิดการเจ็บป่วยขึ้น โดยในขณะเกิดกระบวนการอักเสบเซลล์เม็ดเลือดขาวพวก neutrophil และ monocyte/macrophage จะถูกเหนี่ยวนำให้มีการเคลื่อนย้ายมายังบริเวณที่มีสิ่งแปลกปลอมหรือบริเวณที่เนื้อเยื่อถูกทำลาย พร้อมกับการหลั่งสารจำพวก pro-inflammatory cytokines และ pro-inflammatory enzymes ออกมาเพื่อกำจัดสิ่งแปลกปลอม หรือเพื่อช่วยซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายให้เข้าสู่สภาวะปกติ นอกจากเม็ดเลือดขาวซึ่งเป็น professional immune cells แล้ว เซลล์ในร่างกายอีกหลายชนิด เช่น epithelium จากหลายอวัยวะ ก็สามารถหลั่งสารจำพวก pro-inflammatory mediators ดังกล่าวได้เมื่อถูกกระตุ้นจากตัวกระตุ้น (stimulators) ในสภาวะที่ร่างกายถูกกระตุ้นและเกิดกระบวนการอักเสบแบบเฉียบพลัน (acute inflammation) ร่างกายจะตอบสนองต่อตัวกระตุ้นนั้นๆ โดยใช้เวลาช่วงสั้นๆ รวดเร็ว และในที่สุดร่างกายจะสามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอมหรือซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย และ สามารถปรับตัวเข้าสู่สภาวะปกติได้ อย่างไรก็ตามถ้าร่างกายเกิดพยาธิสภาพบางอย่างซึ่งทำให้สูญเสียการควบคุมกระบวนการดังกล่าวจะทำให้เกิดสภาวะการอักเสบแบบเรื้อรังขึ้นซึ่งสภาวะดังกล่าวนี้ได้มีการพิสูจน์แล้วว่ามีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหลายชนิด โดยเฉพาะโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (Non-communicable chronic diseases) เช่น โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) โรคหัวใจ (cardiovascular diseases) โรคมะเร็ง (cancer) เบาหวาน (diabetes) โรคไขข้ออักเสบ (arthritis) และโรคแพ้ภูมิตนเอง (autoimmune diseases) (Aggarwal & Shishodia, 2004) โดยพบว่าการเกิดพยาธิสภาพ และความรุนแรงของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังเหล่านี้เกิดจากบทบาทของสาร pro-inflammatory cytokines เช่น TNF- α , IL-6 chemokines เช่น IL-8 MCP-1 adhesion molecules เช่น ICAM-1, VCAM-1 และ pro-inflammatory enzymes เช่น inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) ที่หลั่งมาจากเซลล์เม็ดเลือดขาว และ เซลล์อื่นๆ ที่ทำหน้าที่ตอบสนองต่อตัวกระตุ้นในกระบวนการดังกล่าว นอกจาก

หลังสาร pro-inflammatory mediators ดังกล่าวแล้ว เซลล์เหล่านี้ยังผลิตอนุมูลอิสระพวก Reactive Oxygen Species (ROS) Reactive Nitrogen Species (RNS) ในขณะเกิดกระบวนการอักเสบด้วย (Aggarwal *et al.*, 2006) ซึ่งอนุมูลอิสระดังกล่าวมีผลทำให้เนื้อเยื่อ และ อวัยวะเกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งการเกิดภาวะดังกล่าวซ้ำซากเป็นเวลานานนั้นเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผนังเซลล์ (cell membrane), สารพันธุกรรม (DNA), โปรตีน (protein) และ ไขมัน (lipid) ถูก oxidized สูญเสียคุณสมบัติทางธรรมชาติซึ่งเป็นโทษต่อร่างกายโดยรวม โดยสรุปแล้วทั้งสภาวะการอักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic inflammation) และการเกิดอนุมูลอิสระมากเป็นภาวะเสี่ยงต่อการชักนำไปสู่การเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังดังกล่าวด้วย

ในครึ่งศตวรรษที่ผ่านมาได้มีการศึกษามากมายที่บ่งชี้ว่าการบริโภคอาหารจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศในปริมาณที่เหมาะสมสามารถป้องกันการเกิดการอักเสบได้ซึ่งเป็นการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่มีพยาธิสภาพจากการอักเสบได้ (Aggarwal & Shishodia, 2006; Tapsell LC, 2006) ข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่า การบริโภคผักและผลไม้เป็นประจำในปริมาณที่มากพอ สามารถลดอุบัติการณ์การเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้โดยเฉพาะ โรคมะเร็ง (Block G, 1992; Reddy *et al.*, 2003; Steinmetz & Potter, 1996) เนื่องจากผัก ผลไม้ และ เครื่องเทศ นอกจากจะอุดมไปด้วยสารอาหารมากมายหลายชนิดแล้ว ยังเป็นแหล่งของสารที่ไม่ใช่สารอาหารที่เรียกว่า “สารพฤกษเคมี” (phytonutrients or phytochemicals) มากมายหลายชนิด เช่น carotenoids, flavonoids, polyphenols, terpenes, และ phenolic acid เป็นต้น มีงานวิจัยมากมายได้ศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ในระดับโมเลกุลของสารพฤกษเคมีที่สกัดจากอาหาร (crude extract) และ สารบริสุทธิ์ (pure compounds) ในการต่อต้านการอักเสบ (anti-inflammation) การป้องกันการเกิดมะเร็ง (anti-cancer) การต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) การต้านการเกิดเส้นเลือดใหม่ (anti-angiogenesis) และการต้านการกระจายของโรคมะเร็ง (anti-metastasis) เป็นต้น (Aggarwal & Shishodia, 2006)

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีภูมิอากาศแบบร้อนชื้น ทำให้มีความหลากหลายทางชีวภาพ อีกทั้งสภาพภูมิอากาศดังกล่าวมีความเหมาะสมกับการเพาะปลูกพืชพันธุ์ธัญญาหารด้วยเหตุนี้เองทำให้ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตอาหารที่สำคัญของโลก ไม่ว่าจะเป็น ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง โดยเฉพาะผลไม้نانาชนิด เรามีผลไม้หลายชนิดมาก มีทั้งชนิดที่ออกผลทั้งปี และออกตามฤดูกาล ผลไม้ไทยมีรสชาติดี หลายชนิดเป็นที่นิยมของต่างชาติ เป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้เป็นกอบเป็นกำ นอกจากรสชาติที่ดีแล้วผลไม้เหล่านี้ยังอุดมสมบูรณ์ไปด้วยสารอาหารมากมาย เช่น วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น นอกจากสารอาหารแล้วผลไม้ต่างๆ โดยเฉพาะผลไม้ที่มีสีสัณยังเป็นที่สำคัญของสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ซึ่งพบในพืชผักต่างๆ และได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางพบว่า สารพฤกษเคมีเหล่านี้มีบทบาทในการส่งเสริมสุขภาพและช่วย

ป้องกันการเกิดโรคต่างๆ โดยลดการเกิดการอักเสบ และด้านการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นการช่วยลดปัจจัยเสี่ยงที่อาจชักนำไปสู่การเกิดความผิดปกติต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้ เป็นต้น

มะละกอ (*Carica papaya*), มะม่วง (*Mangifera indica*), ส้มโอ (*Citrus maxima*), และกล้วย (*Musa sapientum*) เป็นผลไม้ไทยที่นิยมรับประทานกันทั่วไป โดยรับประทานกันในรูปแบบต่าง ๆ ดังนี้ มะละกอ กล้วย และส้มโอนั้นผู้บริโภคนิยมรับประทานกันในรูปของผลไม้สุก มะม่วงนิยมรับประทานทั้งในรูปของผลไม้ดิบ และ สุก เช่น ในรูปแบบดิบรับประทานกับน้ำปลาหวาน พริกกับเกลือ ในรูปแบบสุกรับประทานกับข้าวเหนียวมัน นอกจากนี้มะม่วงยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นรูปแบบอื่นได้อีก เช่น นำมาทำเป็นเครื่องดื่ม หรือ มะม่วงกวน เป็นต้น ได้มีการศึกษาหาปริมาณสารพฤกษเคมีสำคัญในมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย พบว่า มีสารพฤกษเคมีที่สำคัญหลากหลายชนิดดังนี้

ในมะละกอและมะม่วงสุกพบสารพฤกษเคมีที่สำคัญคือสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งมีฤทธิ์ในการด้านการเกิดการอักเสบ ป้องกันการเกิดมะเร็ง การเกิดเนื้องอก และด้านการเกิดอนุมูลอิสระ (Rui Hai Liu, 2004; Yokomizo & Moriwaki, 2006) เป็นต้น มีการศึกษาทางเภสัชวิทยาพบว่า สารสกัดจากมะละกอและมะม่วงสุกมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ ยับยั้งการเกิดเนื้องอกที่อาจส่งผลก่อให้เกิดมะเร็ง ในขณะที่เดียวกันก็มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วย เช่น จากการศึกษาของ Nayak และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะละกอในการช่วยสมานแผล (wound healing) ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin แล้วทำให้เกิดแผล พบว่า หนูที่เป็นเบาหวานหลังจากได้รับสารสกัดจากมะละกอแล้วแผลจะหายเร็วกว่าหนูในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัดจากมะละกอ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากมะละกอนั้นยังช่วยลดความกว้างของปากแผลได้ถึง 77% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากมะละกอนั้นน่าจะมีส่วนช่วยในการสมานแผลซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับการลดพยาธิสภาพของการอักเสบ อย่างไรก็ตาม ยังไม่ได้มีการศึกษาถึงกลไกของสารสกัดดังกล่าว และจากการศึกษาของ Garrido และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากมะม่วงสุกในการยับยั้งการเกิด nitric oxide (NO) และ tumor necrosis factor (TNF- α) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดสถานะการอักเสบ (active inflammation markers) โดยทำการศึกษาในเซลล์ macrophage และ microglia ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วย LPS พบว่า สารสกัดจากมะม่วงสามารถยับยั้งการสังเคราะห์ NO และ TNF- α ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพในบริเวณที่มีการอักเสบ

ส้มโอเป็นพืชในกลุ่ม citrus ซึ่งมีสารพฤกษเคมีที่สำคัญ คือ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งจะมีคุณสมบัติในการลดการอักเสบและด้านการเกิดอนุมูลอิสระ จากการศึกษาของ Choi และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดจากเปลือกของ citrus fruit สามารถยับยั้งการแสดงออกของ NF- κ B (activation) และ ลดการเกิด ROS จากเซลล์ macrophage ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ได้ดีมาก

ประเทศไทยมีกล้วยหลากหลายชนิดมาก โดยกล้วยนั้นมีสารพฤกษเคมีที่สำคัญคือ 2-pentanone จากการศึกษาของ Pettersson และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาผลของ 2-pentanone กล้วยต่อการหลั่ง prostaglandin และการแสดงออกของ COX-2 protein ในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ พบว่าสารสกัด 2-pentanone ช่วยลดการแสดงออกของ COX-2 และลดการหลั่ง prostaglandin ซึ่งเป็น product ของ COX-2 ซึ่งสารทั้งสองชนิดเป็นดัชนีชี้วัดของการเกิดการอักเสบ

จากการศึกษาที่ผ่านมาดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการศึกษาดังกล่าวถึงคุณสมบัติของกล้วยในการบริโภค มะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย นั้นยังมีไม่มากนัก และการศึกษาส่วนใหญ่จะเป็นลักษณะที่ศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดต่อหน้าที่และระบบต่างๆของร่างกายโดยตรง ซึ่งยังไม่มีการศึกษาถึงคุณสมบัติทางชีวภาพ (Biological function) ของสารเหล่านี้หลังจากที่ผ่านกระบวนการย่อยและการดูดซึม (Simulated gastrointestinal digestion) ที่เป็นสภาวะที่เกิดขึ้นจริงในร่างกายเมื่อรับประทานผลไม้เหล่านี้เข้าไป

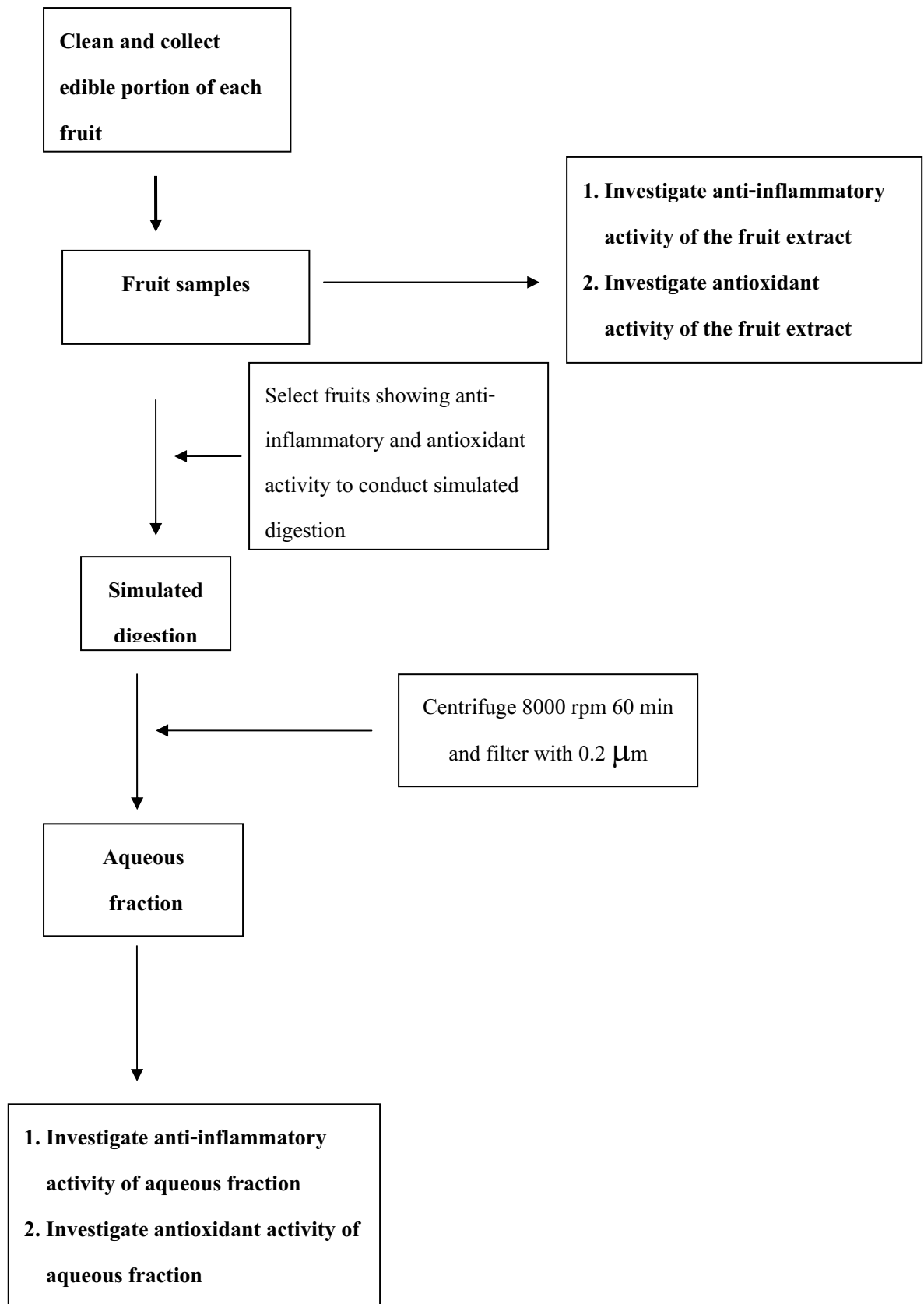
ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาคูสมบัติทางชีวภาพของมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย ในแง่ของการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง โดยทำการศึกษาจากมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย ที่นิยมรับประทานกันทั่วไปทั้งใน และนอกประเทศ โดยทำการทดสอบกับสารสกัดจากผลไม้ดังกล่าวและผลไม้ที่ผ่านกระบวนการย่อย และการดูดซึมแล้ว โดยจำลองการย่อยผลไม้เหล่านี้ด้วยน้ำย่อย (Enzymes) ในกระเพาะ และ ลำไส้เล็ก หลังจากนั้นผลไม้ที่ผ่านการย่อยแล้วถูกดูดซึมเข้าเซลล์ลำไส้ของมนุษย์ (absorption via intestinal epithelial cell) ก่อนกระตุ้นเซลล์ลำไส้ให้เกิดการอักเสบด้วย IL-1 β เป็นต้นแบบในการศึกษาคูสมบัติในการป้องกันการเกิดการอักเสบในลำไส้

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาศักยภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย
2. เพื่อศึกษาศักยภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของ มะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย หลังจากผ่านการย่อยด้วยกระบวนการที่เลียนแบบกระบวนการย่อยภายในกระเพาะ และลำไส้

3. ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

ศึกษาถึงกลไกในการป้องกันการเกิดการอักเสบของสารสกัดในมะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วยทั้งก่อนและหลังจากที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายซึ่งเปรียบเสมือนกับการที่รับประทานผลไม้เหล่านี้เข้าไป ดังแผนการดำเนินงานในการทำการวิจัยแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แผนการดำเนินงานในการวิจัย

การทดลองประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างผลไม้ทั้งหมดจะถูกซื้อจากตลาดสาละยา ตลาดสี่มุมเมืองแล้วจึงนำมารวมกันเพื่อให้เกิดความหลากหลายของแหล่งผลิตของผลไม้แต่ละชนิด ผลไม้ที่นำมาทำการศึกษาชิ้นเป็นผลไม้ที่ได้ตลอดปี การศึกษานี้จะทำการศึกษาลำไย 4 ชนิด คือ มะละกอ มะม่วง ส้มโอ และกล้วย ซึ่งทำการศึกษาน้อยชนิดละ 2 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่นิยมรับประทานและรู้จักกันในประเทศ ดังนี้

3.1.1 มะละกอสุก (แขกดำ และ สอัสแลนด์)

3.1.2 มะม่วงดิบ (เขียวเสวย และ แรด) มะม่วงสุก (น้ำดอกไม้ และ őr่อง)

3.1.3 ส้มโอ (ทองดีและขาวน้ำผึ้ง)

3.1.4 กล้วย จะศึกษาใน กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ และกล้วยเล็บมือนาง

ตัวอย่างทั้งหมดถูกทำให้แห้งโดย Freeze dry แบ่งเก็บในช่อง aluminum foil ป้องกันแสง blow ด้วยไนโตรเจนเพื่อป้องกันการออกซิไดส์ของออกซิเจนก่อนเก็บในตู้เย็น -20°C

3.2 การสกัดสารตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ถูกทำให้แห้งแล้วจะถูกนำมาสกัดด้วย 90% แอลกอฮอล์ (0.1 กรัมตัวอย่างแห้งต่อ 3 ml 90% แอลกอฮอล์) sonicate 10 นาที จากนั้น นำไปปั่นด้วย centrifuge 6000 รอบต่อนาที สกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง ทำให้แห้งด้วย Rotary evaporator 45°C ไล่ออกซิเจนด้วยก๊าซไนโตรเจน หุ้มด้วย foil เพื่อป้องกันแสง ก่อนเก็บไว้ใน -20°C

3.3 การจำลองการย่อยภายในร่างกาย

ทำการจำลองการย่อยให้เหมือนกับระบบการย่อยของร่างกาย (simulated digestion) โดยแบ่งออกเป็น 2 ระยะคือ ระยะของการย่อยจากกระเพาะอาหาร (gastric phase) และระยะของการย่อยจากลำไส้เล็ก (small intestinal phase) โดยทำตามหลักการของ Garrett และคณะ (Garrett et al., 1999) และ Ferruzzi และคณะ (Ferruzzi et. al., 2006) ดังแสดงในรูปที่ 2

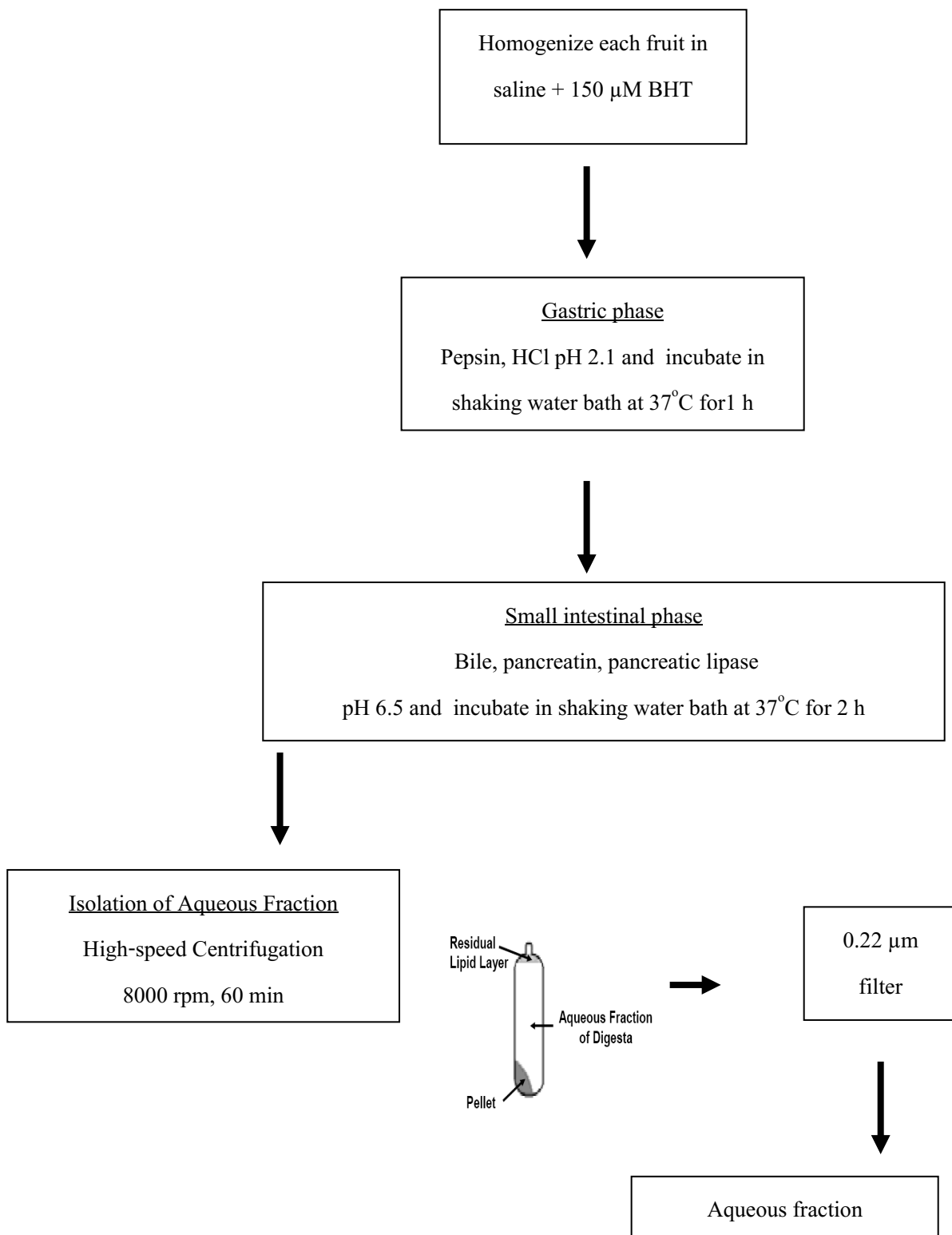
3.3.1 Gastric phase

นำตัวอย่างผลไม้แห้งที่ได้ทำการเตรียมไว้มาผสมกับ saline (120 mM NaCl) ในอัตราส่วน 0.6 – 0.8 กรัมของตัวอย่าง ต่อ 30 ml 120 mM NaCl+ 150 μM BHT ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 2.1 ด้วย 1M HCl แล้วเติม pepsin (40 mg/ml in 100 mM HCl) เพื่อ hydrolyze ตัวอย่างผลไม้ จากนั้นนำไปย่อยใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.3.2 Small intestinal phase

เมื่อครบ 1 ชั่วโมงแล้วนำตัวอย่างจาก gastric phase มาทำการปรับ pH ให้ได้ประมาณ 6.0 ด้วย 1M NaHCO_3 แล้วเติม bile extract (40 mg/ml in 100 mM NaHCO_3), pancreatin (10 mg/ml in 100 mM NaHCO_3) และ lipase (5 mg/ml in 100 mM NaHCO_3) จากนั้นปรับ pH ให้ได้ประมาณ 6.5 ด้วย 1 M NaOH นำไปย่อยต่อใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

เมื่อครบกำหนดแล้วตัวอย่างผลไม้ที่ผ่านกระบวนการย่อยทั้ง 2 ขั้นตอนนี้แล้วจะเรียกว่า **Digesta** หลังจากนั้น นำ digesta ที่ได้ไปทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 8000 rpm เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำส่วนใสด้านบนไปทำการกรองด้วย filter membrane ขนาด 0.2 ไมครอน ของเหลวที่ผ่านการกรองจะเรียกว่า **Aqueous fraction**



รูปที่ 2 กระบวนการการจำลองกระบวนการย่อยภายในร่างกายในหลอดทดลอง (*In vitro* simulated digestion)

3.4 เซลล์ลำไส้มนุษย์ Caco-2

cell ที่ใช้คือ Caco – 2 cell จาก ATCC และใช้อาหารเลี้ยงเซลล์คือ complete media ซึ่งประกอบไปด้วย 15% (v/v) Heat inactivated fetal bovine serum (FBS), 1% (v/v) L-glutamine, 1% (v/v) nonessential amino acids, 1% (v/v) penicillin-streptomycin (antibiotic) และ 0.2% (v/v) fungizone (antifungal) และ basal media (DMEM) ซึ่ง complete media (cDMEM + 15%FBS) จะทำการเปลี่ยนให้เซลล์ทุก ๆ 2 วัน และหลังจากที่เจริญเต็มที่ (post-confluence) (ประมาณ 4-5 วัน) FBS ลงเหลือ 7.5% v/v (cDMEM + 7.5%FBS) ใน complete media

เลี้ยง Caco-2 cells ที่ความเข้มข้น 4×10^5 cells/ml ใน cDMEM + 15%FBS ใน 6 well plate และจะทำการเปลี่ยน media ให้เซลล์ทุก ๆ 2 วัน และหลังจากที่เจริญเต็มที่ (post-confluence) แล้ว (ประมาณ 4-5 วัน) จะใช้ cDMEM + 7.5%FBS เลี้ยงเซลล์โดยเปลี่ยนให้ทุก ๆ 2 วันเช่นกันและจะนำเซลล์ ในช่วง 11 – 14 หลังจากเจริญเต็มที่ (post-confluence) มาทำการศึกษาซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์มีคุณสมบัติทางชีวภาพใกล้เคียงกับเซลล์ลำไส้เล็กคือมี microvilli และ enzymes ต่างๆ

3.5 การทดสอบศักยภาพการลดการเกิดอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้

นำสารสกัดจากผลไม้ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.2 มาละลายด้วย DMSO และ EtOH ในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้อย่างละ 100 μ l จากนั้นนำส่วนตัวอย่างที่ละลายแล้วไปเจือจางต่อ ด้วย basal media ให้เป็น 1:500, 1:1000 และ 1:2000 ซึ่งส่วนผสมนี้จะเรียกว่า test medium จากนั้นจึงนำไปทดสอบกับเซลล์ที่ได้ทำการเลี้ยงไว้

การทดสอบทำโดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออก จากนั้นเซลล์จะถูกล้างด้วย basal media 1 ครั้งก่อนที่จะเติม test media โดยจะทำการแบ่งเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้

- | | |
|------------|--|
| กลุ่มที่ 1 | เป็นกลุ่ม vehicle control (negative control) |
| กลุ่มที่ 2 | กลุ่ม IL-1 β (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) |
| กลุ่มที่ 3 | กลุ่ม sample 1:500 (กลุ่มที่ได้รับ test medium เพียงอย่างเดียว) |
| กลุ่มที่ 4 | กลุ่ม sample 1:500 + IL-1 β |
| กลุ่มที่ 5 | กลุ่ม sample 1:1000 + IL-1 β |
| กลุ่มที่ 6 | กลุ่ม sample 1:2000 + IL-1 β |

เมื่อทำการเติม test medium แล้วจะนำไป incubate ไว้ที่ 37 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นเซลล์จะถูกล้างด้วย basal media 1 ครั้งก่อนการกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β ใน basal media เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บ media สำหรับนำไปหาปริมาณของ cytokines (IL-6, IL-8 และ TNF- α) ด้วยวิธี ELISA และทำการเก็บ cell สำหรับนำไปหาปริมาณของ ROS (เป็นตัวชี้วัดของการเกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งจะนำไปทดสอบในข้อ 3.7.2) และในการรายงานผลจะรายงานผลเป็น% Cytokine inhibition ซึ่งจะทำการคำนวณดังนี้

% Cytokine inhibition

$$= \frac{(\text{cytokines conc. of IL-1}\beta \text{ group} - \text{cytokines conc. of sample group}) \times 100}{\text{cytokines conc. of IL-1}\beta \text{ group}}$$

3.6 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้

ก่อนทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวภาพของสารสกัด ต้องทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากผลไม้ เพื่อให้แน่ใจว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบไม่มีผลต่อจำนวนเซลล์หรือไม่มีพิษในการทำลายเซลล์ ซึ่งทำการทดสอบโดยการทำการทดลองในข้อ 3.5 โดยหลังจากเก็บ culture media เพื่อวัดปริมาณของ cytokines แล้ว ทำการล้าง cell ด้วย PBS แล้วย้อม cell ด้วยสี sulforhodamine B (0.04% ใน 10% acetic acid) 20 นาที ล้าง cell ด้วย 1% acetic acid ปล่อยให้แห้ง ละลายสีซึ่งย้อม protein ใน cell ด้วย 10 mM Tris-hydroxymethyl aminomethane วัดความเข้มของสี (absorbance) ซึ่งปริมาณของ cell ที่มีชีวิตจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มของสี การคำนวณปริมาณของ cell ที่มีชีวิต ใช้ค่า absorbance ที่วัดได้จาก cell แต่ละกลุ่ม เปรียบเทียบกับ absorbance ของกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัด (กลุ่ม vehicle control) (Houghton et. al., 2007)

3.7 การทดสอบศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้

3.7.1 ทดสอบศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีทางเคมี โดยนำตัวอย่างผลไม้แห้งมาสกัดด้วย 90% เอทานอล แล้วนำไปทดสอบด้วยวิธีทางเคมี ซึ่งในการศึกษานี้จะใช้ 3 วิธีในการทดสอบ คือ

3.7.1.1 Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

วัดความสามารถในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิ 37°C ของสาร peroxy radical ซึ่งถูกกระตุ้นโดย สาร 2,2'-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) โดยใช้ fluorescein wavelength ที่ 565 nm excitation ที่ 540 nm (Huang et. al., 2002; Shin et. al., 2007) และรายงานผลเป็นปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ ($\mu\text{mol of Trolox equivalent per gram}$) จากตัวอย่างผลไม้ โดยเปรียบเทียบกับตัว standard (Trolox) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

3.7.1.2 DPPH (1,1-diphenyl-picrylhydrazyl)

วัดประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างโดยนำสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้มาทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระที่เสถียร คือ DPPH จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer และเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีสารสกัดจากตัวอย่างของผลไม้ โดยมี Trolox เป็นตัว standard ในการเปรียบเทียบ ถ้าหากสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ที่ทดสอบมีฤทธิ์ในการกำจัด DPPH ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะลดลง และการวัดด้วยวิธีนี้จะรายงานผลเป็น

% การกำจัดสารอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging activity; %RSA) (Amarowicz et. al., 2004)

โดยคำนวณดังนี้

$$\% \text{ RSA} = \frac{(\text{OD}_{\text{Rx control}} - \text{OD}_{\text{BI control}}) - (\text{OD}_{\text{Rx sample}} - \text{OD}_{\text{BI sample}}) \times 100}{(\text{OD}_{\text{Rx control}} - \text{OD}_{\text{BI control}})}$$

โดยที่ $\text{OD}_{\text{BI control}}$ และ $\text{OD}_{\text{BI sample}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม (DI water) และกลุ่มของสารสกัดตัวอย่างผลไม้ที่ไม่ใส่ DPPH ส่วน $\text{OD}_{\text{Rx control}}$ และ $\text{OD}_{\text{Rx sample}}$ คือค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม และกลุ่มของสารสกัดตัวอย่างผลไม้ที่ใส่ DPPH

3.7.1.3 Deoxyribose assay

วัดประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ จากตัวอย่างผลไม้โดยวัดจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (TBARS) จากปฏิกิริยาระหว่าง deoxyribose กับ ตัวอนุมูลอิสระ (hydroxyl radicals) ที่เกิดจาก Fe^{2+} ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 โดยปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาของสารอนุมูลอิสระที่ได้กล่าวข้างต้นนั้นจะวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ในการวิเคราะห์ผล ถ้าหากสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ทดสอบมีฤทธิ์ในการกำจัด อนุมูลอิสระ (hydroxyl radicals) ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะลดลงเมื่อเทียบกับตัวที่ไม่มีสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ และในการรายงานผลจะรายงานผลเป็น % hydroxyl radicals inhibition ซึ่งทำการคำนวณดังนี้

$$\% \text{ hydroxyl radicals inhibition} = 100 \times [(A_0 - A_s) / A_0]$$

โดยที่ A_0 คือค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม ส่วน A_s คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้

3.7.2 ทดสอบศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์โดยใช้เซลล์มะเร็งลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระด้วย IL-1 β

ในการวัดหาปริมาณของ ROS นั้น จะใช้เซลล์ชุดเดียวกับชุดที่วิเคราะห์ปริมาณของ cytokines โดยหลังจากเก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณของ cytokines แล้ว ทำการล้างเซลล์ด้วย basal media จากนั้นบ่มเซลล์ด้วย 5 μM DCF-DA ละลายใน basal media ที่ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างเซลล์ด้วย cold PBS แล้วทำให้เซลล์แตกด้วย lysis buffer ปั่นที่ 14,000 รอบต่อนาที นำส่วนใสด้านบนไปวัดปริมาณ ROS โดยใช้ เครื่อง spectrofluorometer (de Souza, et. al., 2007) และในการรายงานผลจะรายงานผลเป็น % ROS inhibition ซึ่งจะทำการคำนวณดังนี้

$$\% \text{ ROS inhibition} = \frac{(\text{OD of IL-1}\beta \text{ group} - \text{OD. of sample group}) \times 100}{\text{OD of IL-1}\beta \text{ group}}$$

3.8 การทดสอบศักยภาพการลดอนุมูลอิสระและการต้านการอักเสบของตัวอย่างผลไม้หลังผ่านกรวยละเอียดแบบในกระเพาะ และลำไส้เล็ก

นำตัวอย่างผลไม้จากข้อ 3.1 มาผ่านการเลียนแบบกระบวนการย่อยดังแสดงในรูปที่ 2 นำส่วน aqueous fraction ไปทำการทดสอบ โดยผสม aqueous fraction กับ basal media ในอัตราส่วน 1: 3 (ปริมาตร/ปริมาตร) ซึ่งส่วนผสมของ aqueous fraction กับ basal media นี้จะเรียกว่า test medium (จะได้ความเข้มข้นของตัวอย่างผลไม้ 6 mg/ml)

การทดสอบทำโดยนำอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออก จากนั้นล้าง ด้วย basal media 1 ครั้งก่อนที่จะเติม test media โดยจะทำการแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

- | | |
|------------|---|
| กลุ่มที่ 1 | เป็นกลุ่ม blank (no food sample and IL-1 β) |
| กลุ่มที่ 2 | เป็นกลุ่ม positive control หรือ กลุ่ม IL-1 β (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เท่านั้น) |
| กลุ่มที่ 3 | กลุ่ม sample (กลุ่มที่ได้รับ test medium เพียงอย่างเดียว) |
| กลุ่มที่ 4 | กลุ่ม sample + IL-1 β |

ใส่ Test medium บ่มไว้ 4 ชั่วโมงเพื่อให้เซลล์ดูดซึม ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β อีก 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นเก็บน้ำเลี้ยงเซลล์มาทำการทดสอบการต้านการอักเสบ และเก็บเซลล์เพื่อหาปริมาณอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับการทดสอบในข้อ 3.5 และ 3.7

3.9 การทดสอบทางสถิติ

ประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดส่วนที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยวิธีการจำลองจากตัวอย่างผลไม้ของการศึกษานี้ จะแสดงในรูปของ Mean $\pm$ SD และใช้ One Way ANOVA เป็นสถิติสำหรับการวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม โดยใช้การทดสอบของ Scheffe และ Duncan หากค่า $P < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. ผลการศึกษา

4.1 ผลของสารสกัดจากผลไม้ต่อการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ

4.1.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากผลไม้ในเซลล์

เซลล์ลำไส้คน (Caco-2 human intestinal-like cell line) ทำการสั่งซื้อจาก ATCC passage ที่ 19 ซึ่งในการศึกษานี้จะใช้ culture ไม่เกิน passage ที่ 40 ทำการเลี้ยงใน complete medium ที่มี 150 mL/L fetal bovine serum ใน basal medium ซึ่งประกอบด้วย Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) ที่มี 2 mmol/L L-glutamine, 10 mL/L nonessential amino acids, 100,000 U/L penicillin 0.1 mg/L streptomycin 0.5 mg/L fungizone 15 mmol/L of HEPES and 44 mmol/L sodium bicarbonate จะบ่มเลี้ยงเซลล์ในภาวะ 5% คาร์บอนไดออกไซด์ และ 95% อากาศ ร่วมกับความชื้นที่ 85-95% ณ อุณหภูมิ 37°C ทำการขยายเซลล์ (split) เมื่อมีการแบ่งตัวและเจริญได้ โดยประมาณ 80% confluency

การศึกษความเป็นพิษและประสิทธิภาพในการลดอนุมูลอิสระในเซลล์ใช้เซลล์ 0.5×10^5 ต่อหลุมใน 6 well dish เลี้ยงตามสภาวะดังกล่าวจะทำการเปลี่ยน culture medium ทุก 48 ชั่วโมง ลดปริมาณซีรัมลงเหลือ 75 mL/L ใน culture medium เมื่อเซลล์เจริญเติบโตได้ 100% confluency และยังคงทำการเปลี่ยนทุก 48 ชั่วโมง และจะทำการศึกษา เมื่อเซลล์อยู่ในระยะ 10-14 วันหลังจาก confluency

การศึกษาความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของสารสกัด

หลังจากเลี้ยงเซลล์ด้วยสารสกัดจากตัวอย่าง (ใช้ 5 ความเข้มข้น) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างเซลล์ด้วย cold PBS 1 ครั้ง แล้วเติม cold PBS 2 ซีซีต่อหลุม fix เซลล์โดยเติม 50 % cold TCA 0.5 ซีซีต่อหลุม บ่มที่ 4°C 2 ชั่วโมง ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 5 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง ย้อมเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B (0.04% in 10% acetic acid) 20 นาที ล้างเซลล์ด้วย 1% acetic acid 4 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง ละลายสีซึ่งย้อมโปรตีนในเซลล์ด้วย 10 mM Tris-hydroxymethyl aminomethane 2 ซีซีต่อหลุม เขย่า 5 นาที วัดความเข้มของสี (absorbance) ที่ 500 nm และ background ที่ 690 nm ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มของสี การคำนวณปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (viability) ใช้ค่า absorbance จากผลลัพธ์ของความเข้มของสีที่ 500 nm หักออกจากความเข้มของสีที่ 690 nm โดยเปรียบเทียบกับความเข้มของสีในหลุมกลุ่มควบคุม (เซลล์ที่ได้รับเฉพาะ basal media) คิดเป็น 100%

ผลการทดสอบ (แสดงในภาคผนวก ค.)

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดแปดผลโดยคิดว่าจำนวนเซลล์ในกลุ่มควบคุม (เซลล์ที่ได้รับเฉพาะ basal media) เป็น 100 % เปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ที่เลี้ยงได้รับสารสกัดจากตัวอย่างดังกล่าว 5 ความเข้มข้น โดยสารสกัดที่ทำให้เซลล์ตายมากกว่า 10% (อัตราการรอดน้อยกว่า 90%) ถือว่าที่ความเข้มข้นนั้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์ จะไม่นำความเข้มข้นนั้นมาทดสอบต่อ

จากผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิดที่ความเข้มข้น 20 mg/ml ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังแสดงในภาคผนวก ค. กล่าวคือเซลล์ที่เลี้ยงร่วมกับสารสกัดที่ความเข้มข้นดังกล่าว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เซลล์ตายน้อยกว่า 10% ดังนั้นปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ควรจะนำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระคือเริ่มต้นที่ 20 mg/ml

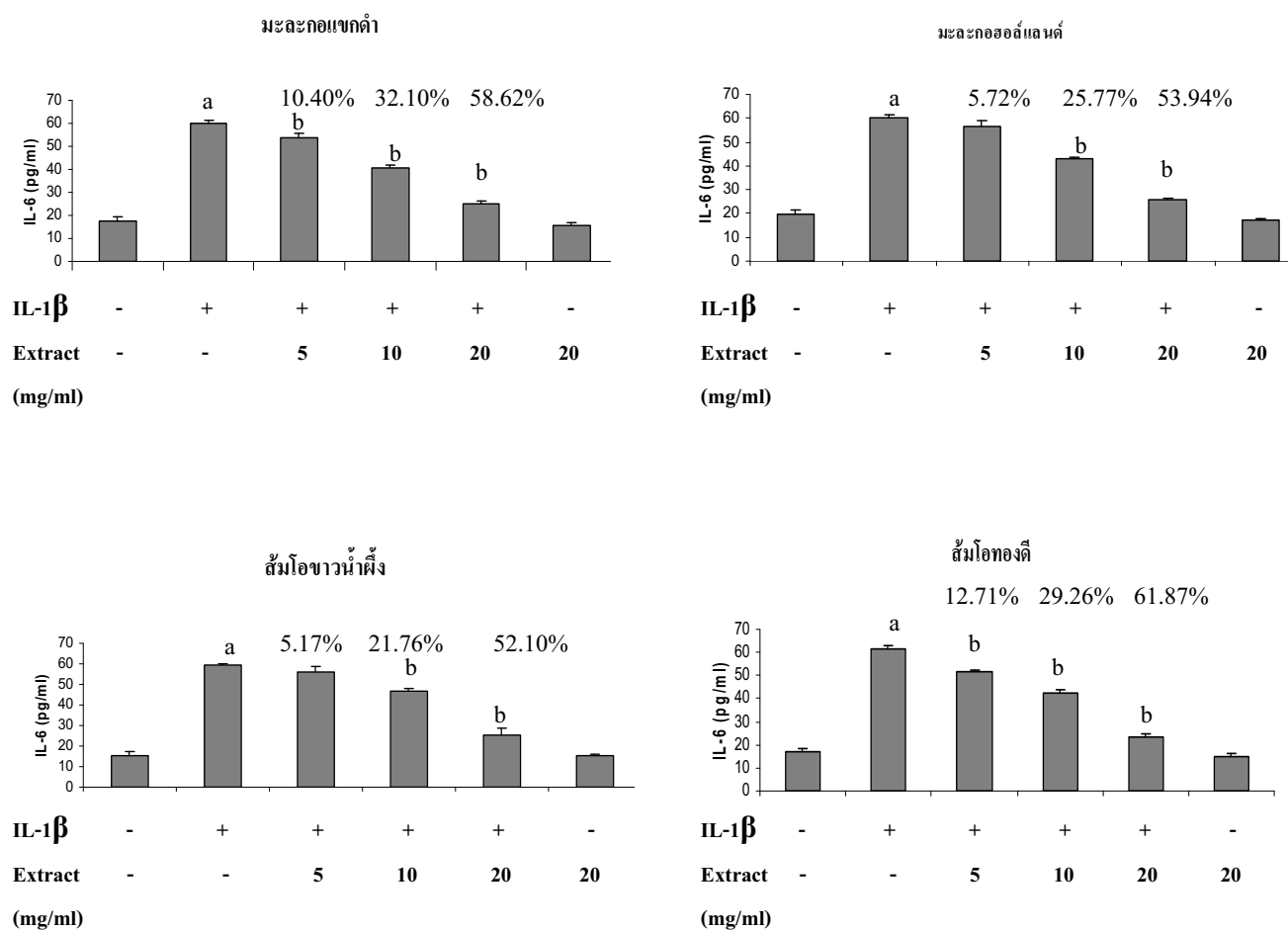
4.1.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบของเซลล์ลำไส้ของสารสกัดจากผลไม้

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากผลไม้ต่อการต้านการอักเสบของเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β นั้น ทำการวัดจากปริมาณของ chemokines และ cytokines ที่หลั่งออกมาจากเซลล์ลำไส้ที่ได้รับหรือไม่ได้รับสารสกัดจากผลไม้และถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ โดย chemokines และ cytokines ที่ทำการวัดจากเซลล์ลำไส้ ได้แก่ IL-6, IL-8 และ TNF- α

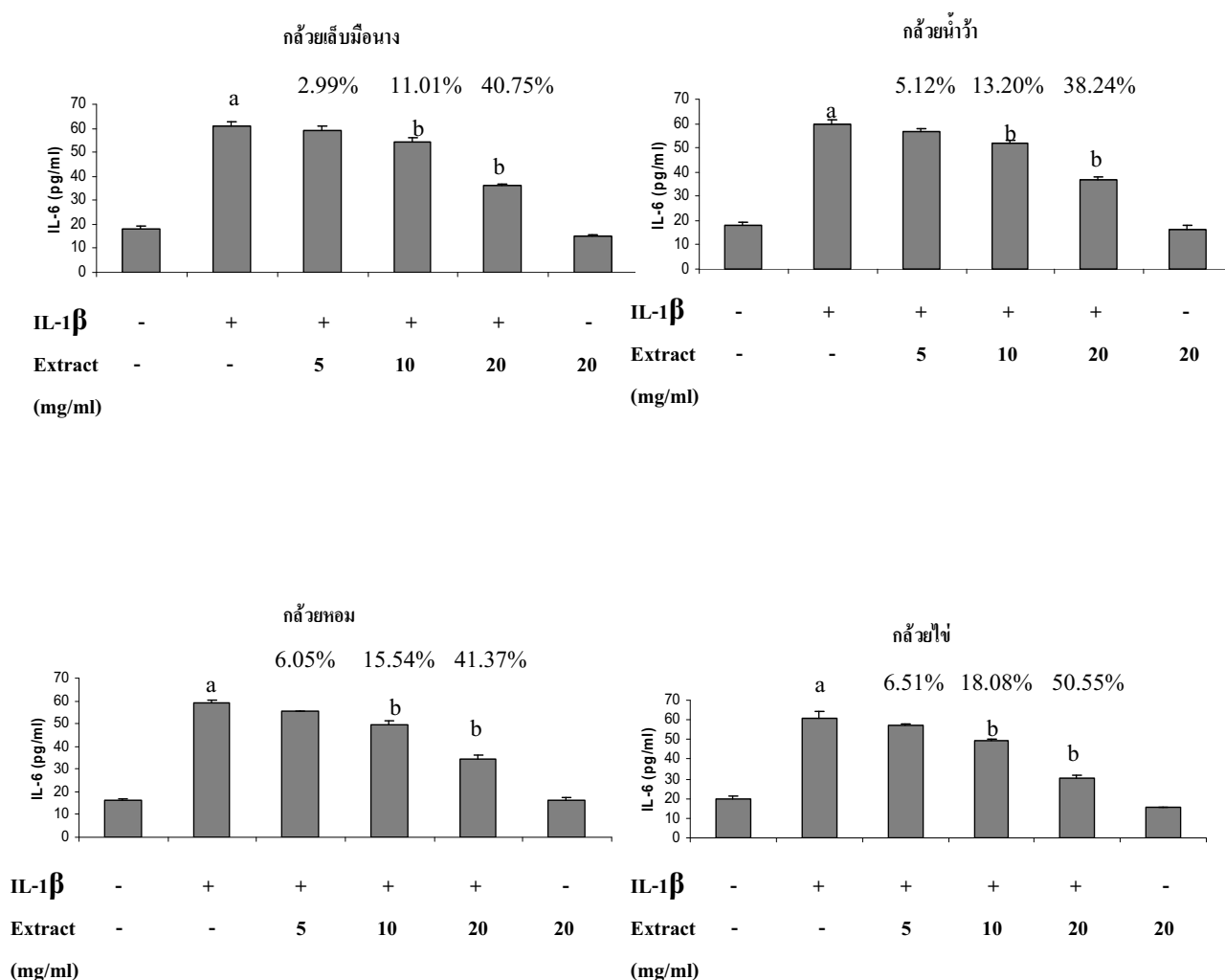
4.1.2.1 ผลของสารสกัดจากผลไม้ต่อการลดการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β

การทดสอบปริมาณของการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบพบว่า เซลล์ลำไส้ในกลุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุม มีการหลั่ง IL-6 ในปริมาณน้อย ในขณะที่เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถสร้าง IL-6 เพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 2-3 เท่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 3-5

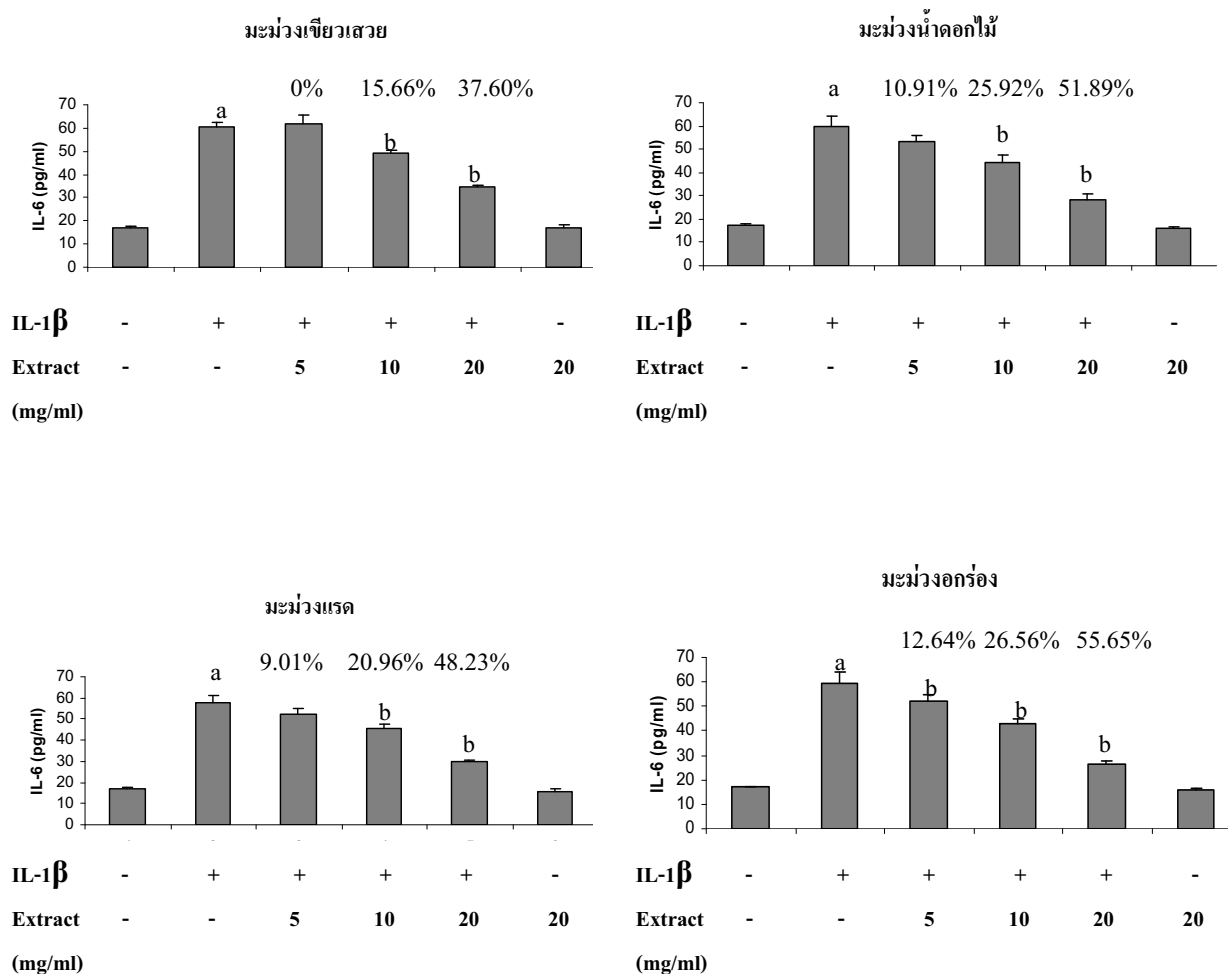
ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดในการต้านการอักเสบโดยการลดการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบนั้น จะทำการทดสอบโดยใช้สารสกัดจากผลไม้ที่มีความเข้มข้น 5-20 mg/ml และทำการรายงานผลการลดการหลั่ง IL-6 เป็น % IL-6 inhibition โดยนำปริมาณการหลั่งของ IL-6 ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากผลไม้แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบเทียบกับ ปริมาณการหลั่งของ IL-6 จากกลุ่มที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) จากผลการทดสอบนี้ พบว่า มะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี กัลยไช้ มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงอกร่อง และมะม่วงแรดที่มีความเข้มข้นสูงสุด (20 mg/ml) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบได้ประมาณ 50-60% ส่วนกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และมะม่วงเขียวเสวย ที่ความเข้มข้นสูงสุด (20 mg/ml) นั้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง IL-6 ได้ประมาณ 30-40% และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างผลไม้แต่ละชนิด พบว่า ส้มโอทองดี สามารถยับยั้งได้การหลั่งของ IL-6 ได้มากที่สุด คือประมาณ 60 % รองลงมา คือ มะละกอแขกดำ มะม่วงอกร่อง มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง มะม่วงน้ำดอกไม้ กัลยไช้ มะม่วงแรด กล้วยหอม กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า และมะม่วงเขียวเสวย ตามลำดับ และนอกจากนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นเป็นแบบ dose dependent ด้วย ดังในรูปที่ 3-5 และทำการแสดงค่า IC₅₀ (mg/ml) ซึ่งบอกถึงปริมาณของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิด ที่สามารถลดการหลั่งของ IL-6 ได้ 30% ดังในตารางที่ 2



รูปที่ 3 ผลของสารสกัดจากมะละกอแขกดำ ฮอลแลนด์ และส้มโขวาน้ำผึ้ง ทองดี ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ IL-6 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 4 ผลของสารสกัดจากกล้วยทั้งสี่ชนิดคือ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอมและกล้วยไข่ ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ IL-6 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

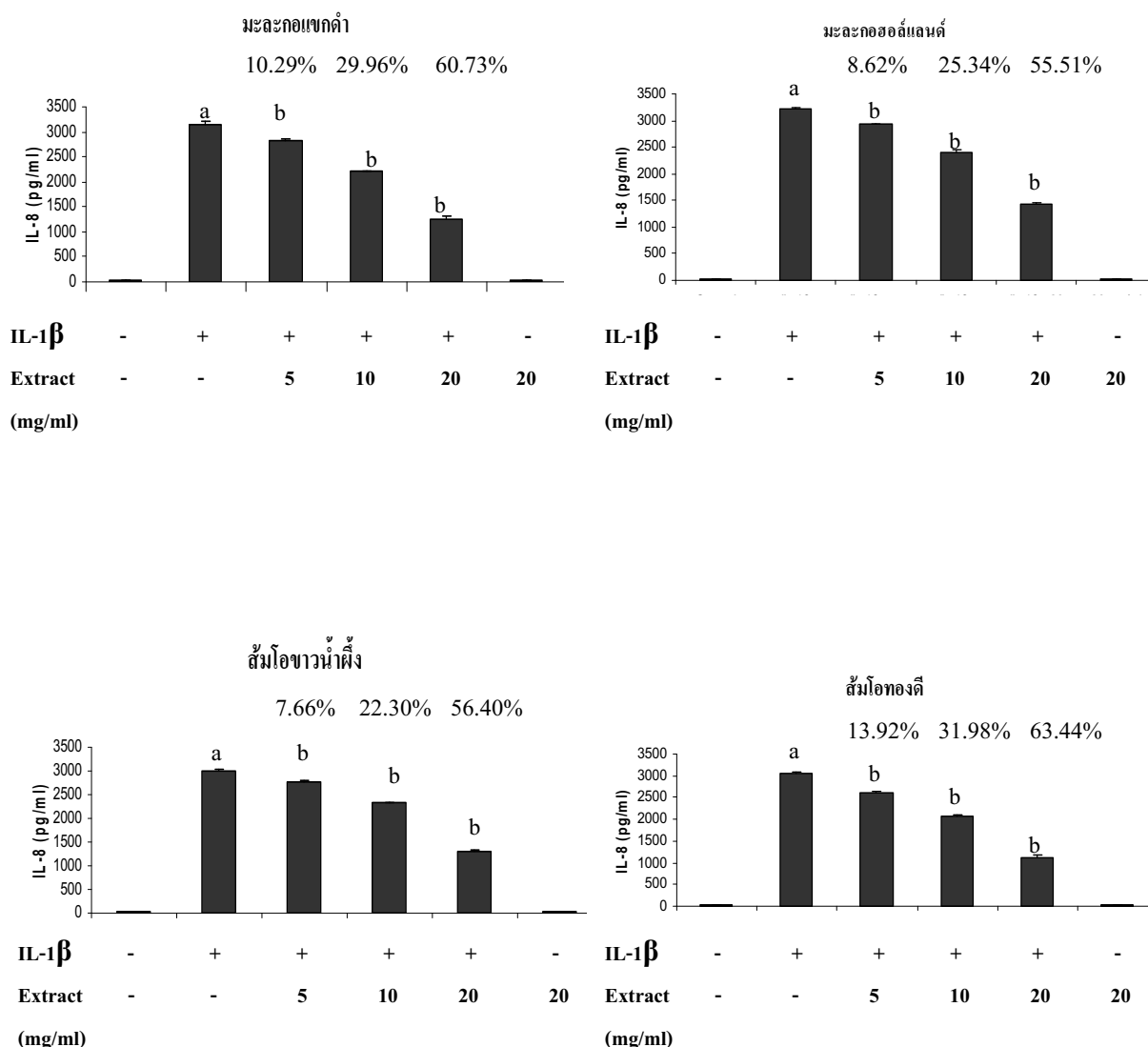


รูปที่ 5 ผลของสารสกัดจากมะม่วงสี่ชนิดคือ มะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรดและมะม่วงอกร่อง ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ IL-6 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

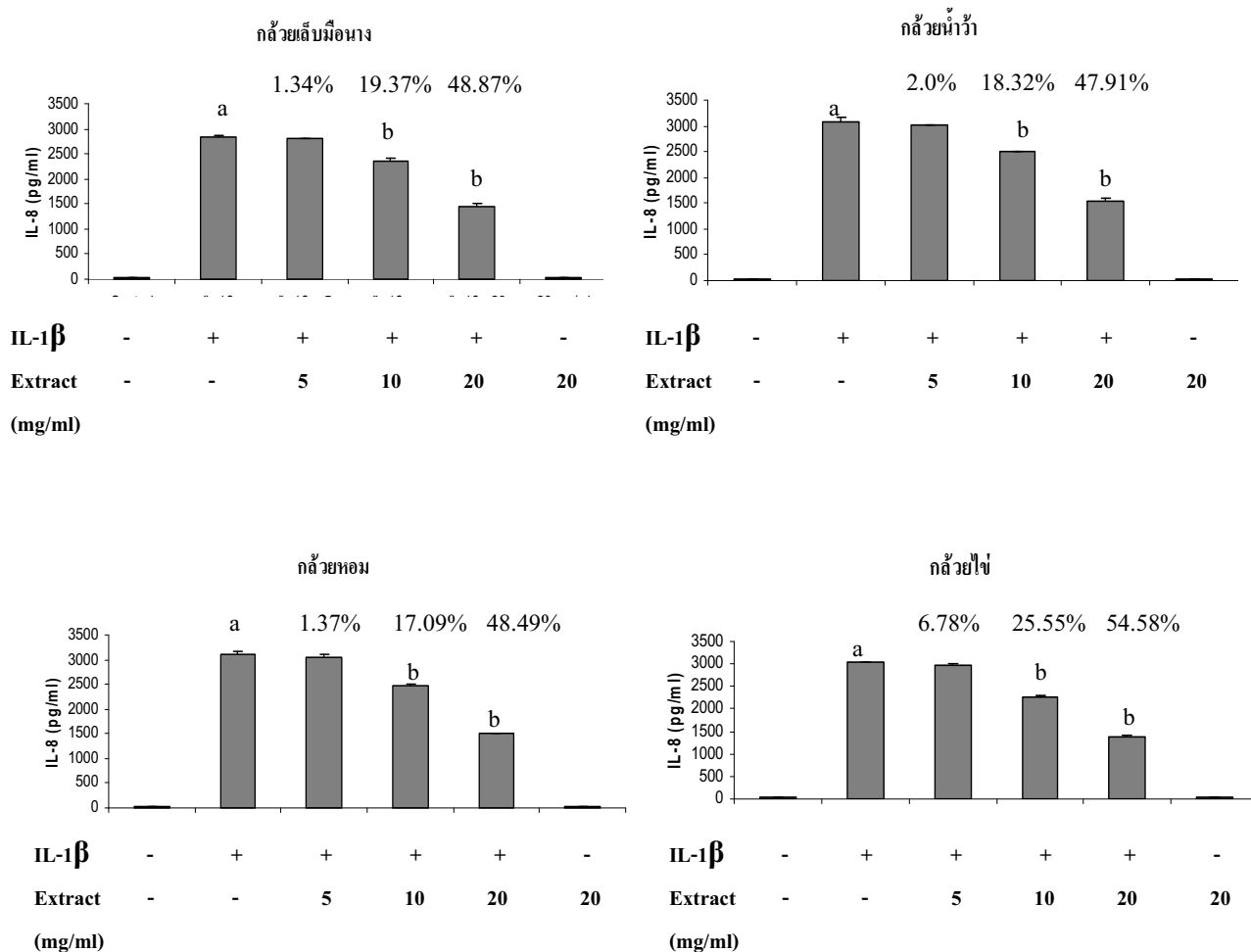
4.1.2.2 ผลของสารสกัดจากผลไม้ต่อการลดการหลั่ง IL-8 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β

IL-8 เป็น chemokines หลัก ๆ ที่เซลล์ลำไส้จะทำการหลั่งออกมาเมื่อถูกกระตุ้นให้เกิดภาวะการอักเสบหรือภาวะ oxidative stress (Katayama and Mine, 2007) และการทดสอบปริมาณของการหลั่ง IL-8 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบพบว่า เซลล์ลำไส้ในกลุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุม มีการหลั่ง IL-8 ในปริมาณน้อย ในขณะที่เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถสร้าง IL-8 เพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมากและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 6-8

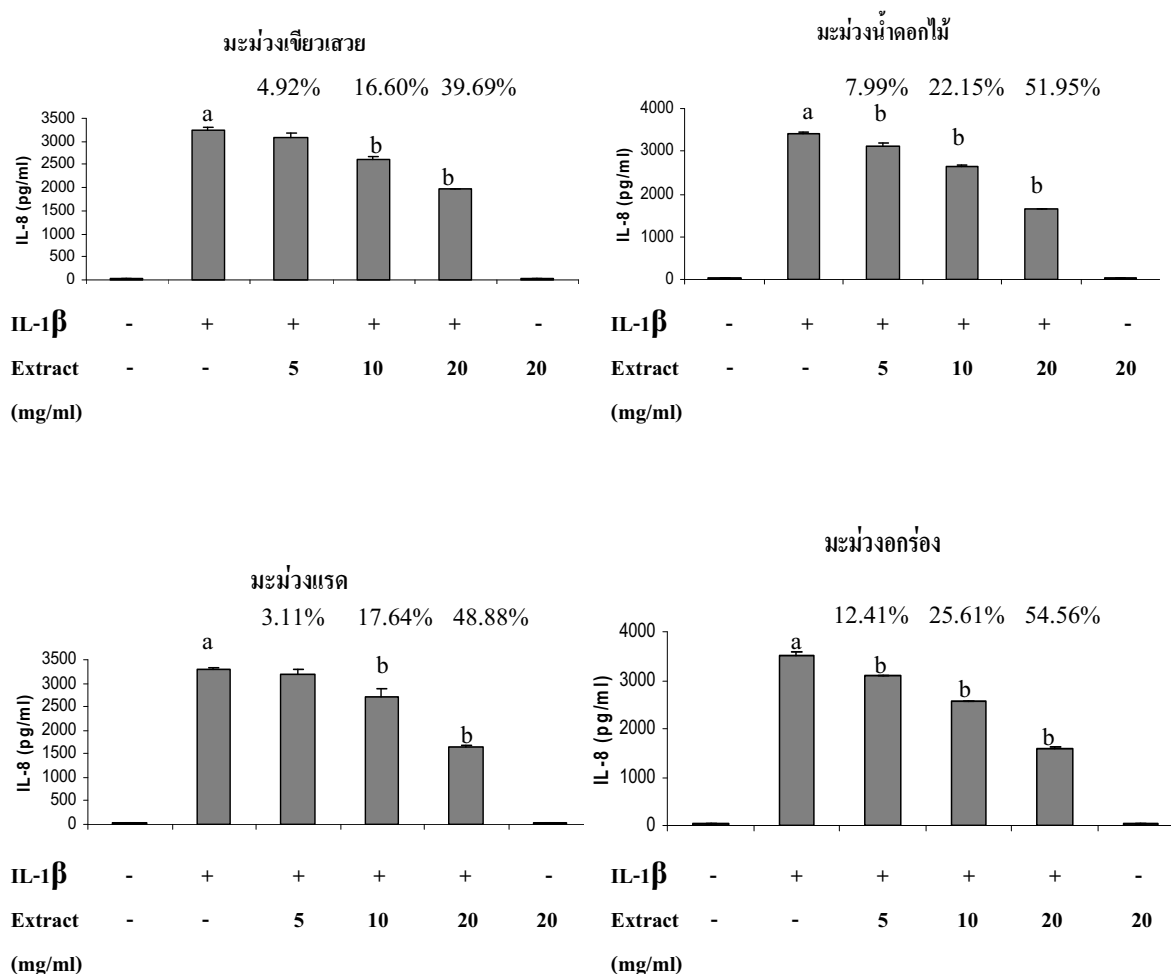
ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดในการต้านการอักเสบโดยการลดการหลั่ง IL-8 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบนั้น จะทำการทดสอบโดยใช้สารสกัดจากผลไม้ที่มีความเข้มข้น 5-20 mg/ml และทำการรายงานผลการลดการหลั่ง IL-8 เป็น % IL-8 inhibition โดยนำปริมาณการหลั่งของ IL-8 ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากผลไม้แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบเทียบกับ ปริมาณการหลั่งของ IL-8 จากกลุ่มที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) จากผลการทดสอบนี้ พบว่า มะละกอ แห้วดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโทองดี กล้วยไข่ มะม่วงน้ำดอกไม้ และมะม่วงอกร่อง ที่ความเข้มข้นสูงสุด (20 mg/ml) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง IL-8 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบได้ประมาณ 50-60% ส่วนกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม มะม่วงแรด และมะม่วงเขียวเสวยที่ความเข้มข้นสูงสุด (20 mg/ml) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่งของ IL-8 จากเซลล์ลำไส้ได้ประมาณ 40-50% และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างผลไม้แต่ละชนิด พบว่า ส้มโทองดี สามารถยับยั้งได้การหลั่งของ IL-8 ได้มากที่สุด คือประมาณ 63 % รองลงมา คือ มะละกอแห้วดำ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง มะละกอฮอลแลนด์ มะม่วงอกร่อง มะม่วงน้ำดอกไม้ กล้วยไข่ มะม่วงแรด กล้วยหอม กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า และมะม่วงเขียวเสวย ตามลำดับ และนอกจากนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง IL-8 จากเซลล์ลำไส้ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นเป็นแบบ dose dependent ด้วย ดังในรูปที่ 6-8 และทำการแสดงค่า IC₅₀ (mg/ml) ซึ่งบอกถึงปริมาณของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิด ที่สามารถลดการหลั่งของ IL-8 ได้ 30% ดังในตารางที่ 2



รูปที่ 6 ผลของสารสกัดจากมะละกอแขกดำ ฮอลแลนด์ และส้มโอขาวน้ำผึ้ง ทองดี ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่มีความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ IL-8 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 7 ผลของสารสกัดจากกล้วยทั้งสี่ชนิดคือ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอมและกล้วยไข่ ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ IL-8 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

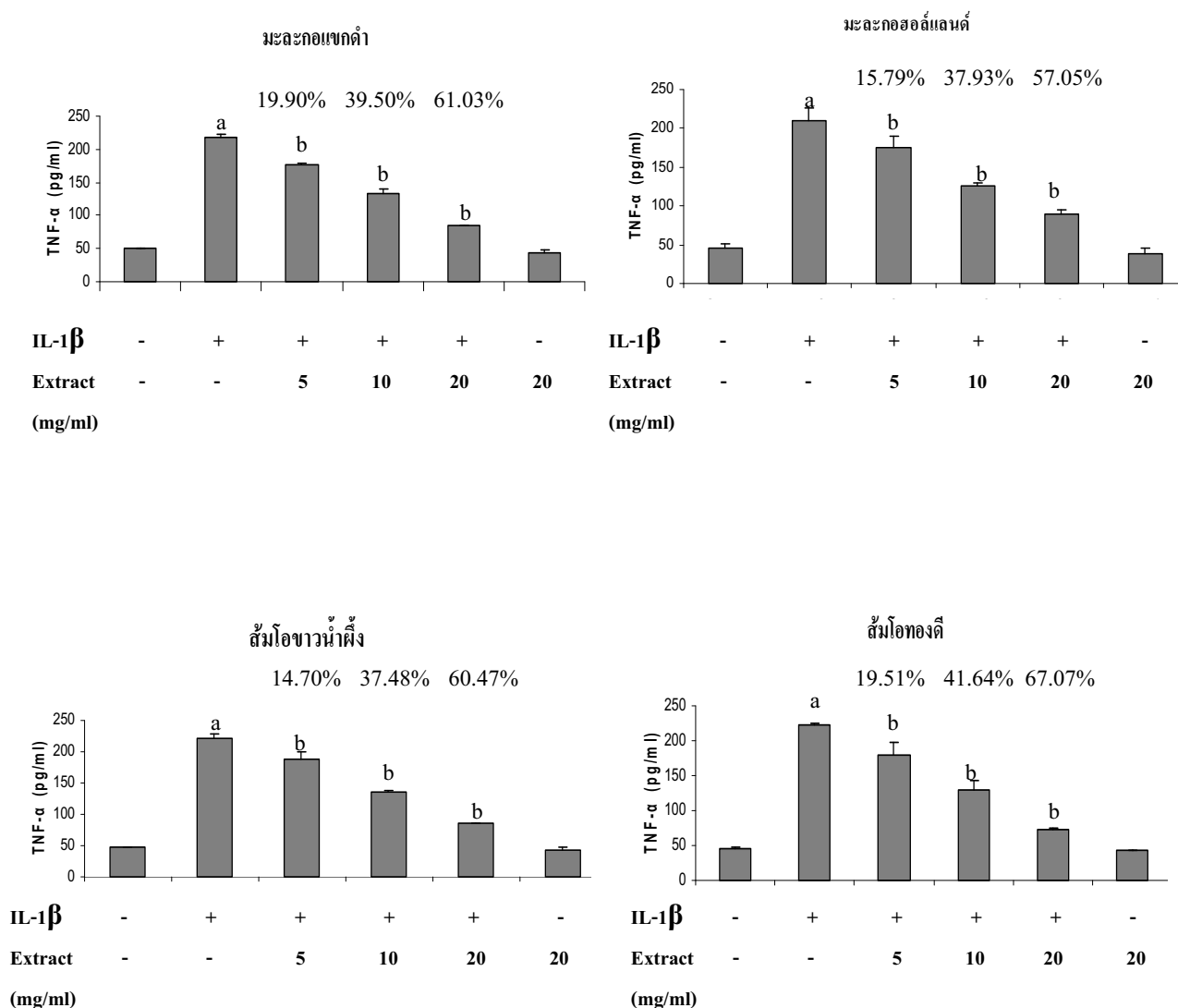


รูปที่ 8 ผลของสารสกัดจากมะม่วงสี่ชนิดคือ มะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรดและมะม่วงอกร่อง ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ IL-8 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

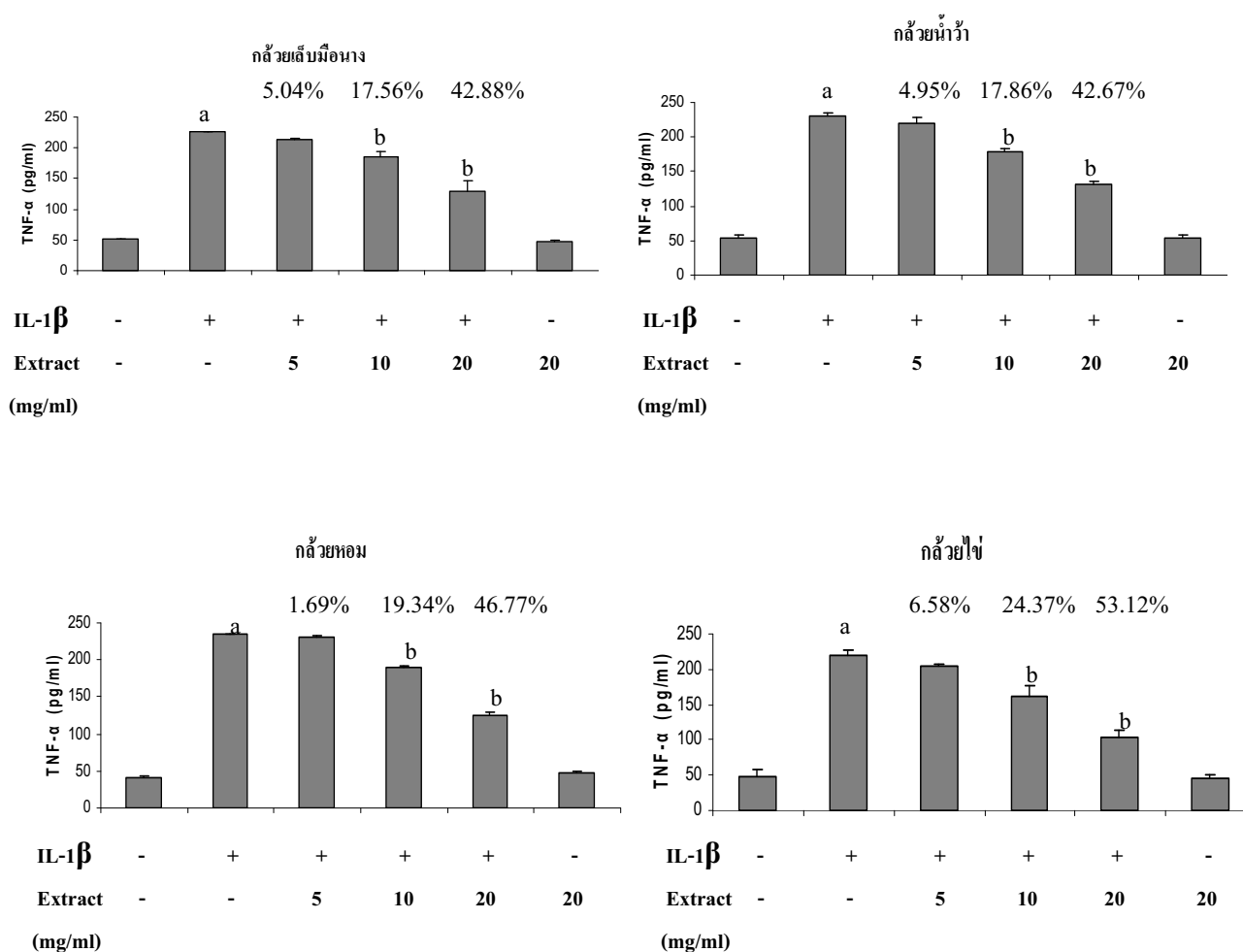
4.1.2.3 ผลของสารสกัดจากผลไม้ต่อการลดการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β

การทดสอบปริมาณของการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบพบว่า เซลล์ลำไส้ในกลุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุม มีการหลั่ง TNF- α ในปริมาณน้อย ในขณะที่เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถสร้าง TNF- α เพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 4-5 เท่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 9-11

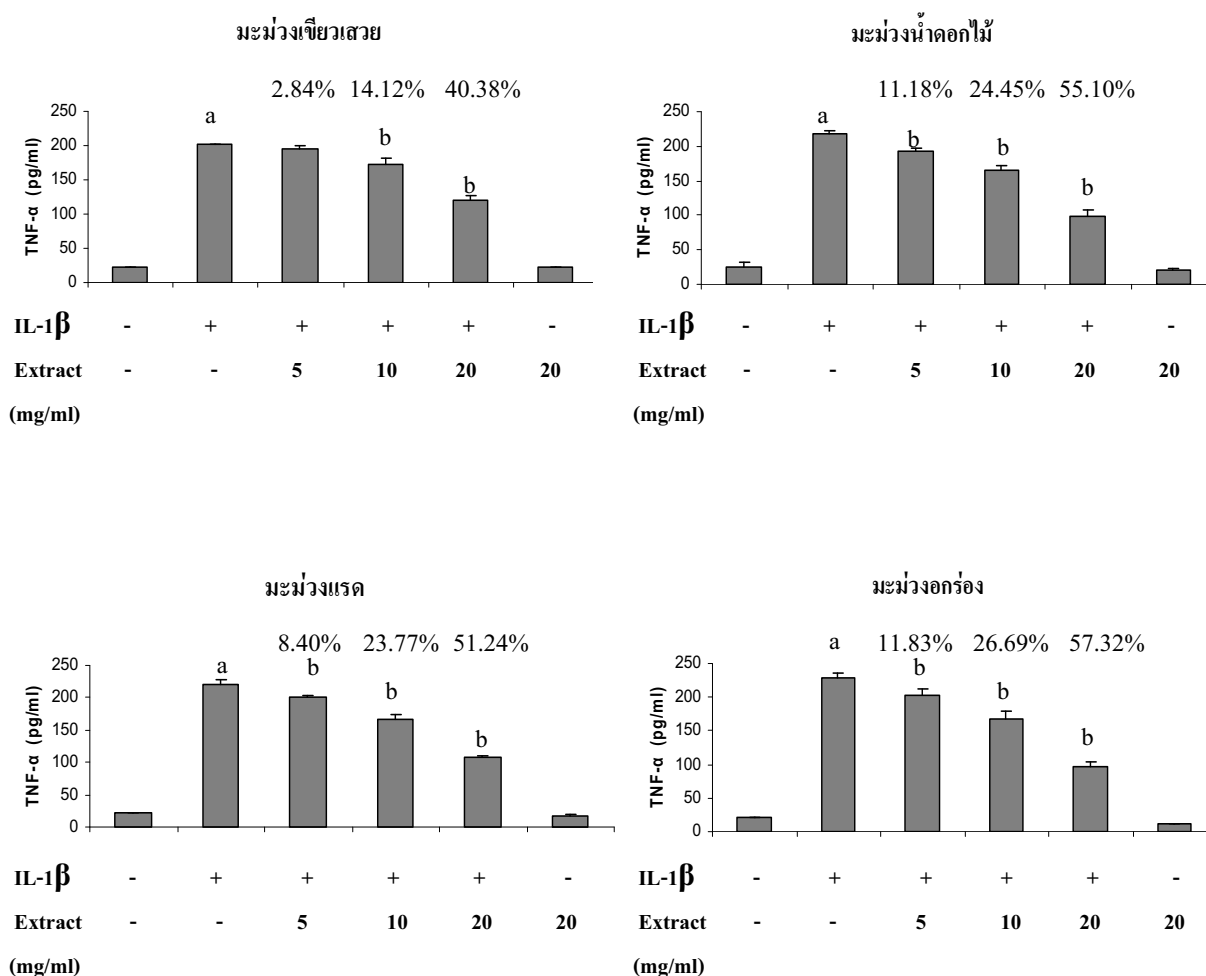
ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดในการต้านการอักเสบโดยการลดการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบนั้น จะทำการทดสอบโดยใช้สารสกัดจากผลไม้ที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml และทำการรายงานผลการลดการหลั่ง TNF- α เป็น % TNF- α inhibition โดยนำปริมาณการหลั่งของ TNF- α ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากผลไม้แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบเทียบกับ ปริมาณการหลั่งของ TNF- α จากกลุ่มที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) จากผลการทดสอบนี้ พบว่า มะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี กล้วยไข่ มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงอกร่อง และมะม่วงแรดที่ความเข้มข้นสูงสุด (20 mg/ml) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบได้ประมาณ 50-70% ส่วนกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และมะม่วงเขียวเสวย ที่ความเข้มข้นสูงสุด (20 mg/ml) นั้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α ได้ประมาณ 40-50% และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างผลไม้แต่ละชนิด พบว่า ส้มโอทองดี สามารถยับยั้งได้การหลั่งของ TNF- α ได้มากที่สุด คือประมาณ 67 % รองลงมา คือ มะละกอแขกดำ มะม่วงอกร่อง มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง มะม่วงน้ำดอกไม้ กล้วยไข่ มะม่วงแรด กล้วยหอม กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า และมะม่วงเขียวเสวย ตามลำดับ และนอกจากนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ลำไส้ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นเป็นแบบ dose dependent ด้วย ดังในรูปที่ 9-11 และทำการแสดงค่า IC₃₀ (mg/ml) ซึ่งบอกถึงปริมาณของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิด ที่สามารถลดการหลั่งของ TNF- α ได้ 30% ดังในตารางที่ 2



รูปที่ 9 ผลของสารสกัดจากมะละกอแขกดำ ฮอลแลนด์ และส้มโขวาน้ำผึ้ง ทองดี ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ TNF- α ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 10 ผลของสารสกัดจากกล้วยทั้งสี่ชนิดคือ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และกล้วยไข่ ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ TNF- α ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD ($n = 3$) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 11 ผลของสารสกัดจากมะม่วงสี่ชนิดคือ มะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรดและมะม่วงอกร่อง ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์เพื่อวัดปริมาณ TNF- α ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

4.1.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้ด้วยวิธีทางเคมี โดยทำการทดสอบ 3 วิธี คือ ORAC DPPH และ Deoxyribose assay

4.1.3.1 Oxygen Radical Antioxidant Capacity (ORAC) assay เป็นวิธีสำหรับทดสอบความสามารถในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิ 37°C ของสาร peroxy radical ซึ่งถูกกระตุ้นโดย สาร 2,2'-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) โดยใช้ fluorescein wavelength ที่ 515 nm excitation ที่ 493 nm และรายงานผลเป็นปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ (μmol of Trolox equivalent per gram dried weight) จากตัวอย่างผลไม้แห้ง โดยเปรียบเทียบกับตัว standard (Trolox) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

ผลการทดสอบ

ตารางที่ 1 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC ของสารสกัดจากผลไม้ชนิดต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 20 mg/ml โดยเทียบกับความเข้มข้นของ Trolox ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3)

ชื่อผลไม้	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	$\mu\text{mole Trolox/g Sample}$
มะละกอแขกดำ	<i>Carica papaya</i> Linn.	Papaya	41.55 $\pm$ 1.82
มะละกอฮอลแลนด์	<i>Carica papaya</i> Linn.	Papaya	37.37 $\pm$ 2.84
ส้มโอขาวน้ำผึ้ง	<i>Citrus maxima</i> Merr.	Pomelo	44.69 $\pm$ 1.14
ส้มโอทองดี	<i>Citrus maxima</i> Merr.	Pomelo	54.81 $\pm$ 1.63
กล้วยเล็บมือนาง	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	1.56 $\pm$ 0.15
กล้วยน้ำว้า	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	1.99 $\pm$ 0.01
กล้วยหอม	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	4.88 $\pm$ 0.36
กล้วยไข่	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	10.47 $\pm$ 0.19
มะม่วงเขียวเสวย	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	14.02 $\pm$ 1.17
มะม่วงแรด	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	30.30 $\pm$ 0.95
มะม่วงน้ำดอกไม้	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	18.55 $\pm$ 0.12
มะม่วงอกร่อง	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	27.68 $\pm$ 0.23

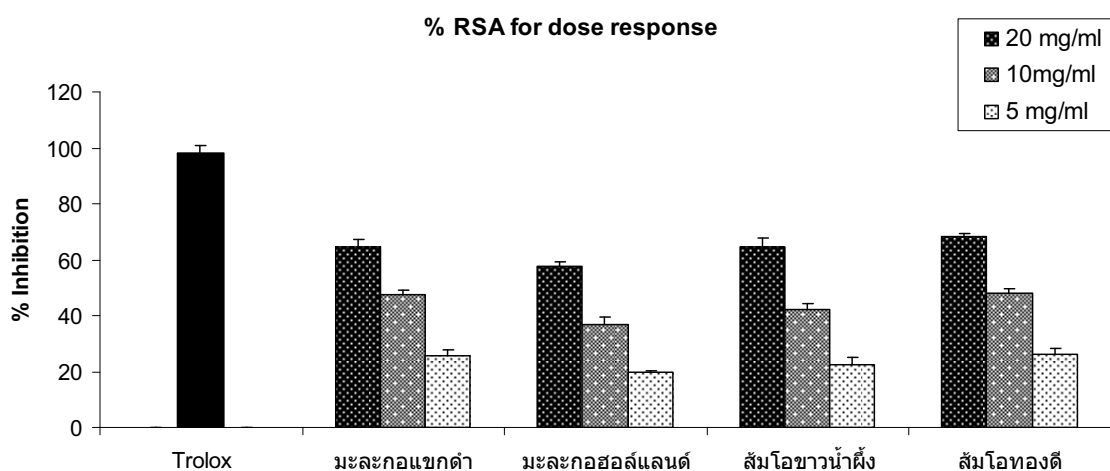
จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของตัวอย่างผลไม้ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ มะละกอ ส้มโอ กล้วย และมะม่วงที่ความเข้มข้น 20 mg/ml ต่อการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ (peroxyl radicals) ด้วยวิธี ORAC assay โดยเทียบกับความเข้มข้นของ Trolox (standard for antioxidant; Vit.E) พบว่า ส้มโอมีปริมาณของ trolox equivalent สูงที่สุด โดยเฉพาะส้มโอสายพันธุ์ทองดี มีค่า trolox equivalent เท่ากับ 54.81 ± 1.63 ซึ่งหมายถึง ส้มโอ (ทองดี) 1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ Trolox ที่มีความเข้มข้น $54.81 \pm 1.63 \mu\text{mole}$ รองลงมา คือ ส้มโอสายพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ผลไม้ในกลุ่มของมะละกอ มะม่วง และกล้วย ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 และเมื่อทำการเปรียบเทียบผลไม้ชนิดเดียวกันแตกต่างกันในส่วนของสายพันธุ์นั้น พบว่า ในกลุ่มของส้มโอ ส้มโอทองดีจะมีประสิทธิภาพดีกว่าส้มโอขาวน้ำผึ้ง ในกลุ่มของมะละกอ พบว่า มะละกอสายพันธุ์แขกดำมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่ามะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ ในกลุ่มของกล้วยนั้น กล้วยไข่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า และกล้วยเล็บมือนาง ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มของมะม่วงนั้น พบว่า มะม่วงแรด มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ มะม่วงอกร่อง มะม่วงน้ำดอกไม้ และมะม่วงเขียวเสวย ตามลำดับ

4.1.3.2 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) assay เป็นวิธีสำหรับทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างโดยนำสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ โดยใช้สารสกัดจากผลไม้ มาทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระที่เสถียร คือ DPPH (ความเข้มข้น 150 μM) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 nm และเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีสารสกัดจากตัวอย่างของผลไม้ โดยมี Trolox เป็นตัว standard ในการเปรียบเทียบ ถ้าหากสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ที่ทดสอบมีฤทธิ์ในการกำจัด DPPH ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะลดลง และการวัดด้วยวิธีนี้จะรายงานผลเป็น % การกำจัดสารอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging Activity; %RSD)

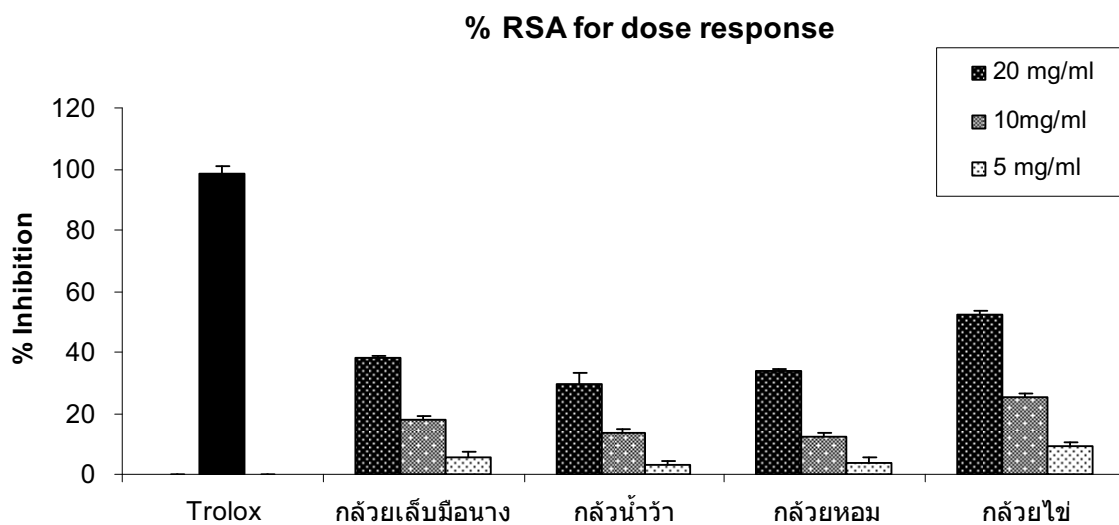
ผลการทดสอบ

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงซึ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ต่าง ๆ ด้วยเครื่อง spectrophotometer และเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีสารสกัดจากตัวอย่างของผลไม้ที่ความเข้มข้น 20 mg/ml โดยมี Trolox เป็น positive control พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของ Trolox และสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิด มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (น้ำกลั่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากตัวอย่างของผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ (non-biological radicals) ที่เกิดขึ้นได้

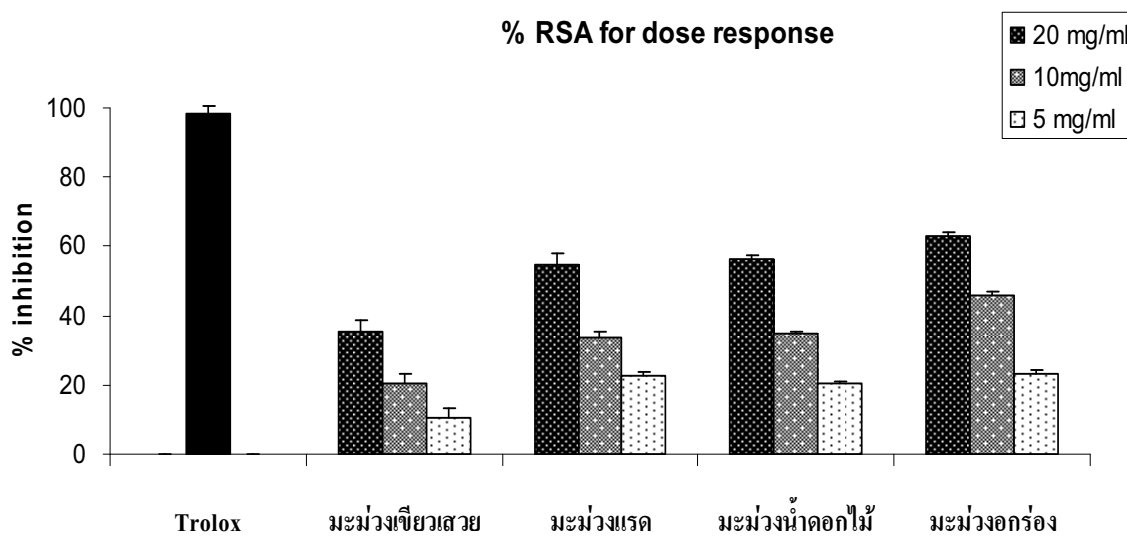
เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของ Trolox และสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิดที่ความเข้มข้น 20 mg/ml ไปคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (%Radical Scavenging Activity) พบว่า Trolox สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 98.31 ± 2.31 % ส่วนตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้มากกว่า 30% และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกันพบว่า ส้มโอทองดี มีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากที่สุด คือ 68.42 ± 1.10 % รองลงมา คือ ส้มโขนาน้ำผึ้ง 64.64 ± 0.88 มะละกอแขกดำ 64.47 ± 2.67 มะม่วงอกร่อง 62.75 ± 1.23 มะละกอฮอลแลนด์ 57.47 ± 1.50 มะม่วงน้ำดอกไม้ 56.60 ± 0.78 มะม่วงแรด 54.54 ± 3.47 กัลยไช 52.12 ± 1.22 มะม่วงเขียวเสวย 35.17 ± 3.36 กัลยเล็บมือนาง 38.01 ± 1.06 กัลยหอม 34.12 ± 0.59 และ กัลยน้ำว่า 17.99 ± 1.19 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดด้วยวิธี DPPH นั้นเป็นแบบ dose dependent ดังแสดงในรูปที่ 12-14 และทำการแสดงค่า IC_{50} (mg/ml) ซึ่งบอกถึงปริมาณของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิด ที่สามารถกำจัดการเกิดของเหล่านอนุมูลอิสระได้ 30% ดังในตารางที่ 2



รูปที่ 12 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (%Radical Scavenging Activity) แบบ dose dependent ของสารสกัดจากมะละกอ และส้มโอย่างละ 2 สายพันธุ์ โดยใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control (n=3)



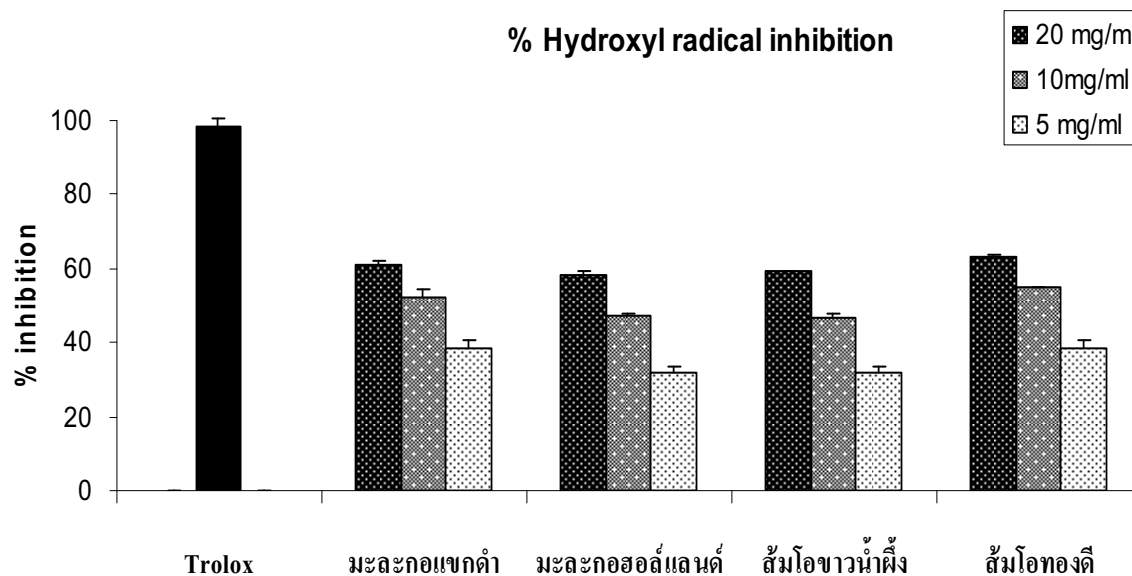
รูปที่ 13 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (%Radical Scavenging Activity) แบบ dose dependent ของสารสกัดจากกล้วย 4 สายพันธุ์ โดยใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control (n=3)



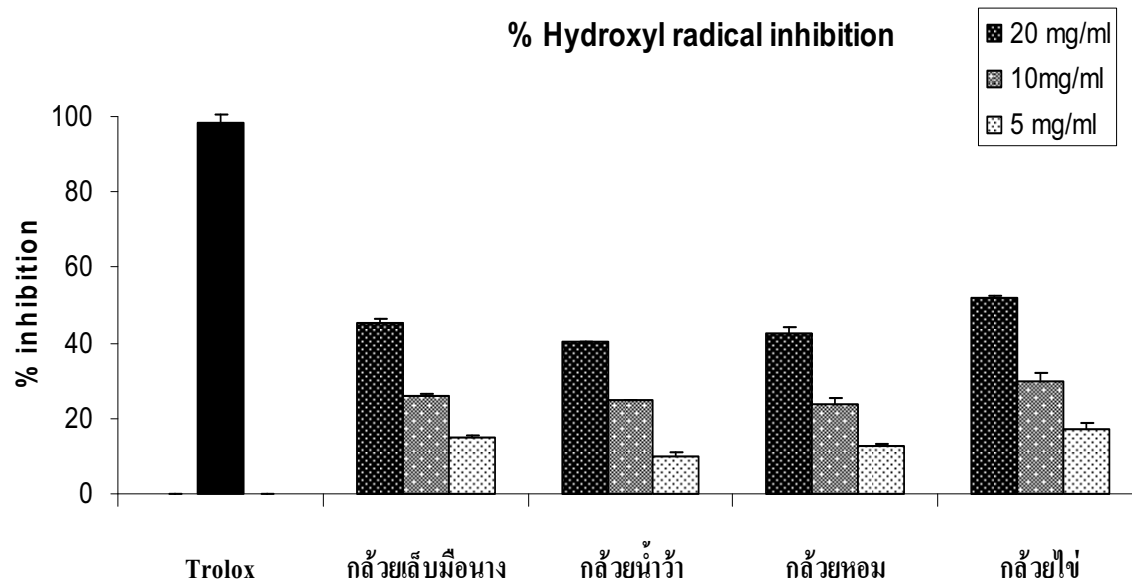
รูปที่ 14 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (%Radical Scavenging Activity) แบบ dose dependent ของสารสกัดจากมะม่วง 4 สายพันธุ์ โดยใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control (n=3)

4.1.3.3. Deoxyribose assay เป็นวิธีทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ จากตัวอย่างผลไม้โดยวัดจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (TBARS) จากปฏิกิริยาระหว่าง deoxyribose กับ อนุมูลอิสระ (hydroxyl radicals) ที่เกิดจาก Fe^{2+} ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 โดยปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาของสารอนุมูลอิสระที่ได้กล่าวข้างต้นนั้นจะวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 532 nm ในการแปลผลถ้าหากสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้มีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ (hydroxyl radicals) จากผลการวัดการดูดกลืนแสงซึ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ชนิดต่าง ๆ พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของ Trolox และสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิดมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (น้ำกลั่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากตัวอย่างของผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals ที่เกิดขึ้นได้

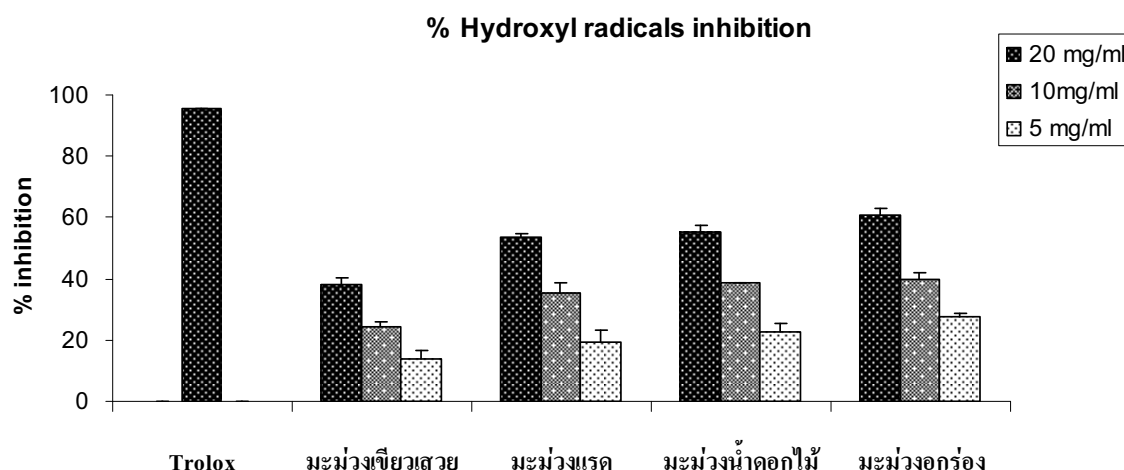
เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของ Trolox และสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิดไปคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals พบว่า Trolox สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 95.34 ± 0.13 % ส่วนตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 อย่างนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ประมาณ 30-60% และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกัน พบว่า ส้มโอทองดี สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals ได้มากที่สุด คือ 62.95 ± 0.96 % รองลงมา คือ มะ ละครแขกดำ 60.96 ± 1.33 มะม่วงอกร่อง 60.73 ± 1.98 ส้มโขว่น้ำผึ้ง 59.39 ± 0.19 มะละกอ ฮอล์แลนด์ 58.41 ± 0.78 มะม่วงน้ำดอกไม้ 55.30 ± 2.32 มะม่วงแรด 53.67 ± 1.13 กล้วยไข่ 52.04 ± 0.64 กล้วยเล็บมือนาง 45.14 ± 1.15 กล้วยหอม 42.39 ± 2.08 กล้วยน้ำว้า 40.38 ± 0.34 และ มะม่วงเขียวเสวย 37.92 ± 2.99 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals ของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้เป็นแบบ dose dependent ด้วย ดังในรูปที่ 15-17 และทำการแสดงค่า IC_{30} (mg/ml) ซึ่งบอกถึงปริมาณของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดที่สามารถกำจัดการเกิดของเหล่าอนุมูลอิสระในกลุ่ม hydroxyl radicals ได้ 30% ดังในตารางที่ 2



รูปที่ 15 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals แบบ dose dependent ของสารสกัดจากมะละกอส้มโอ โดยใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control (n=3)



รูปที่ 16 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals แบบ dose dependent ของสารสกัดจากกล้าย โดยใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control (n=3)

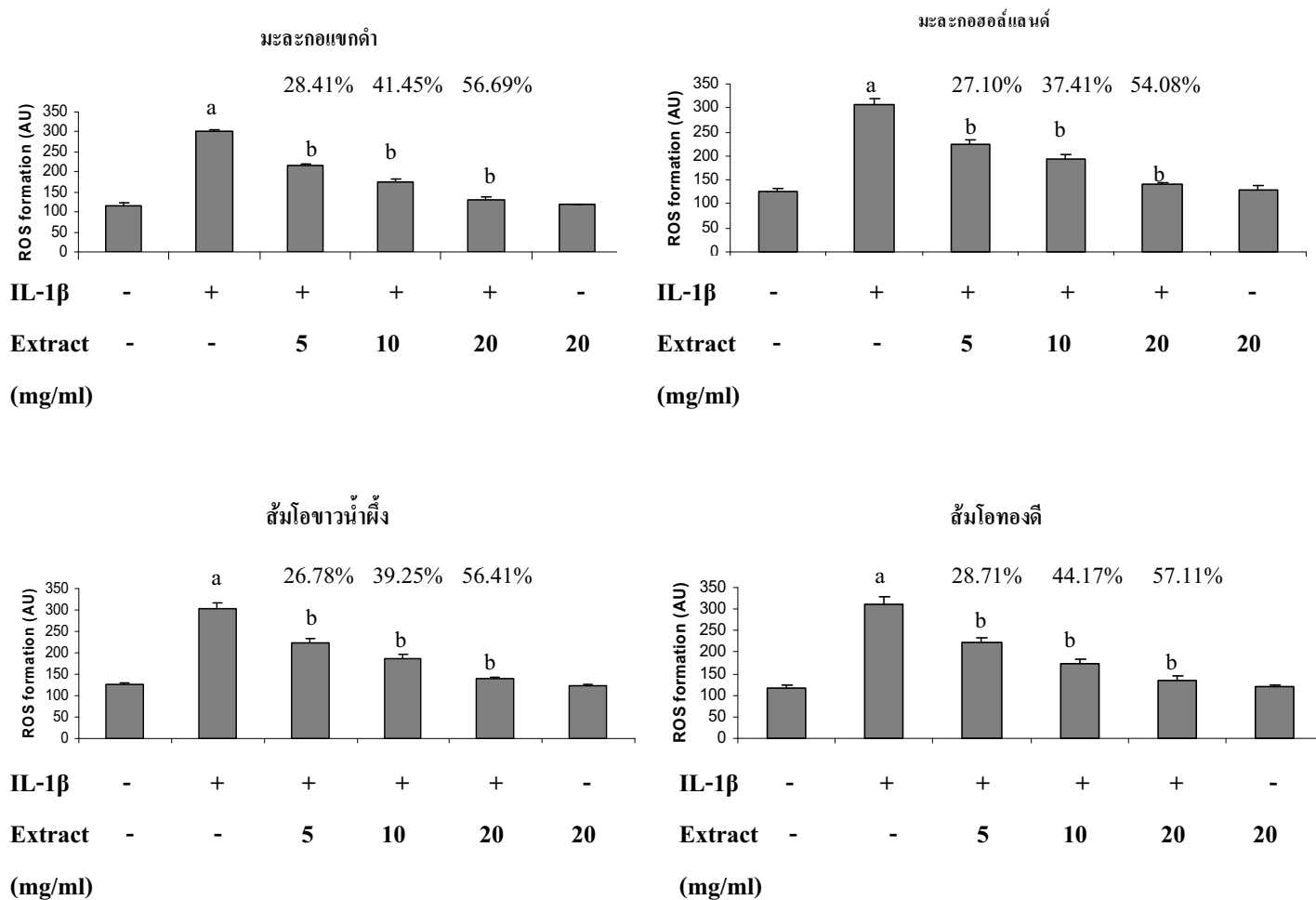


รูปที่ 17 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals แบบ dose dependent ของสารสกัดจากมะม่วงโดยใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control (n=3)

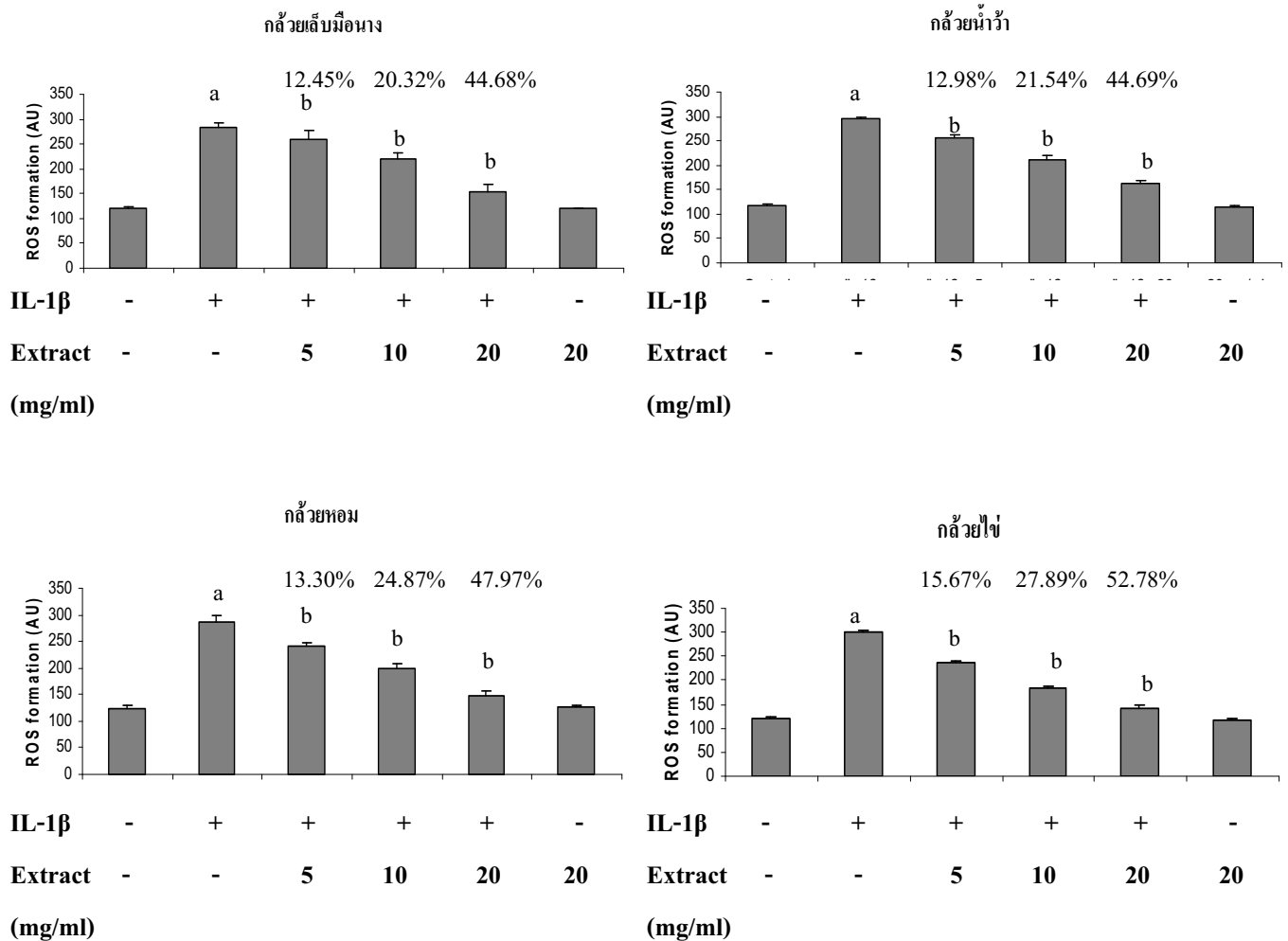
4.1.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ของสารสกัดจากผลไม้

เป็นการทดสอบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ในการลดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress ด้วย IL-1 β การทดสอบนี้จะนำสารสกัดจากผลไม้ที่เตรียมไว้เจือจางด้วย basal media ในอัตราส่วน 1:10 (ความเข้มข้น 20 mg/ml) ซึ่งเป็นปริมาณที่ทดสอบแล้วว่าไม่เป็นพิษกับเซลล์ที่ใช้ในการศึกษานี้ ซึ่งส่วนผสมนี้จะเรียกว่า test medium จากนั้นจึงนำไปทดสอบกับเซลล์ที่ได้ทำการเลี้ยงไว้ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยเซลล์จะถูกเลี้ยงด้วย test medium ที่ 37 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างเซลล์ด้วย basal media แล้วจึงทำการกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β และทำการเลี้ยงต่อ เป็นเวลาอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นล้างเซลล์ด้วย warm basal DMEM 1 ครั้ง ใส่ 2',7'-Dichlorofluoresce Diacetate (DCF-DA) 5 μ M ใน basal medium DMEM 2 ซีซี บ่มใน CO₂ incubator 30 นาที หลังจากนั้นดูดน้ำเลี้ยงเซลล์ทิ้ง ล้างด้วย warm PBS 2 ซีซี 3 ครั้ง ใส่ 1.8 ซีซีของ 0.5% cold TritonX-100 ใน PBS กวาดเซลล์โดยใช้ cell scraper ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 2 ซีซี ปั่นที่ 14,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที เก็บส่วนใสไว้ใน plastic cuvette วัดการดูดกลืนคลื่นแสง fluorescent ด้วยเครื่อง Spectrofluorometer ที่ความยาวคลื่น excitation 485 nm และ emission 530 nm แปลผลโดยเปรียบเทียบค่าการเรืองแสงในหลุมที่เป็น control (เซลล์ที่ได้รับแต่เฉพาะ basal media) และ IL-1 β (เซลล์ที่ได้รับ basal media + IL-1 β) คิดเป็น 100% ถ้าตัวอย่างมีฤทธิ์ลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์หรือมีฤทธิ์ลดการสะสมของอนุมูลอิสระ ค่าการเรืองแสงที่วัดได้จะน้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่มีแต่ IL-1 β

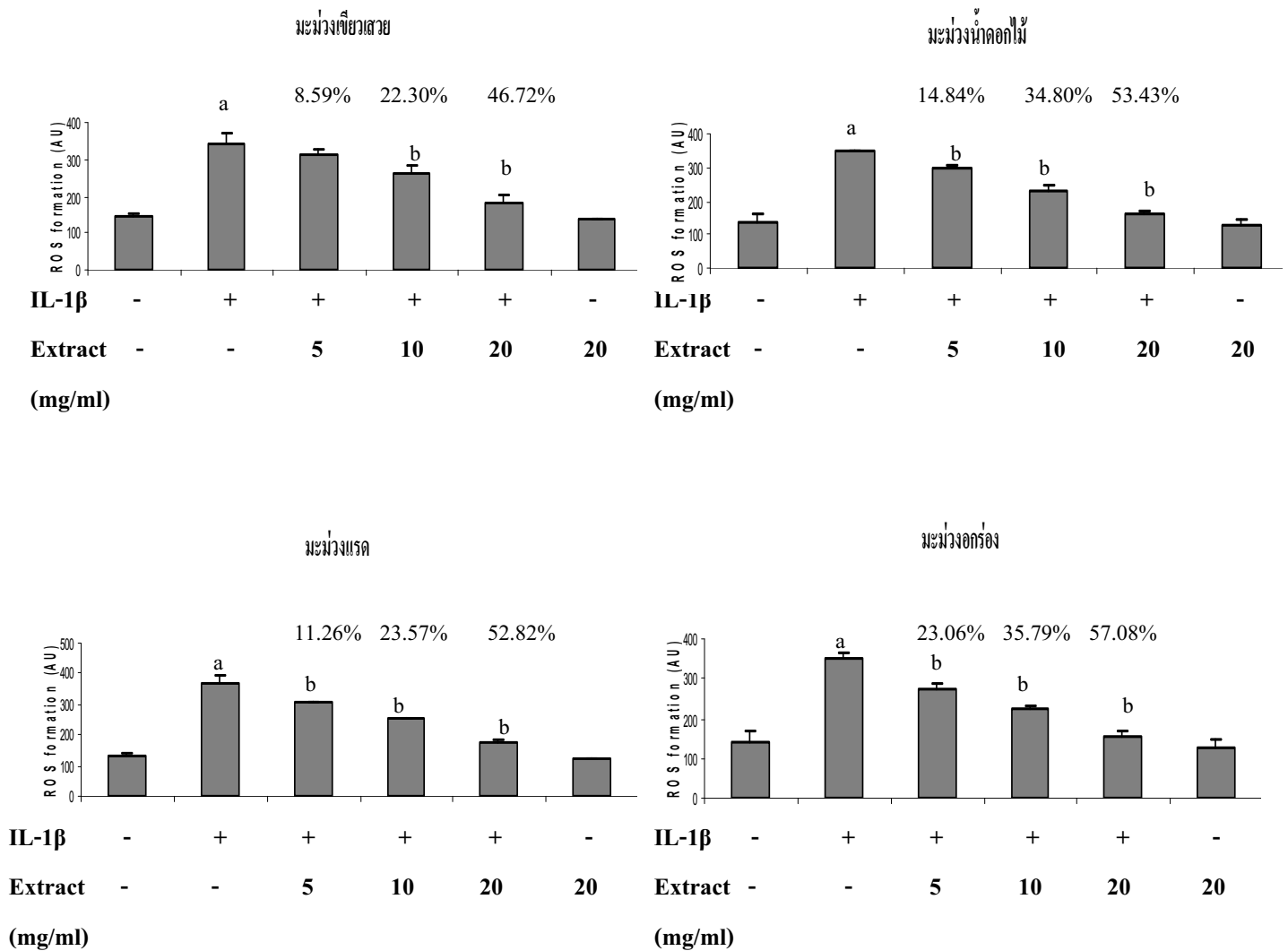
ผลการทดสอบ



รูปที่ 18 ผลของสารสกัดจากมะละกอแขกดำ ฮอล์แลนด์ และส้มโอขาวน้ำผึ้ง ทองดี ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บเซลล์เพื่อวัดปริมาณ ROS ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 19 ผลของสารสกัดจากกล้วยทั้งสี่ชนิดคือ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และกล้วยไข่ ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บเซลล์เพื่อวัดปริมาณ ROS ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 20 ผลของสารสกัดจากกล้วยทั้งสี่ชนิดคือ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และกล้วยไข่ ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บเซลล์เพื่อวัดปริมาณ ROS ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้น จะแสดงถึง % inhibition ของสารสกัดโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

จากผลการทดสอบฤทธิ์ในการลดอนุมูลอิสระของเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress โดยใช้ IL- β เป็นตัวเหนี่ยวนำนั้น พบว่า IL- β สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ลำไส้หลั่งพลาสมาอนุมูลอิสระออกมาได้โดยจะเห็นได้จากรูปที่ 18-20 ซึ่งค่า OD ที่วัดได้จากกลุ่มเซลล์ที่ได้รับ IL- β มีค่าสูงกว่ากลุ่ม control ($p < 0.05$ เมื่อเทียบกับ control)

ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดในการลดอนุมูลอิสระจากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress นั้น จะทำการทดสอบโดยใช้สารสกัดจากผลไม้ที่ความเข้มข้น 5-20 mg/ml และทำการรายงานผลการลดการเกิดภาวะ oxidative stress เป็น % ROS inhibition โดยนำปริมาณการหลั่งของ ROS ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากผลไม้แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress เทียบกับ ปริมาณการหลั่งของ ROS จากกลุ่มที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) จากผลการทดสอบนี้พบว่า มะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี กัลยไชย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรดและมะม่วงอกร่อง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ได้ประมาณ 50-60% ส่วนกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และมะม่วงเขียวเสวยนั้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ได้ประมาณ 40-50% และเมื่อเปรียบเทียบกัน พบว่า ส้มโอทองดีและมะม่วงอกร่อง สามารถยับยั้งได้มากที่สุด คือประมาณ 58 % รองลงมา คือ มะละกอแขกดำ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง มะละกอฮอลแลนด์ มะม่วงน้ำดอกไม้ และมะม่วงแรด ตามลำดับ และนอกจากนี้ประสิทธิภาพในการลดอนุมูลอิสระนั้นเป็นแบบ dose dependent ด้วย ดังในรูปที่ 18-20 และทำการแสดงค่า IC₃₀ (mg/ml) ซึ่งบอกถึงปริมาณของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิด ที่สามารถลดการเกิดของเหล่านอนุมูลอิสระ (ROS) ได้ 30% ดังในตารางที่ 2

4.1.5 การศึกษาความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของสารสกัดผลไม้และ cytokines (IL-1 β) ที่ใช้สำหรับเหนี่ยวนำ หลังจากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์

การทดสอบนี้เป็นการยืนยันผลในข้อ 4.1.2 และ 4.1.4 ว่าการที่ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ซึ่งเป็นตัวชี้วัดลดลงนั้นไม่ได้เกิดจากความเป็นพิษของสารสกัดจากตัวอย่าง หรือ cytokine ที่ใช้สำหรับเหนี่ยวนำ (IL-1 β) โดยการทดสอบนี้จะทำการเลี้ยงเซลล์เหมือนกับข้อ 3.5 หลังจากเลี้ยงเซลล์ด้วย test medium (สารสกัดจากตัวอย่างที่ความเข้มข้น 20 mg/ml) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และกระตุ้น ด้วย IL-1 β 10 ng/ml และทำการเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วก็จะนำไปทำการล้าง fixed และย้อมสีเซลล์เหมือนกับข้อ 4.1.1 การคำนวณปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (viability) ใช้ค่า absorbance จากผลลัพธ์ของความเข้มของสีที่ 500 nm หักออกจากความเข้มของสีที่ 690 nm โดยการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากผลไม้ นั้นแปลผลโดยคิดว่าจำนวนเซลล์ในกลุ่มควบคุม (เซลล์ที่ไม่ได้รับสารใดเลย) เป็น 100 %เปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ที่เลี้ยงด้วย IL-1 β หรือ IL-1 β + test medium (สารสกัดเจือจางด้วย basal media ความเข้มข้น 20 mg/ml) ถ้ากลุ่มที่ได้รับสารใดที่ทำให้เซลล์ตายมากกว่า 10% (อัตราการรอดน้อยกว่า 90%) ถือว่าสารกลุ่มนั้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งบอกได้ว่าการที่พวก IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ลดลงนั้นเกิดจากการที่เซลล์ตายไม่ได้เกิดจากประสิทธิภาพของตัวอย่าง

ผลการทดสอบ (แสดงในภาคผนวก ง.)

จากผลการศึกษาพบว่า % อัตราการรอด (% Cell viability) ของทุกกลุ่มนั้นมีมากกว่า 90% ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ทั้งตัวที่ใช้ในการเหนี่ยวนำ (IL-1 β) และตัวอย่างของสารสกัดจากผลไม้ นั้น ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งผลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า การลดลงของตัวชี้วัด คือ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS เป็นผลมาจากสารสกัดจากผลไม้โดยตรงมิได้เป็นผลมาจากปริมาณเซลล์ที่น้อยลง

ตารางที่ 2 ค่า IC₃₀ ของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดในการลดการเกิดอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ

ชื่อผลไม้	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	Anti-inflammatory activities (IC ₃₀ mg/ml)			Antioxidant activities (IC ₃₀ mg/ml)		
			% IL-6 inhibition	% IL-8 inhibition	% TNF- α inhibition	% RSA	% Hydroxyl radical inhibition	% ROS inhibition
มะละกอแขกดำ	<i>Carica papaya</i> Linn.	Papaya	9.05 $\pm$ 0.26	11.06 $\pm$ 0.45	8.02 $\pm$ 0.33	5.18 $\pm$ 0.13	4.20 $\pm$ 0.18	5.06 $\pm$ 0.12
มะละกอสอัสแลนด์	<i>Carica papaya</i> Linn.	Papaya	10.53 $\pm$ 0.44	11.73 $\pm$ 0.51	8.77 $\pm$ 0.35	8.53 $\pm$ 0.22	5.94 $\pm$ 0.15	5.29 $\pm$ 0.16
ส้มโอบาน้ำผึ้ง	<i>Citrus maxima</i> Merr.	Pomelo	10.66 $\pm$ 0.27	10.80 $\pm$ 0.43	8.93 $\pm$ 0.39	6.90 $\pm$ 0.17	5.86 $\pm$ 0.21	4.54 $\pm$ 0.24
ส้มโอบองดี	<i>Citrus maxima</i> Merr.	Pomelo	8.19 $\pm$ 0.22	9.67 $\pm$ 0.31	7.53 $\pm$ 0.27	5.11 $\pm$ 0.12	3.60 $\pm$ 0.14	4.19 $\pm$ 0.16
กล้วยเล็บมือนาง	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	15.67 $\pm$ 0.58	14.52 $\pm$ 0.62	12.87 $\pm$ 0.32	18.37 $\pm$ 0.55	14.49 $\pm$ 0.57	10.79 $\pm$ 0.45
กล้วยน้ำว้า	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	15.89 $\pm$ 0.51	14.56 $\pm$ 0.28	12.92 $\pm$ 0.45	20.04 $\pm$ 0.71	14.31 $\pm$ 0.62	13.11 $\pm$ 0.56
กล้วยหอม	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	15.21 $\pm$ 0.43	14.13 $\pm$ 0.32	13.41 $\pm$ 0.28	18.15 $\pm$ 0.56	13.57 $\pm$ 0.57	10.50 $\pm$ 0.44
กล้วยไข่	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	11.98 $\pm$ 0.37	12.17 $\pm$ 0.41	12.08 $\pm$ 0.35	13.86 $\pm$ 0.39	10.29 $\pm$ 0.23	8.29 $\pm$ 0.31
มะม่วงเขียวเสวย	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	16.11 $\pm$ 0.48	13.22 $\pm$ 0.49	15.99 $\pm$ 0.47	16.54 $\pm$ 0.87	14.63 $\pm$ 0.51	12.63 $\pm$ 0.41
มะม่วงแรด	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	13.16 $\pm$ 0.57	11.24 $\pm$ 0.50	12.44 $\pm$ 0.42	8.38 $\pm$ 0.15	7.44 $\pm$ 0.33	8.75 $\pm$ 0.36
มะม่วงน้ำดอกไม้	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	11.70 $\pm$ 0.49	10.78 $\pm$ 0.45	11.59 $\pm$ 0.44	8.60 $\pm$ 0.12	8.88 $\pm$ 0.34	9.66 $\pm$ 0.34
มะม่วงอกร่อง	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	11.10 $\pm$ 0.51	9.57 $\pm$ 0.22	11.03 $\pm$ 0.39	6.10 $\pm$ 0.23	5.78 $\pm$ 0.21	7.85 $\pm$ 0.27

ตัวเลขที่เป็นตัวหนาจะเป็นชนิดของผลไม้ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในแต่ละอันดับที่ 1 และ 2 ของแต่ละคุณสมบัติในการลดอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ

4.2 ผลของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยต่อการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ

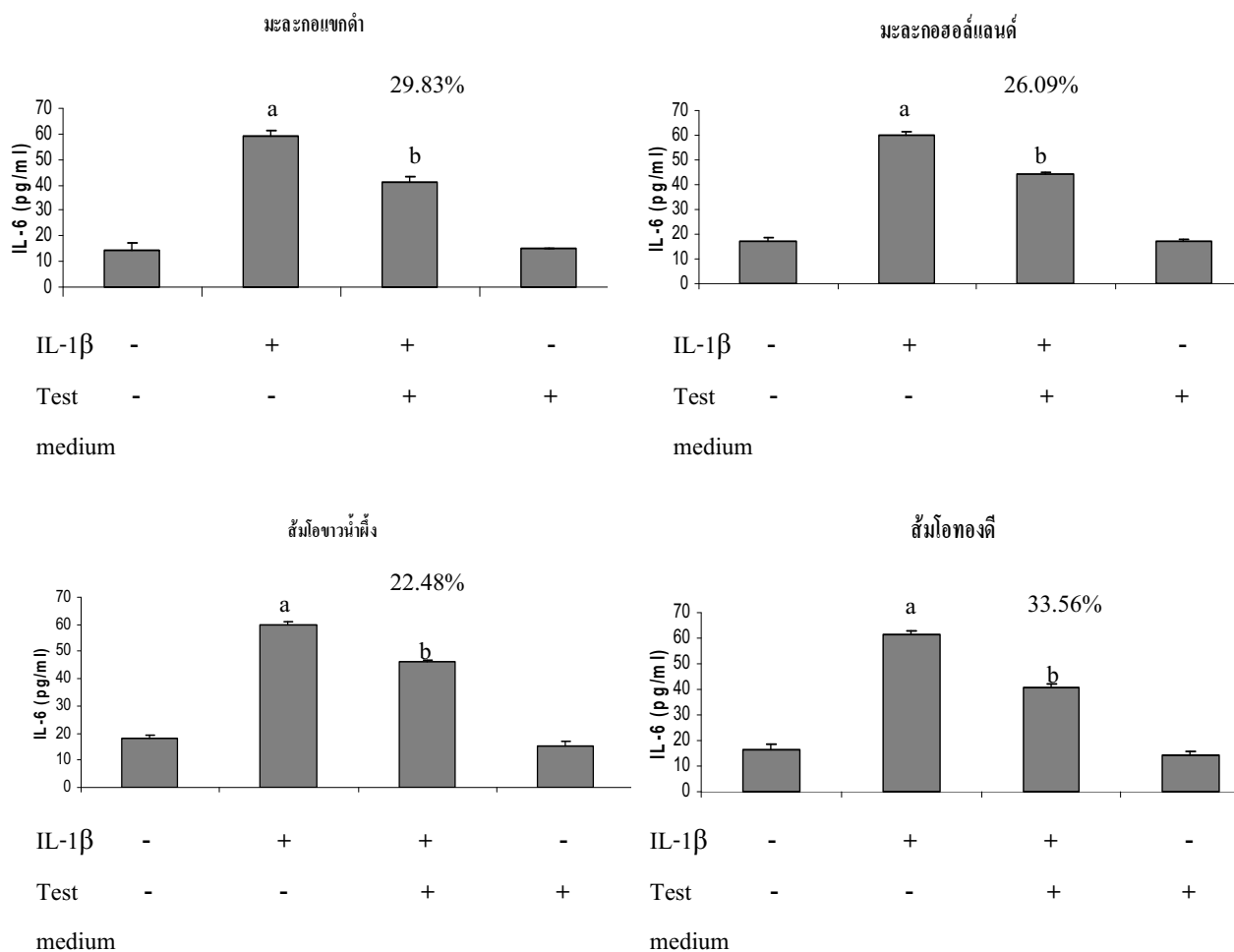
4.2.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบของเซลล์ลำไส้ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย

การทดสอบประสิทธิภาพของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายต่อการต้านการอักเสบของเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β นั้น ทำการวัดจากปริมาณของ chemokines และ cytokines ที่หลั่งออกมาจากเซลล์ลำไส้ที่ได้รับหรือไม่ได้รับของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายและถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ โดย chemokines และ cytokines ที่ทำการวัดจากเซลล์ลำไส้ ได้แก่ IL-6, IL-8 และ TNF- α เช่นเดียวกับที่ทำการศึกษาในสารสกัด

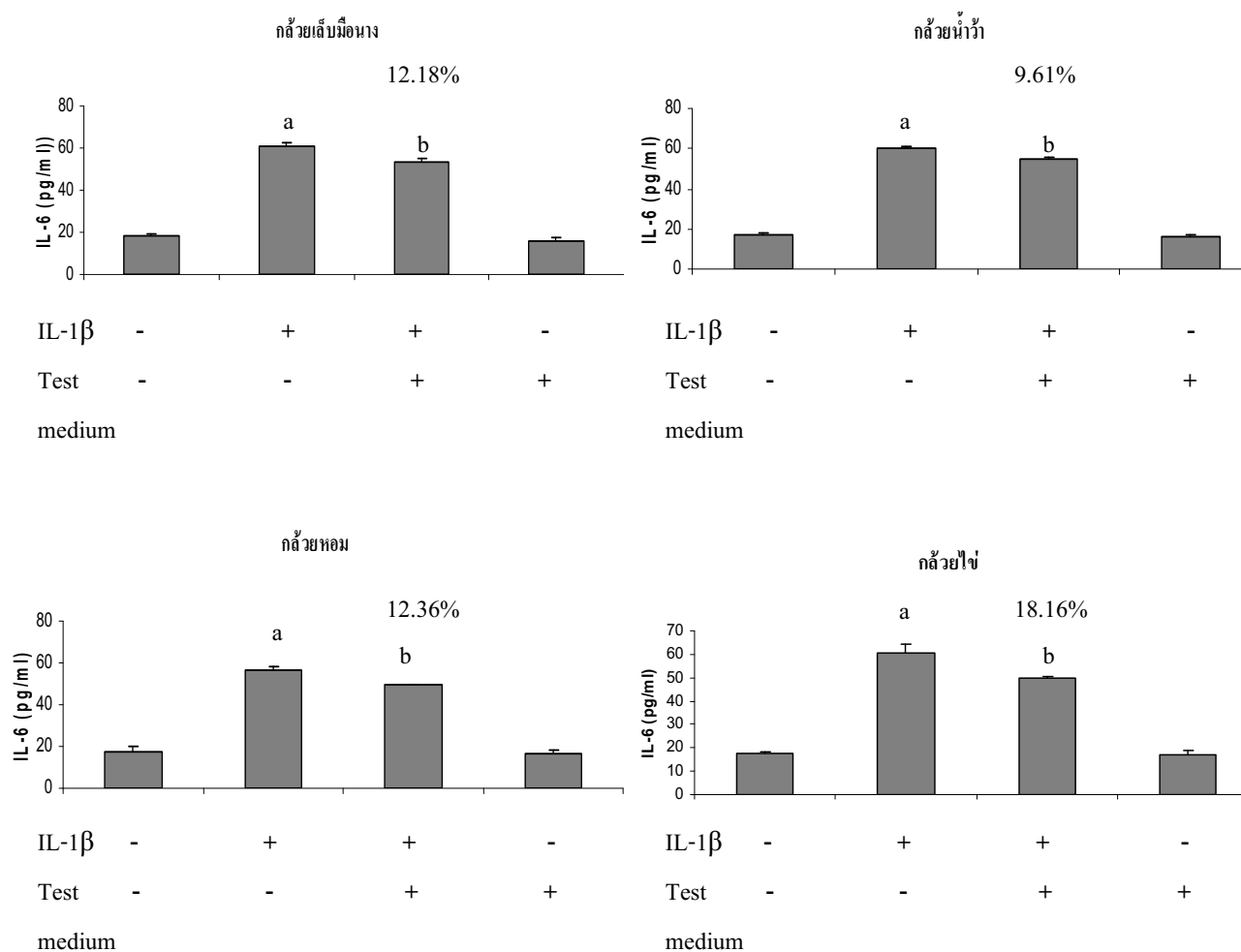
4.2.1.1 ผลของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายต่อการลดการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β

การทดสอบปริมาณของการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบพบว่า เซลล์ลำไส้ในกลุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุม มีการหลั่ง IL-6 ในปริมาณน้อย ในขณะที่เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถสร้าง IL-6 เพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ได้รับส่วนของ aqueous fraction ที่ไม่มีส่วนของตัวอย่าง) ประมาณ 2-3 เท่า และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 21-23

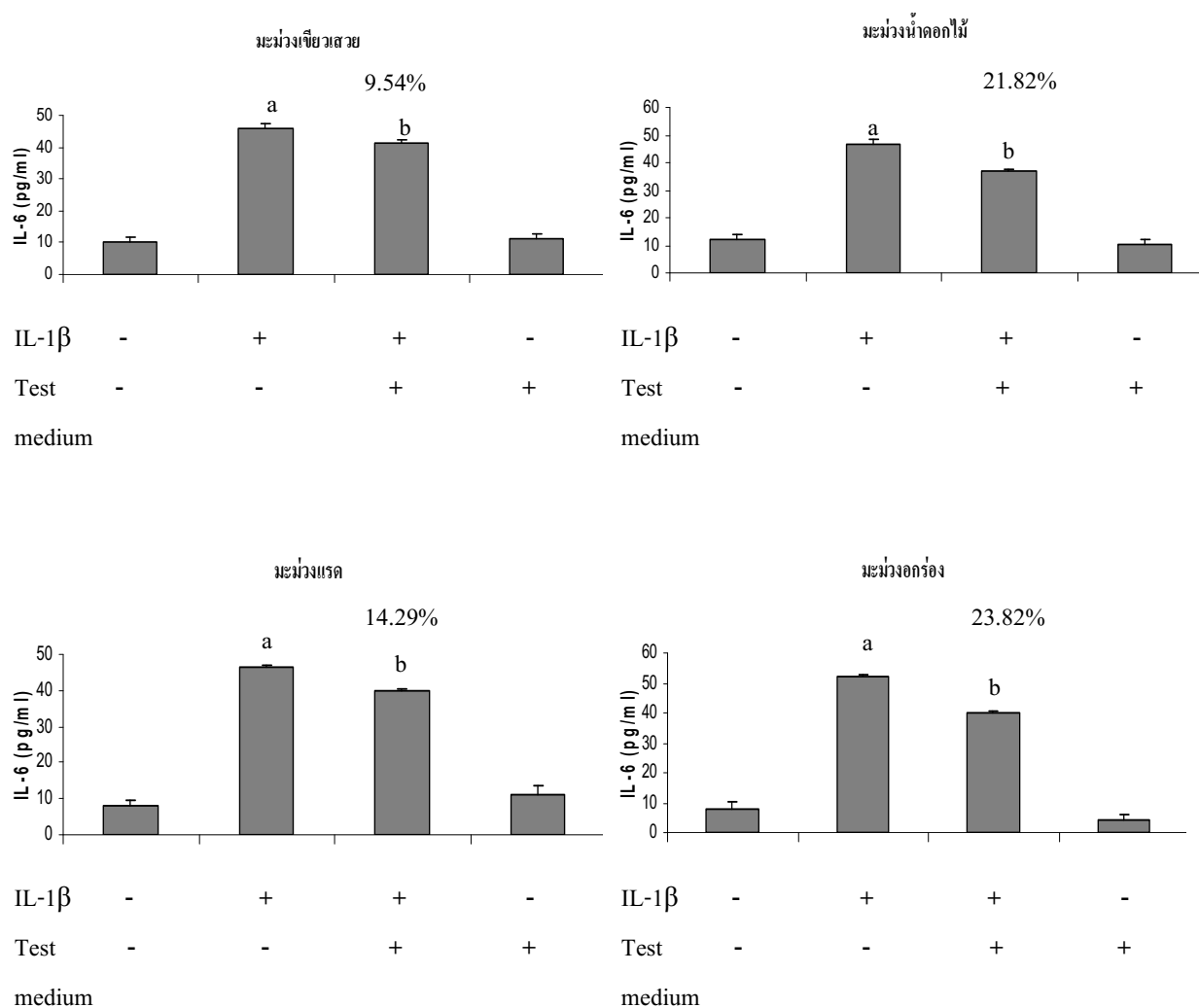
ผลการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ทั้ง 12 ชนิดในการลดการหลั่งของ IL-6 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบนั้น จะทำการรายงานผลเป็น % IL-6 inhibition โดยนำปริมาณของ IL-6 ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับตัวอย่างของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย (aqueous fraction) แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ เทียบกับ ปริมาณของ IL-6 ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) จากผลการทดสอบนี้ พบว่า ผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นถึงแม้ว่าจะการจำลองผ่านกระบวนการย่อยภายในร่างกายซึ่งเปรียบเสมือนการที่ได้รับประทานแล้วผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแล้วนั้นก็ยังมีประสิทธิภาพในการลดการเกิด IL-6 ได้ โดย ส้มโอทองดีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง IL-6 จากเซลล์ลำไส้ได้มากที่สุดประมาณ 34% รองลงมา คือ มะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโขวาน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี มะม่วงน้ำดอกไม้และมะม่วงอกร่อง มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง IL-6 ของเซลล์ลำไส้ได้ประมาณ 21-30% กัลยไช้ และมะม่วงแรด มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง IL-6 ของเซลล์ลำไส้ ได้ประมาณ 15-20% ส่วนกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และมะม่วงเขียวเสวยนั้น มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง IL-6 ของเซลล์ลำไส้ได้ประมาณ 10% ดังในรูปที่ 21-23



รูปที่ 21 ผลของมะละกอแขกดำ ฮอลแลนด์ และส้มโขวาน้ำผึ้ง ทองดี หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ IL-6 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม้นี้หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 22 ผลของกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอมและกล้วยไข่ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ IL-6 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

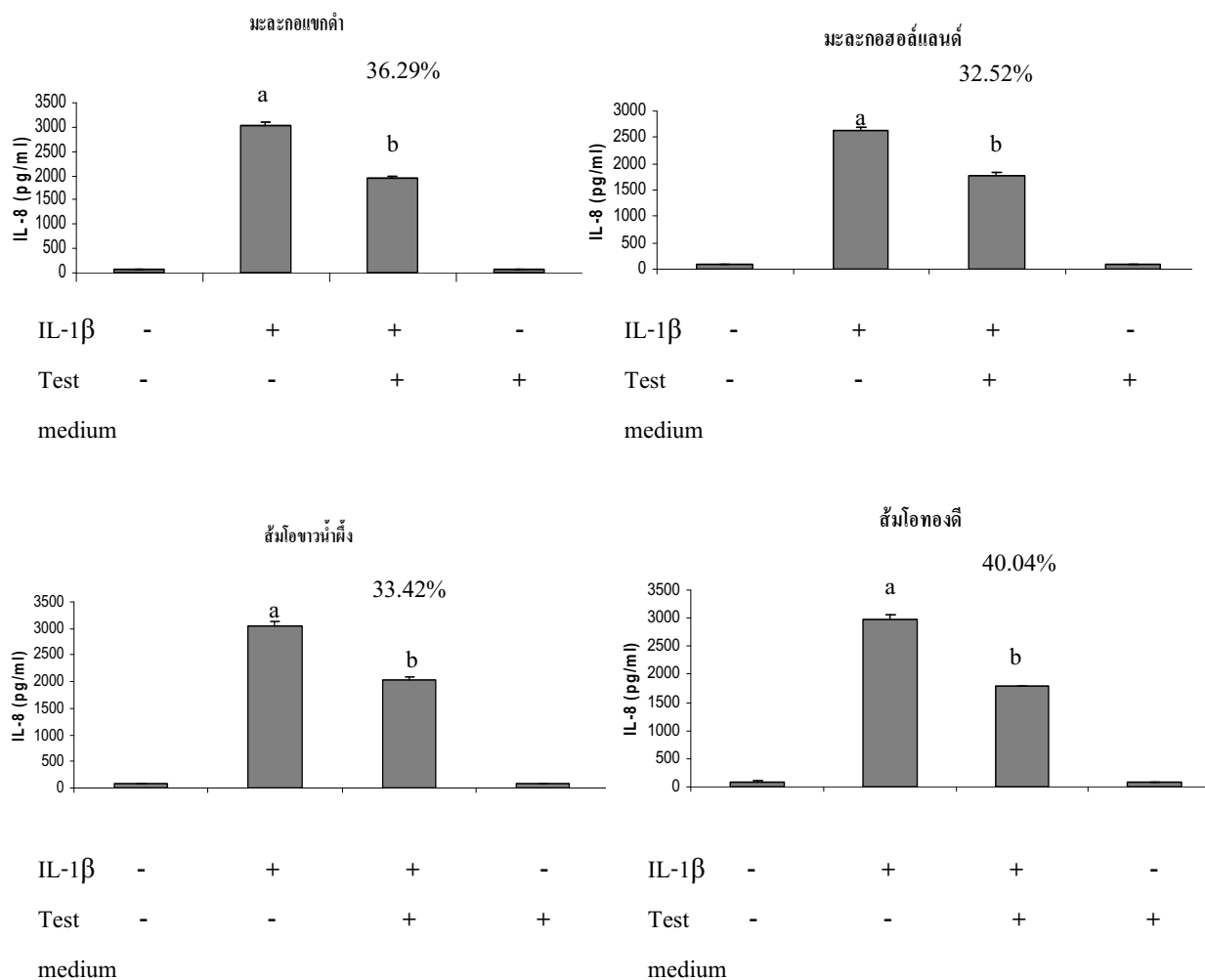


รูปที่ 23 ผลของมะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด มะม่วงอกร่อง หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ IL-6 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ IL-6 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม้นี้หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

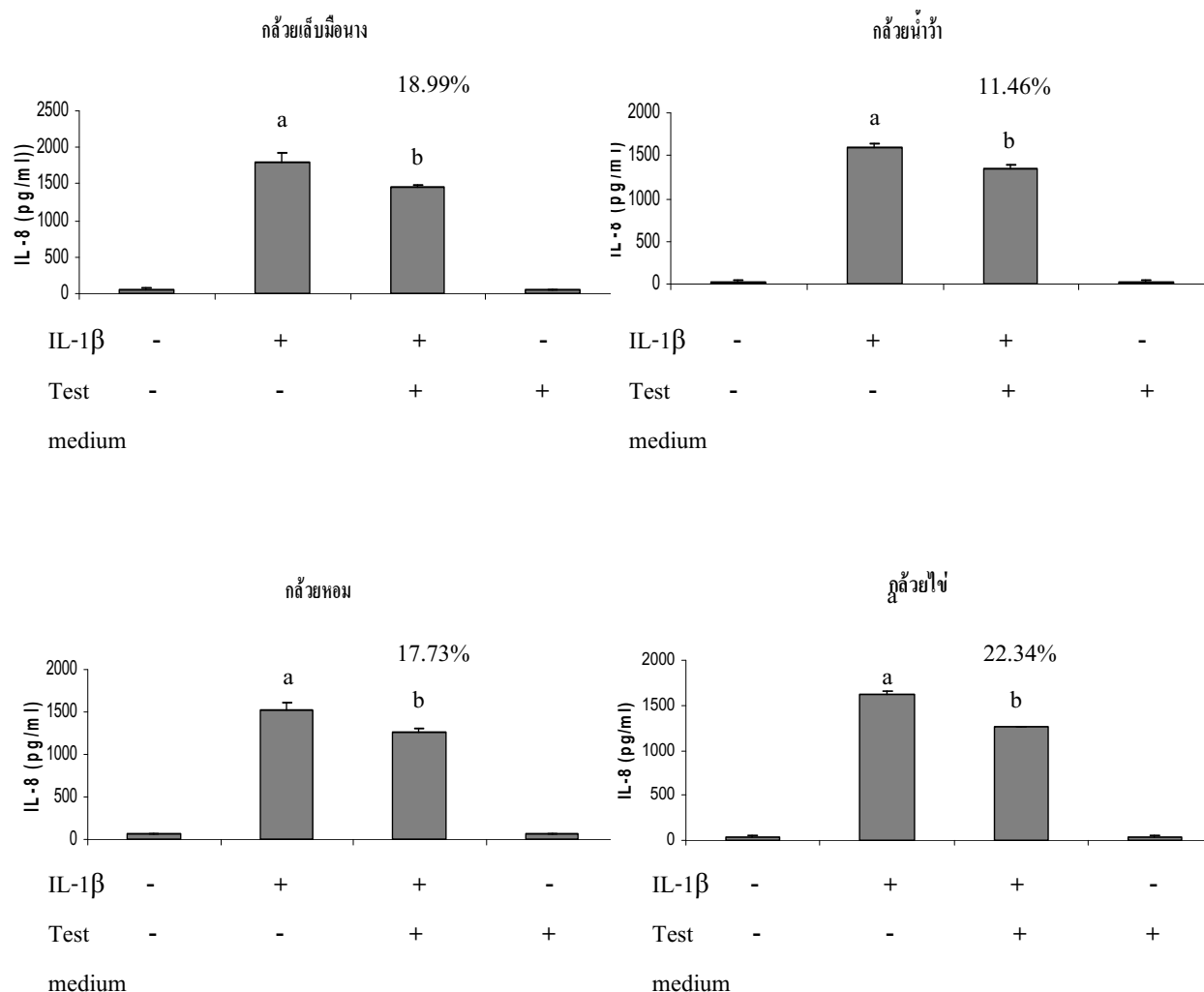
4.2.1.2 ผลของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายต่อการลดการหลั่ง IL-8 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β

การทดสอบปริมาณของการหลั่ง IL-8 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบพบว่า เซลล์ลำไส้ในกลุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุม มีการหลั่ง IL-8 ในปริมาณน้อย ในขณะที่เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถสร้าง IL-8 เพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ได้รับส่วนของ aqueous fraction ที่ไม่มีส่วนของตัวอย่าง) ประมาณ 2-3 เท่า และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 24-26

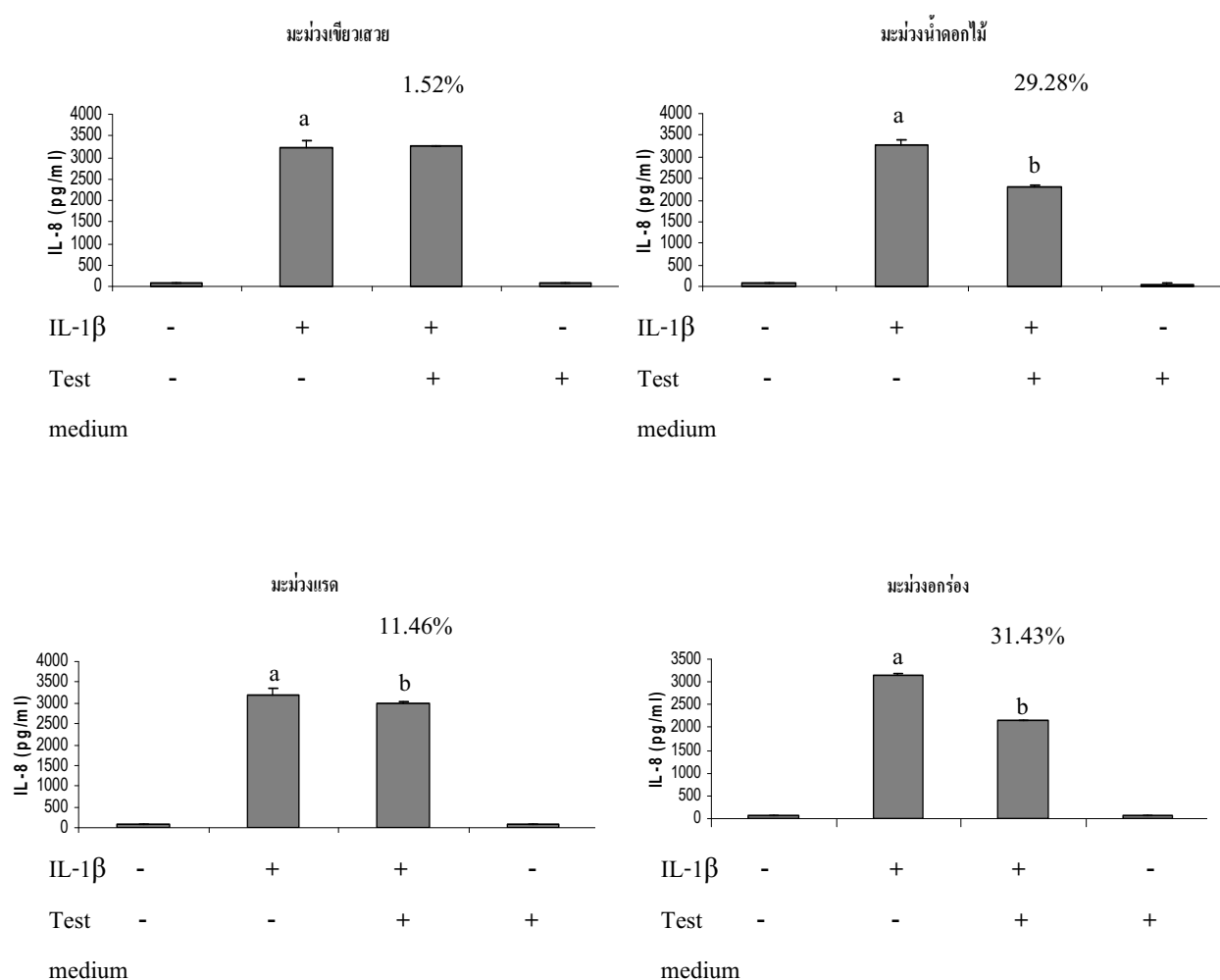
ผลการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ทั้ง 12 ชนิดในการลดการหลั่งของ IL-8 จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบนั้น จะทำการรายงานผลเป็น % IL-8 inhibition โดยนำปริมาณของ IL-8 ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับตัวอย่างของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย (aqueous fraction) แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ เทียบกับ ปริมาณของ IL-8 ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) จากผลการทดสอบนี้ พบว่า ผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นถึงแม้ว่าจะการจำลองผ่านกระบวนการย่อยภายในร่างกายซึ่งเปรียบเสมือนการที่ได้รับประทานแล้วผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแล้วนั้นก็ยังมีประสิทธิภาพในการลดการเกิด IL-8 ได้ โดย มะละกอ แอปเปิ้ล มะละกอฮอลล์แลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี และมะม่วงอกร่อง มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง IL-8 ของเซลล์ลำไส้ได้ประมาณ 31-40% กัลยไฉ่ และมะม่วงน้ำดอกไม้ มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง IL-8 ของเซลล์ลำไส้ ได้ประมาณ 21-30% ส่วนกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และมะม่วงแรคนั้น มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง IL-8 ของเซลล์ลำไส้ได้ประมาณ 10% ส่วนมะม่วงเขียวเสวยนั้นมีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง IL-8 ของเซลล์ลำไส้ได้ไม่ถึง 10% และเมื่อเปรียบเทียบกัน พบว่า ส้มโอทองดี สามารถยับยั้งได้มากที่สุด คือประมาณ 40 % ดังในรูปที่ 24-26



รูปที่ 24 ผลของมะละกอแขกดำ ฮอลแลนด์ และส้มโอมะลิ ทอดดี หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ IL-8 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม้นี้หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 25 ผลของกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอมและกล้วยไข่ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ IL-8 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD ($n = 3$) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

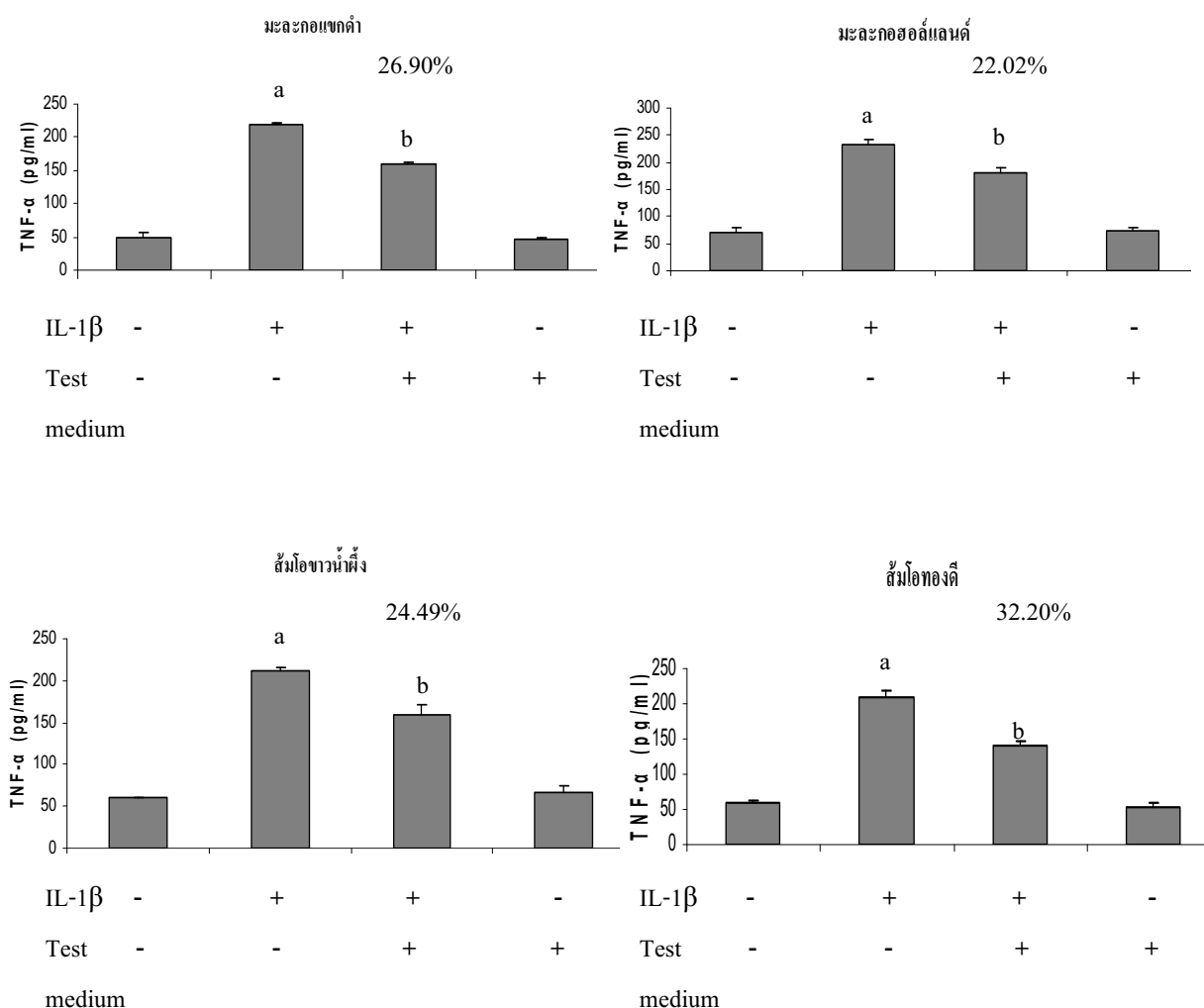


รูปที่ 26 ผลของมะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด และมะม่วงอกร่อง หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ IL-8 ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ IL-8 ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

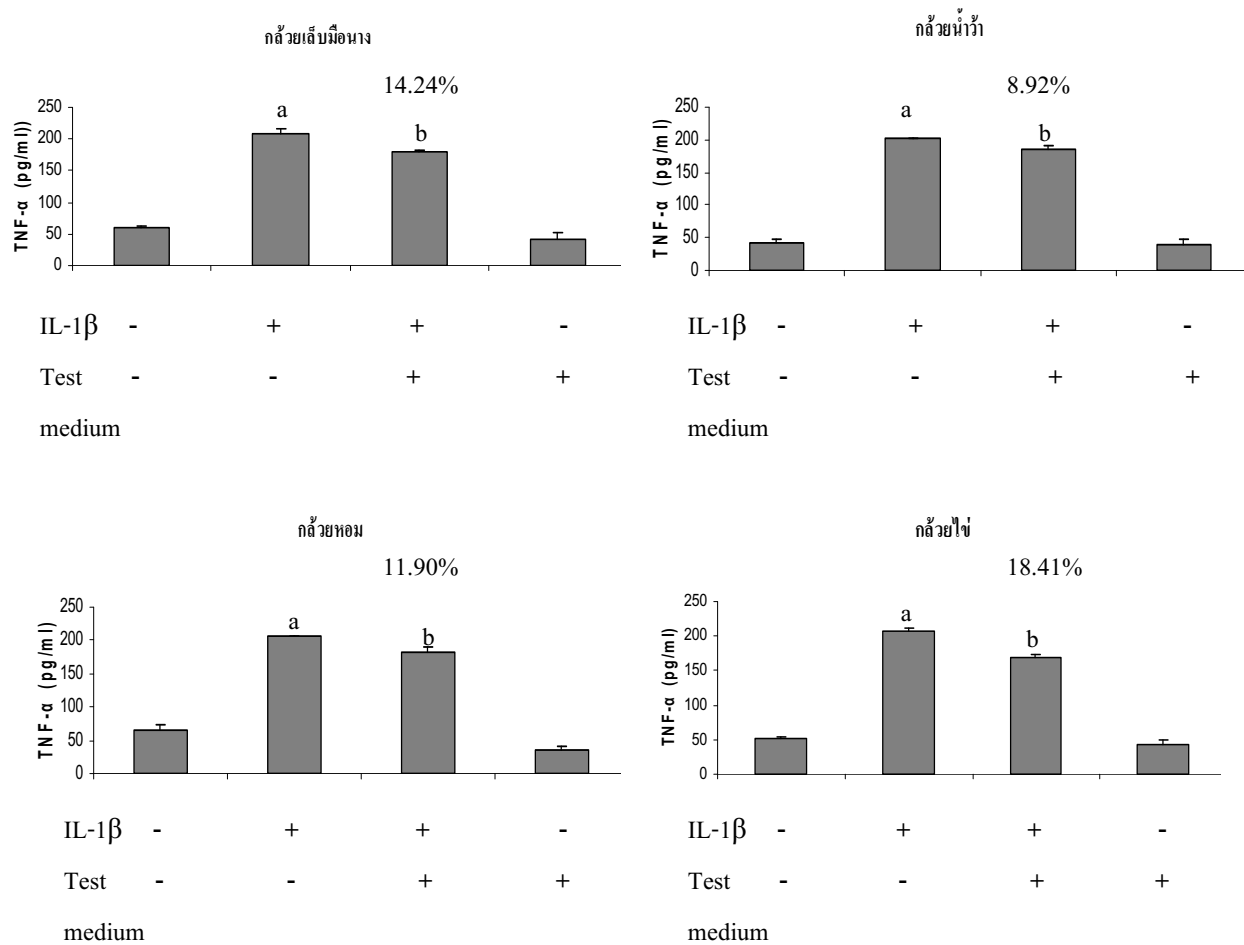
4.2.1.3 ผลของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายต่อการลดการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกกระตุ้นด้วย IL-1 β

การทดสอบปริมาณของการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบพบว่า เซลล์ลำไส้ในกลุ่มที่เป็นกลุ่มควบคุม มีการหลั่ง TNF- α ในปริมาณน้อย ในขณะที่เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถสร้าง TNF- α เพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ได้รับส่วนของ aqueous fraction ที่ไม่มีส่วนของตัวอย่าง) ประมาณ 2-3 เท่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 27-29

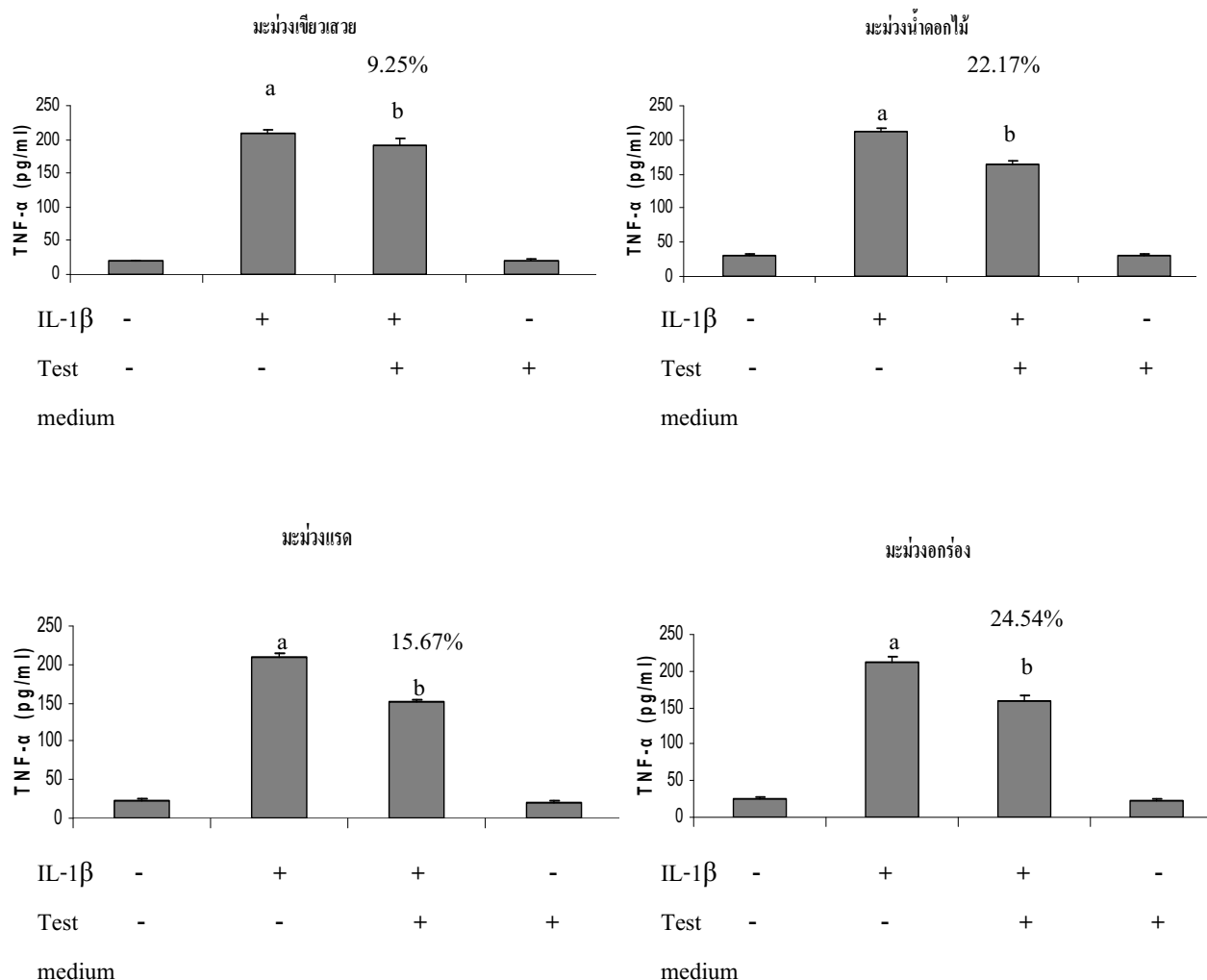
ผลการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ทั้ง 12 ชนิดในการลดการหลั่งของ TNF- α จากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบนั้น จะทำการรายงานผลเป็น % TNF- α inhibition โดยนำปริมาณของ TNF- α ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับตัวอย่างของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย (aqueous fraction) แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ เทียบกับ ปริมาณของ TNF- α ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการอักเสบ (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) จากผลการทดสอบนี้ พบว่า ผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นถึงแม้ว่าจะการจำลองผ่านกระบวนการย่อยภายในร่างกายซึ่งเปรียบเสมือนการที่รับประทานแล้วผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแล้วนั้นก็ยังมีประสิทธิภาพในการลดการเกิด TNF- α ได้ โดย ส้มโอทองดีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ลำไส้ได้มากที่สุดประมาณ 32% รองลงมา คือ มะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี มะม่วงน้ำดอกไม้และมะม่วงอกร่อง มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง TNF- α ของเซลล์ลำไส้ได้ประมาณ 21-30% กัลยเลืบนีออนาง กัลยหอม กัลยไข่ และมะม่วงแรด มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง IL-6 ของเซลล์ลำไส้ ได้ประมาณ 11-20% ส่วนกัลยเลืบนีออนาง และมะม่วงเขียวเสวยนั้น มีประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง TNF- α ของเซลล์ลำไส้ได้ประมาณ 10% ดังในรูปที่ 27-29



รูปที่ 27 ผลของมะละกอแขกดำ ฮอลแลนด์ และส้มโขวานน้ำผึ้ง ทองดี หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ TNF- α ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD ($n = 3$) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 28 ผลของกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอมและกล้วยไข่ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ TNF- α ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 29 ผลของมะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด และมะม่วงอกร่อง หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ TNF- α ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บน้ำเลี้ยงเซลล์วัดปริมาณของ TNF- α ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

4.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายด้วยวิธีทางเคมี

โดยทำการทดสอบ 3 วิธี คือ ORAC DPPH และ Deoxyribose assay เช่นเดียวกับการทดสอบจากสารสกัด โดยทำการชั่งผลไม้แห้งแต่ละชนิดประมาณ 1.2 g และนำมาผ่านกระบวนการจำลองการย่อยของร่างกาย (Total volume 50ml) จากนั้นจะนำส่วนที่ได้หลังจากกระบวนการย่อย คือ ส่วนที่เรียกว่า aqueous fraction มาทำการ dilute ให้ได้ความเข้มข้น 6 mg/ml เหมือนกับที่ทำการทดสอบในเซลล์ นำมาทดสอบหาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระดังนี้

4.2.2.1 Oxygen Radical Antioxidant Capacity (ORAC) assay

รายงานผลเป็นปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ (μmol of Trolox equivalent per gram dried weight) จากตัวอย่างผลไม้ส่วนที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย และเปรียบเทียบกับตัว standard (Trolox) ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

ผลการทดสอบ

ตารางที่ 3 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC ของผลไม้ชนิดต่าง ๆ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย (ส่วน aqueous fraction) โดยเทียบกับความเข้มข้นของ Trolox ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3)

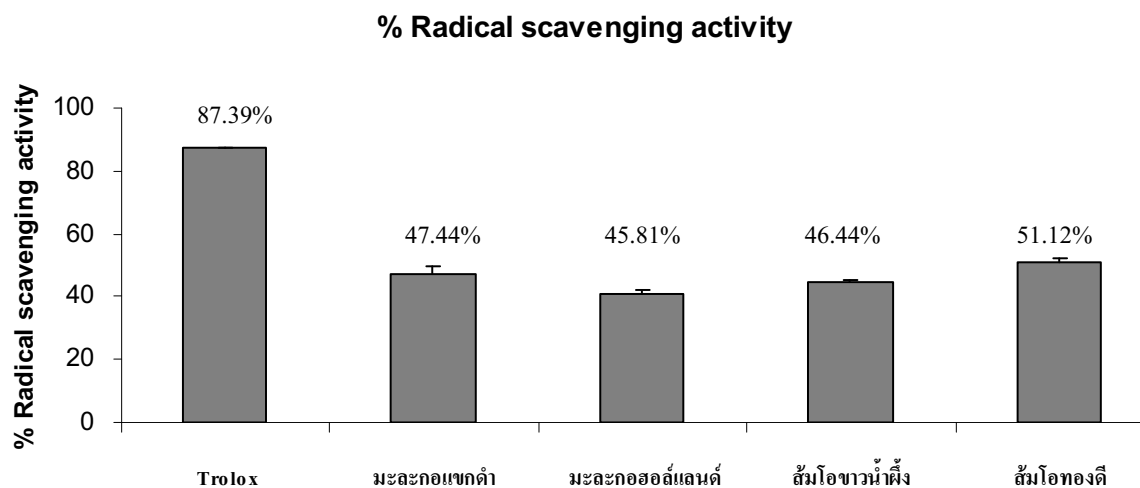
ชื่อผลไม้	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	umole Trolox/g Sample
มะละกอแขกดำ	<i>Carica papaya</i> Linn.	Papaya	133.34 $\pm$ 11.23
มะละกอฮอลแลนด์	<i>Carica papaya</i> Linn.	Papaya	127.45 $\pm$ 4.30
ส้มโอขาวน้ำผึ้ง	<i>Citrus maxima</i> Merr.	Pomelo	136.06 $\pm$ 4.02
ส้มโอทองดี	<i>Citrus maxima</i> Merr.	Pomelo	186.42 $\pm$ 8.47
กล้วยเล็บมือนาง	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	7.79 $\pm$ 0.18
กล้วยน้ำว้า	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	6.44 $\pm$ 0.35
กล้วยหอม	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	20.46 $\pm$ 2.36
กล้วยไข่	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	69.64 $\pm$ 6.28
มะม่วงเขียวเสวย	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	64.14 $\pm$ 1.47
มะม่วงแรด	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	116.13 $\pm$ 8.10
มะม่วงน้ำดอกไม้	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	125.19 $\pm$ 8.38
มะม่วงอกร่อง	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	127.43 $\pm$ 8.91

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของตัวอย่างผลไม้ชนิดต่าง ๆ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ซึ่งผลไม้เหล่านั้น ได้แก่ มะละกอ ส้มโอ กัลย และมะม่วง ต่อการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ (peroxyl radicals) ด้วยวิธี ORAC assay โดยเทียบกับความเข้มข้นของ Trolox (standard for antioxidant; Vit.E) พบว่า ส้มโอมีปริมาณของ trolox equivalent สูงที่สุด โดยเฉพาะ ส้มโอสายพันธุ์ทองดี มีค่า trolox equivalent เท่ากับ 186.42 ± 8.47 ซึ่งหมายถึง ส้มโอ (ทองดี) ที่น้ำหนัก 1.2 g หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับ Trolox ที่มีความเข้มข้น 186.42 ± 8.47 μmole รองลงมา คือ ส้มโอสายพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ผลไม้ในกลุ่มของมะละกอ มะม่วง และกัลย ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อทำการเปรียบเทียบผลไม้ชนิดเดียวกันแตกต่างกันในส่วนของสายพันธุ์นั้น พบว่า ในกลุ่มของส้มโอ ส้มโอทองดีจะมีประสิทธิภาพดีกว่าส้มโอขาวน้ำผึ้ง ในกลุ่มของมะละกอ พบว่า มะละกอสายพันธุ์แขกดำมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่ามะละกอสายพันธุ์ฮอลแลนด์ ในกลุ่มของกัลยนั้น กัลยไข่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ กัลยหอม กัลยน้ำว้า และกัลยเล็บมือนาง ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มของมะม่วงนั้น พบว่า มะม่วงอกร่อง มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรดและมะม่วงเขียวเสวยตามลำดับ

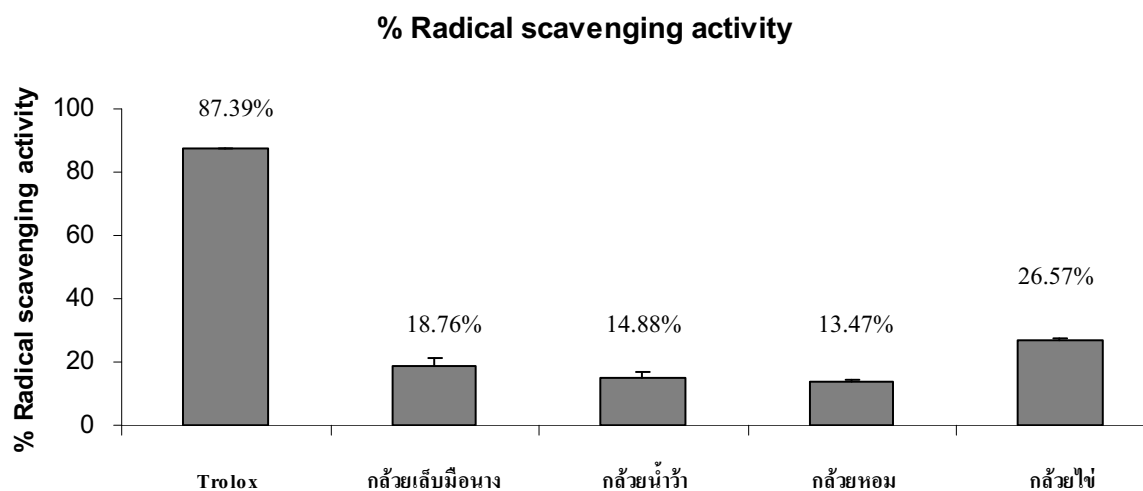
4.2.2.2 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) assay เป็นวิธีสำหรับทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างโดยนำส่วนของผลไม้ที่ผ่านการย่อยของร่างกาย มาทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระที่เสถียร คือ DPPH (ความเข้มข้น 150 μM) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 nm และเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีสารสกัดจากตัวอย่างของผลไม้ โดยมี Trolox เป็นตัว standard ในการเปรียบเทียบ ถ้าหากสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ที่ทดสอบมีฤทธิ์ในการกำจัด DPPH ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะลดลง และการวัดด้วยวิธีนี้จะรายงานผลเป็น % การกำจัดสารอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging Activity; %RSD)

ผลการทดสอบ

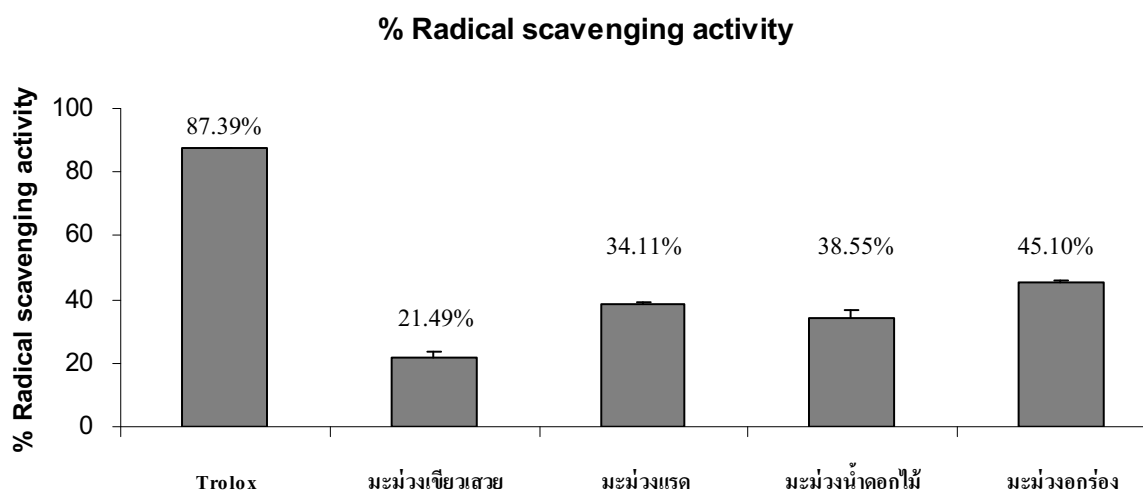
จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ด้วยเครื่อง spectrophotometer และเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีสารสกัดจากตัวอย่างของผลไม้ที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย โดยมี Trolox เป็น positive control พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของ Trolox และตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิด หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายนั้นมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (น้ำกลั่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิด หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายนั้นก็ยังมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ (non-biological radicals) ที่เกิดขึ้นได้ และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของ Trolox และตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิด หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ไปคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (%Radical Scavenging Activity) พบว่า Trolox สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 87.39 ± 0.25 % ส่วนตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิดหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้ตั้งแต่ 10-50% ขึ้นอยู่กับชนิดของผลไม้ และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกัน พบว่า ส้มโอทองดี มีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากที่สุด คือ ประมาณ 50% รองลงมา คือ มะละกอแขกดำ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง มะละกอฮอลแลนด์ มะม่วงอกร่อง มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด กล้วยไข่ มะม่วงเขียวเสวย กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอมตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 30-32



รูปที่ 30 % Radical scavenging activity จาก DPPH assay ของตัวอย่างมะละกอและส้มโอ อย่างละ 2 สายพันธุ์หลังจากผ่านการจำลองการย่อยของร่างกาย ใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3)

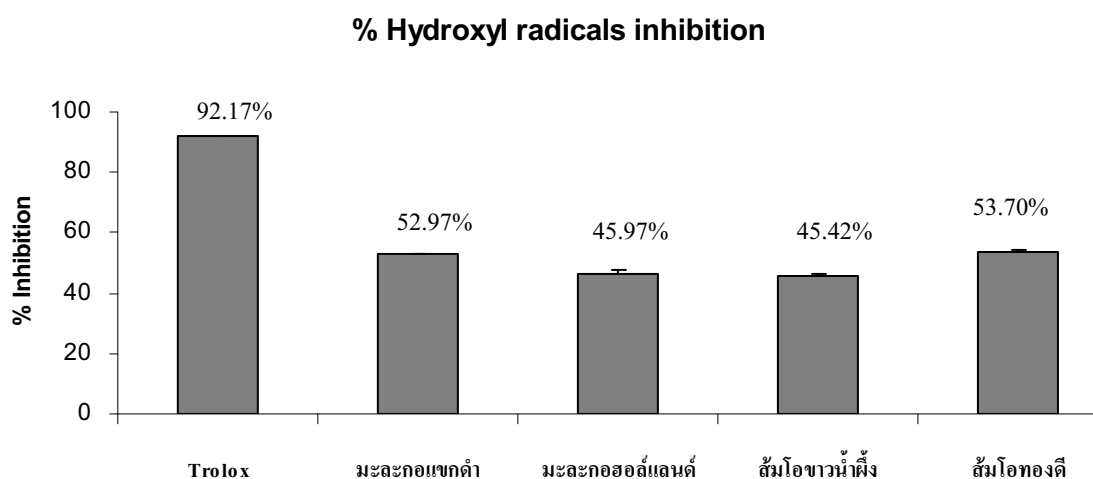


รูปที่ 31 % Radical scavenging activity จาก DPPH assay ของตัวอย่างก้อย 4 สายพันธุ์ หลังจากผ่านการจำลองการย่อยของร่างกายหลังจากผ่านการจำลองการย่อยของร่างกาย ใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3)



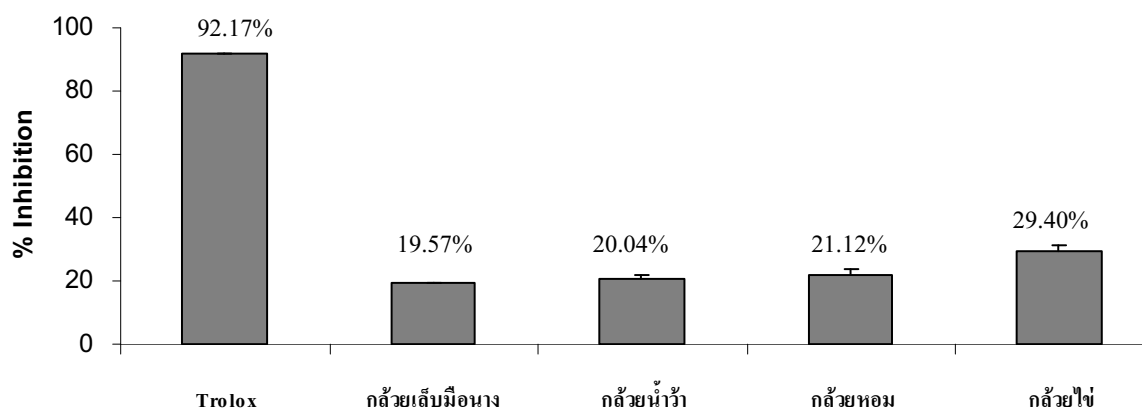
รูปที่ 32 % Radical scavenging activity จาก DPPH assay ของตัวอย่างมะม่วง 4 สายพันธุ์ หลังจากผ่านการจำลองการย่อยของร่างกาย ใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3)

4.2.2.3. Deoxyribose assay เป็นวิธีทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ จากตัวอย่างผลไม้โดยวัดจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (TBARS) จากปฏิกิริยาระหว่าง deoxyribose กับ อนุมูลอิสระ (hydroxyl radicals) ที่เกิดจาก Fe^{2+} ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 โดยปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาของสารอนุมูลอิสระที่ได้กล่าวข้างต้นนั้นจะวัดได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 532 nm ในการแปลผลถ้าหากตัวอย่างผลไม้ส่วนที่ผ่านการย่อยของร่างกายมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ (hydroxyl radicals) ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะลดลงเมื่อเทียบกับตัวที่ไม่มีตัวอย่างผลไม้ส่วนที่ผ่านการย่อยของร่างกาย จากผลการวัดการดูดกลืนแสงซึ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของตัวอย่างผลไม้ชนิดต่าง ๆ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของ Trolox และจากตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิดมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (น้ำกลั่น) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากตัวอย่างของผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals ที่เกิดขึ้นได้ เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของ Trolox และตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 ชนิดหลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายไปคำนวณหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ กลุ่ม hydroxyl radicals พบว่า Trolox สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ $92.17 \pm 0.16\%$ ส่วนตัวอย่างผลไม้ทั้ง 12 อย่างนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ประมาณ 20-50% และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกัน พบว่า ส้มโอทองดี สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระกลุ่ม hydroxyl radicals ได้มากที่สุด คือประมาณ 53% รองลงมา คือ มะละกอแขกดำ มะม่วงอกร่อง มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด กัลยไชย มะม่วงเขียวเสวย กัลยหอม กัลยน้ำว้า และกล้วยเล็บมือนาง ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 33-35



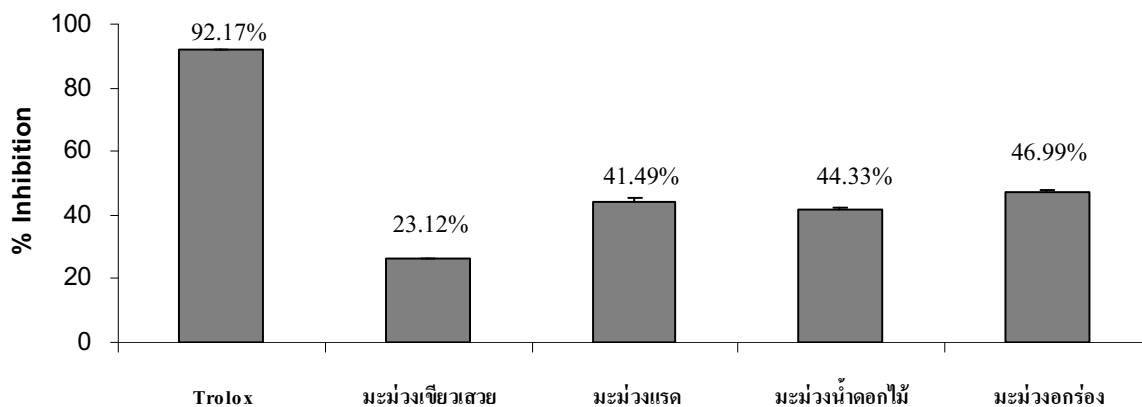
รูปที่ 33 % Hydroxyl radicals inhibition จาก Deoxyribose assay ของ ตัวอย่างมะละกอ และส้มโอ อย่างละ 2 สายพันธุ์หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control และ น้ำกลั่นเป็น control ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3)

% Hydroxyl radicals inhibition



รูปที่ 34 % Hydroxyl radicals inhibition จาก Deoxyribose assay ของตัวอย่างกล้าย 4 สายพันธุ์หลังจากผ่านการจำลองการย่อยของร่างกาย ใช้ Trolox 0.8 M เป็น positive control และ น้ำกลั่นเป็น control ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) *

% Hydroxyl radicals inhibition

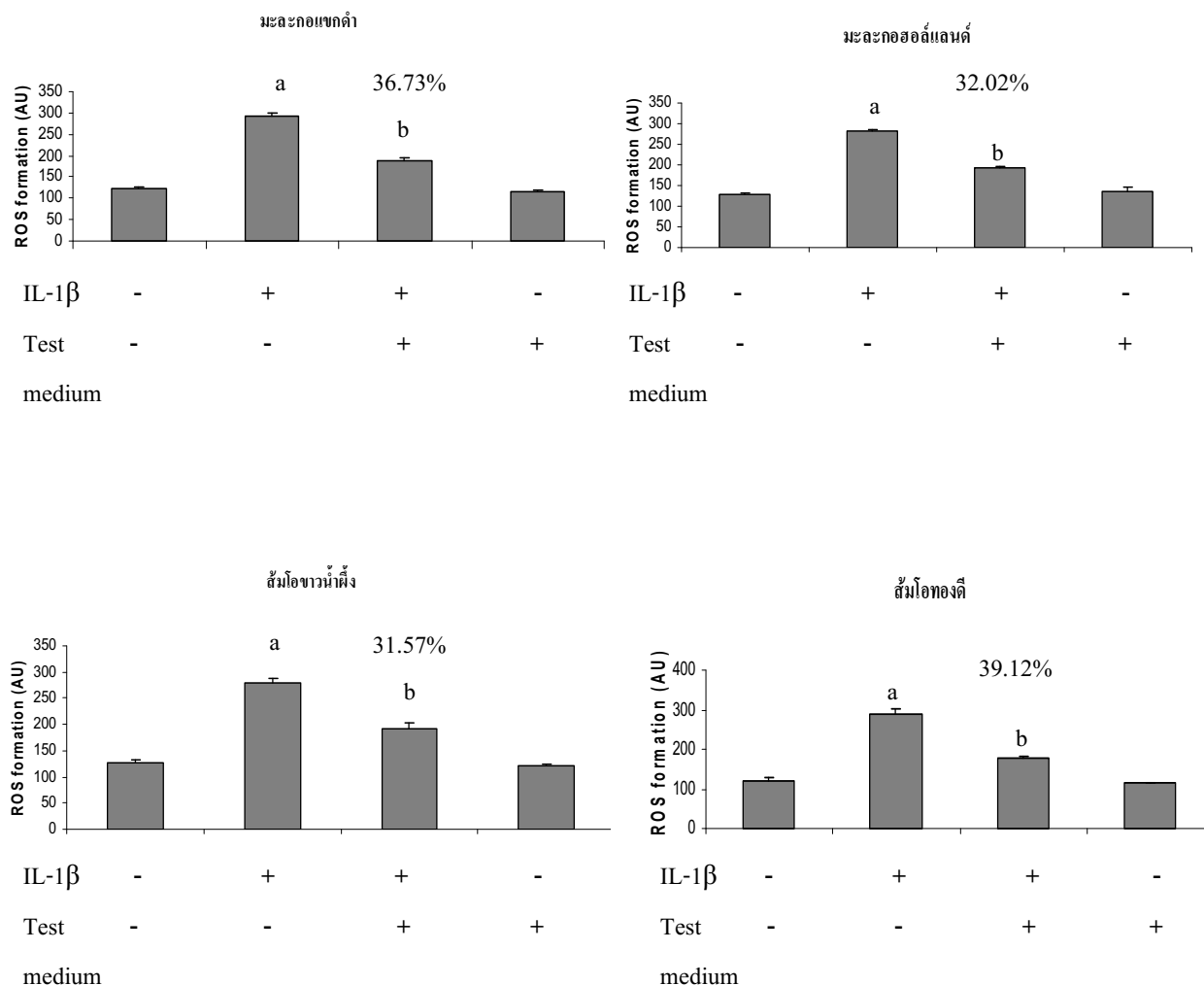


รูปที่ 35 % Hydroxyl radicals inhibition จาก Deoxyribose assay ของตัวอย่างมะม่วง 4 สายพันธุ์หลังจากผ่านการจำลองการย่อยของร่างกาย ใช้ Trolox 0.8 mM เป็น positive control และ น้ำกลั่นเป็น control ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3)

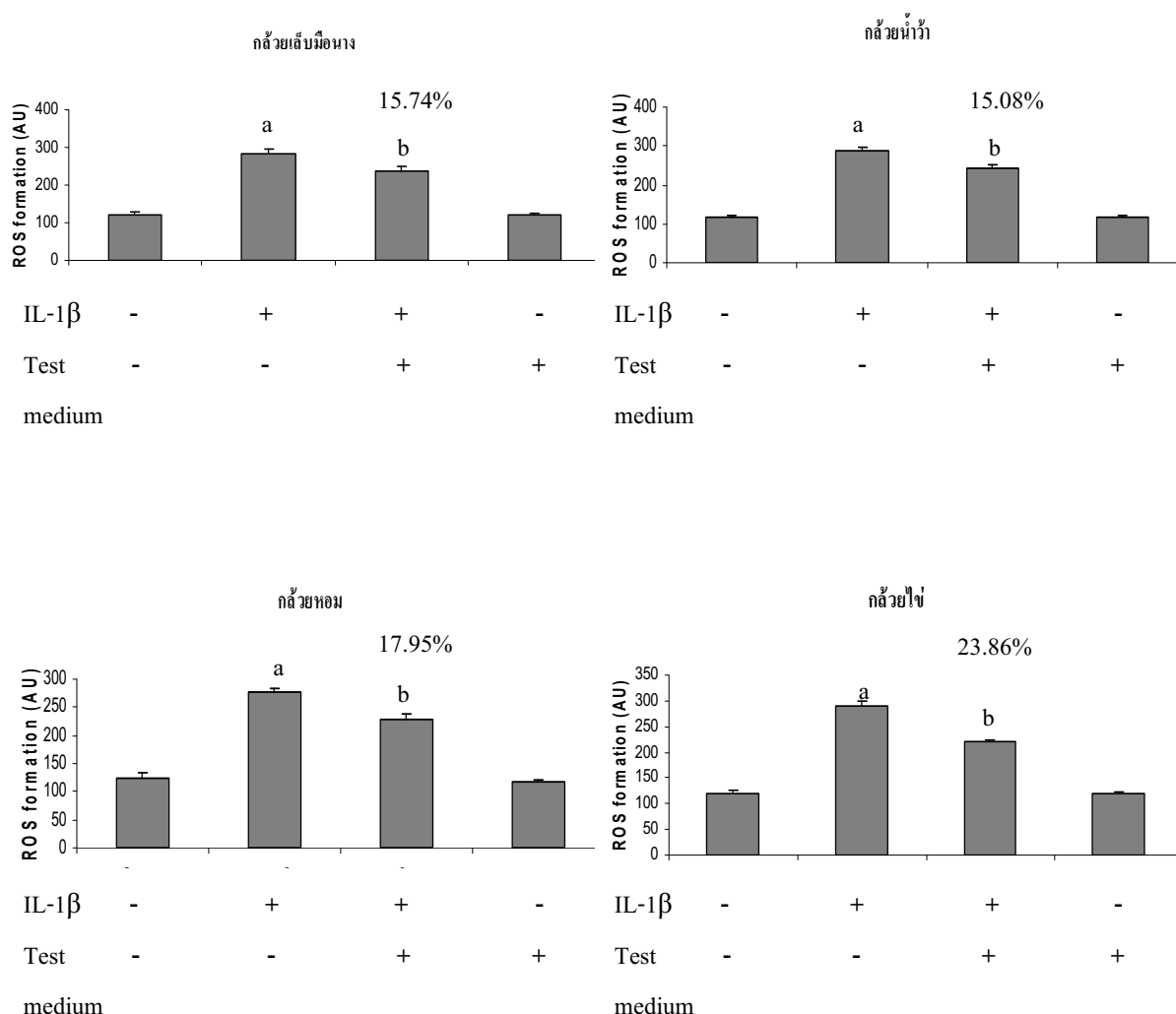
4.2.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย

เป็นการทดสอบถึงประสิทธิภาพของตัวอย่างผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในการลดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress ด้วย IL-1 β การทดสอบนี้จะนำส่วนของผลไม้ที่ผ่านการย่อยของร่างกาย (aqueous fraction) เจือจางด้วย basal media ในอัตราส่วน 1:3 ซึ่งเป็นปริมาณที่ทดสอบแล้วว่าไม่เป็นพิษกับเซลล์ที่ใช้ในการศึกษา นี้ ซึ่งส่วนผสมนี้จะเรียกว่า test medium จากนั้นจึงนำไปทดสอบกับเซลล์ที่ได้ทำการเลี้ยงไว้ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยเซลล์จะถูกเลี้ยงด้วย test medium ที่ 37 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างเซลล์ด้วย basal media แล้วจึงทำการกระตุ้นด้วย 10 ng/ml IL-1 β และทำการเลี้ยงต่อ เป็นเวลาอีก 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บเซลล์เพื่อนำไปหาค่า absorbance สำหรับหาค่า ROS เช่นเดียวกับทำในสารสกัด

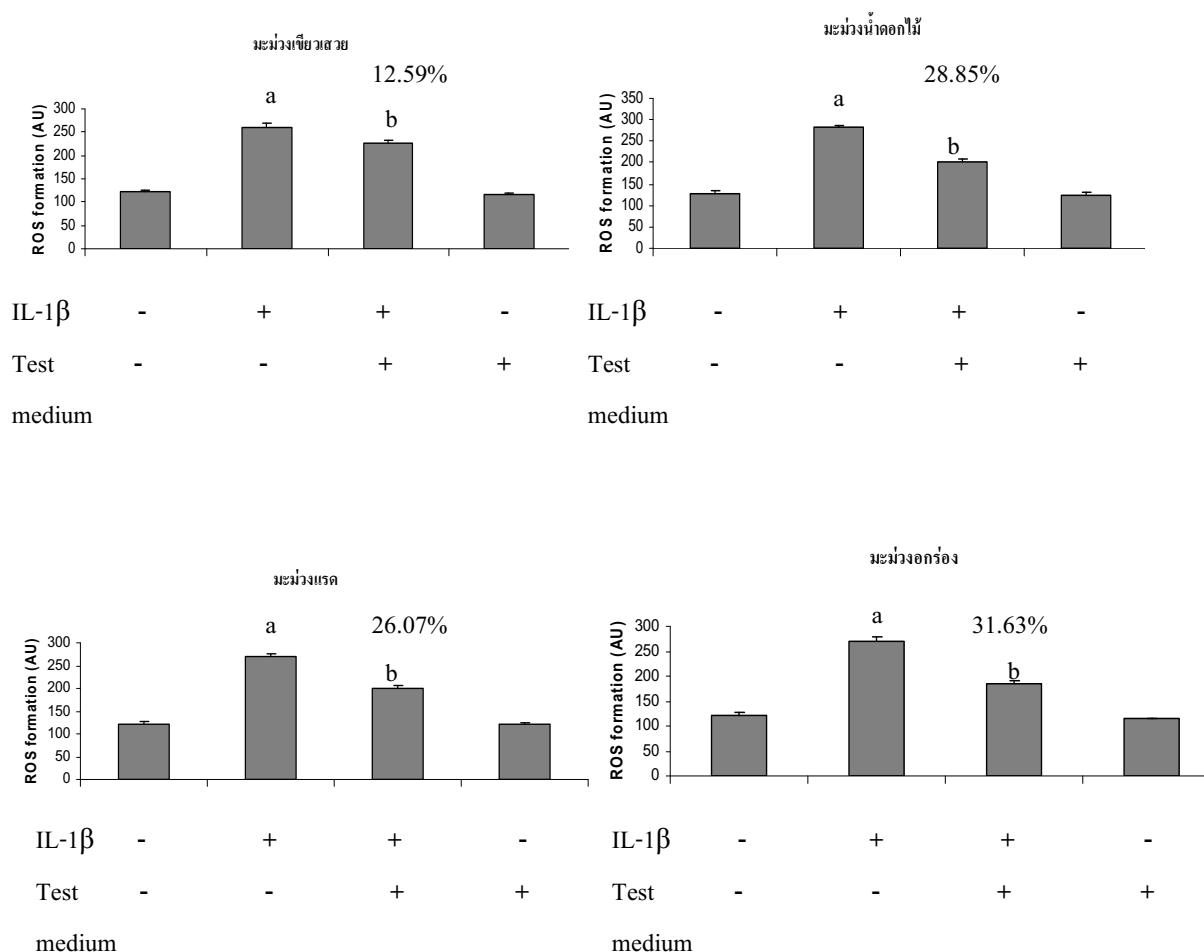
ผลการทดสอบ



รูปที่ 36 ผลของมะละกอแขกดำ ฮอลแลนด์ และส้มโขว่น้ำผึ้ง ทองดี หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บเซลล์เพื่อวัดปริมาณ ROS ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 37 ผลของกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และกล้วยไข่ หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บเซลล์เพื่อวัดปริมาณ ROS ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว



รูปที่ 38 ผลของมะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด มะม่วงอกร่อง หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ต่อการหลั่งของ ROS ในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบด้วย IL-1 β โดยทำการเลี้ยงเซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนผสมของ test medium (ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านการย่อยผสมกับ basal media) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml 24 ชั่วโมง เก็บเซลล์เพื่อวัดปริมาณ ROS ทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใส่ test medium ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n = 3) **a** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และ **b** แสดงความแตกต่างในการเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วย IL-1 β เท่านั้น ($P < 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวเลขที่แสดงนั้นจะแสดงถึง % inhibition ของผลไม่หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกายโดยเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว

จากผลการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในการลดอนุมูลอิสระของเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress โดยใช้ IL- β เป็นตัวเหนี่ยวนำนั้น พบว่า IL- β สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ลำไส้หลั่งพวกสารอนุมูลอิสระออกมาได้โดยจะเห็นได้จากรูปที่ 36-38 ซึ่งค่า OD ที่วัดได้จากกลุ่มเซลล์ที่ได้รับ IL- β มีค่าสูงกว่ากลุ่ม control ($p < 0.05$ เมื่อเทียบกับ control) โดยในกลุ่ม control ของการทดสอบนี้จะใช้ ส่วนของ aqueous fraction จากกระบวนการย่อยของร่างกายซึ่งไม่มีตัวอย่างของผลไม้

ผลการทดสอบฤทธิ์ของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย ทั้ง 12 ชนิดในการลดอนุมูลอิสระจากเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress นั้น จะทำการรายงานผลเป็น % ROS inhibition โดยนำปริมาณของ ROS ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับตัวอย่างของผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย (aqueous fraction) แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress เทียบกับ ปริมาณการของ ROS ที่วัดได้จากกลุ่มที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress (กลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว) จากผลการทดสอบนี้ พบว่า ผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นถึงแม้ว่าจะการจำลองผ่านกระบวนการย่อยภายในร่างกายซึ่งเปรียบเสมือนการที่ได้รับประทานแล้วผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแล้วนั้นก็ยังมีประสิทธิภาพในการลดการเกิด ROS ได้ โดย แล้วมะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี และมะม่วงอกร่อง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ได้ประมาณ 30-40% กล้วยไข่มะม่วงน้ำดอกไม้ และมะม่วงแรด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ได้ประมาณ 20-30% ส่วนกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และมะม่วงเขียวเสวยนั้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ได้ประมาณ 10-20% และเมื่อเปรียบเทียบกัน พบว่า ส้มโอทองดีและมะละกอแขกดำ สามารถยับยั้งได้มากที่สุด คือประมาณ 40 และ 37% ดังในรูปที่ 36-38

4.2.4 การศึกษาความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของผลไม้หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกาย

การทดสอบนี้เป็นการยืนยันผลในข้อ 4.2.1 และ 4.2.3 ว่าการที่ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ซึ่งเป็นตัวชี้วัดลดลงนั้นไม่ได้เกิดจากความเป็นพิษของตัวอย่างผลไม้ที่ผ่านการย่อย หรือ cytokine ที่ใช้สำหรับเหนี่ยวนำ (IL-1 β) โดยการทดสอบนี้จะทำการเลี้ยงเซลล์เหมือนกับข้อ 3.8 หลังจากเลี้ยงเซลล์ด้วย test medium (aqueous fraction 1 ml : basal media 3 ml) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และ กระตุ้น ด้วย IL-1 β 10 ng/ml และทำการเลี้ยงต่อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วก็จะนำไปทำการล้าง fixed และย้อมสีเซลล์เหมือนกับข้อ 4.1.1 การคำนวณปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต (viability) ใช้ค่า absorbance จากผลลัพธ์ของความเข้มของสีที่ 500 nm หักออกจากความเข้มของสีที่ 690 nm การทดสอบความเป็นพิษของผลไม้ที่ผ่านการย่อยนั้นแปลผลโดยคิดว่าจำนวนเซลล์ในกลุ่มควบคุม (เซลล์ที่ไม่ได้รับสารใดเลย) เป็น 100 %เปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ที่เลี้ยงด้วย IL-1 β หรือ IL-1 β + test medium โดยกลุ่มที่ได้รับสารใดที่ทำให้เซลล์ตายมากกว่า 10% (อัตราการรอดน้อยกว่า 90%) ถือว่าสารกลุ่มนั้นมีความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งบอกได้ว่าการที่พวก IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS ลดลงนั้นเกิดจากการที่เซลล์ตายไม่ได้เกิดจากประสิทธิภาพของตัวอย่างผลไม้ที่ผ่านการย่อย

ผลการทดสอบ (แสดงในภาคผนวก จ.)

จากผลการศึกษาพบว่า % อัตราการรอด (% Cell viability) ของทุกกลุ่มนั้นมีมากกว่า 90% ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ทั้งตัวที่ใช้ในการเหนี่ยวนำ (IL-1 β) และตัวอย่างของผลไม้ที่ผ่านการย่อยของร่างกายนั้น ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งผลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า การลดลงของตัวชี้วัด คือ IL-6, IL-8, TNF- α และ ROS เป็นผลของตัวอย่างผลไม้ที่ผ่านการย่อยโดยตรงมิได้เป็นผลมาจากปริมาณเซลล์ที่น้อยลง

ตารางที่ 4 สรุปความสามารถในการลดการเกิดอนุมูลอิสระของผลไม้ทั้ง 12 ชนิด หลังจากผ่านการย่อยของร่างกายในภาวะการจำลอง

ชื่อผลไม้	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	Anti-inflammatory activities				Antioxidant activities		
			% IL-6 inhibition	% IL-8 inhibition	% TNF- α inhibition	% RSA	% Hydroxyl radical inhibition	% ROS inhibition	
มะละกอแสด	<i>Carica papaya</i> Linn.	Papaya	29.83	36.29	26.90	47.44	52.97	36.73	
มะละกอฮอลแลนด์	<i>Carica papaya</i> Linn.	Papaya	26.09	32.52	22.02	45.81	45.97	32.02	
ส้มโอขาวน้ำผึ้ง	<i>Citrus maxima</i> Merr.	Pomelo	22.48	33.42	24.49	46.44	43.32	31.57	
ส้มโอทองดี	<i>Citrus maxima</i> Merr.	Pomelo	33.56	40.04	32.20	51.12	53.70	39.12	
กล้วยเล็บมือนาง	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	12.18	18.99	14.24	18.76	19.57	15.74	
กล้วยน้ำว้า	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	9.61	11.46	8.92	14.88	20.04	15.08	
กล้วยหอม	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	12.36	17.73	11.90	13.47	21.12	17.95	
กล้วยไข่	<i>Musa sapientum</i> Linn.	Banana	18.16	22.34	18.41	26.57	29.40	23.86	
มะม่วงเขียวเสวย	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	9.54	1.52	9.25	21.49	23.12	12.59	
มะม่วงแสด	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	21.82	29.28	22.17	34.11	41.49	28.85	
มะม่วงน้ำดอกไม้	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	14.29	11.46	15.67	38.55	44.33	26.07	
มะม่วงอกร่อง	<i>Magifera indicab</i> Linn.	Mango	23.82	31.43	24.54	45.1	46.99	31.63	

ผลไม้แห้ง 1.2 กรัม ผ่านการย่อยของร่างกายในภาวะการจำลอง ซึ่งความเข้มข้นสุดท้ายที่ได้ คือ 6 mg/ml, ตัวเลขที่เป็นตัวหนาจะเป็นชนิดของผลไม้ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ในอันดับที่ 1 และ 2 ของแต่ละคุณสมบัติในการลดอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบ

5. อภิปรายผลการวิจัย

5.1. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบของสารสกัดจากผลไม้และผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย

การเกิดภาวะการอักเสบโดยใช้เซลล์ลำไส้เป็นแบบในการศึกษานี้จะทำการเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดภาวะการอักเสบด้วย cytokines IL-1 β ซึ่ง cytokines ตัวนี้จะไปกระตุ้นให้เกิดภาวะการอักเสบโดยการไปกระตุ้นการเข้าสู่นิวเคลียสของ transcription factor NF κ B ส่งผลให้มีการ express ยีนที่ก่อให้เกิดภาวะการอักเสบขึ้น เช่น Cox-2, iNOS และ cytokines ชนิดอื่น ๆ เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 45 หมายเลข 2 ดังนั้นในการศึกษาภาวะการต้านการอักเสบของสารสกัดจากผลไม้ และผลไม้หลังจากที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายนั้น การศึกษานี้จึงใช้ indicator cytokines ได้แก่ IL-6, IL-8 และ TNF- α สำหรับบอกถึงภาวะการอักเสบและ การต้านการอักเสบ

จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า cytokines IL-1 β สามารถกระตุ้นให้เซลล์ลำไส้เกิดภาวะการอักเสบได้โดยจะเห็นได้จาก IL-6, IL-8 และ TNF- α จากผลการทดลองในกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียวมีปริมาณที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การเพิ่มขึ้นของปริมาณของ IL-6, IL-8 และ TNF- α นั้นก็สามารถลดได้โดยสังเกตได้จากกลุ่มที่ได้รับทั้งตัวกระตุ้นและสารสกัดจากผลไม้หรือส่วนของผลไม้ที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย โดยเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับส้มโอทองดีนั้น จะพบว่าประสิทธิภาพในการลดการหลั่ง cytokines ต่าง ๆ นั้นจะมีประสิทธิภาพดีที่สุดซึ่งที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากการที่ส้มโอทองดีนั้นมีปริมาณของสารพฤกษเคมีชนิดต่าง ๆ มากกว่าผลไม้ชนิดอื่น ๆ ก็ได้ซึ่งต้องทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมีเหล่านั้นต่อไปเช่นเดียวกัน ดังนั้นจากการทดสอบเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าทั้งสารสกัดจากผลไม้และส่วนของผลไม้ที่ผ่านกระบวนการย่อยนั้นมีส่วนช่วยในการลดภาวะการอักเสบของเซลล์ลำไส้ที่ถูกกระตุ้นได้ จากการศึกษาของ Gallego และคณะ พบว่า สาร flavonoids นั้นจะมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบโดยไปมีผลการยับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของ NF κ B ทำให้ยีนที่ทำให้เกิดการอักเสบนั้นไม่มีการ express ขึ้นดังแสดงในรูปที่ 45 ด้านหมายเลข 2 ดังนั้นประสิทธิภาพของสารสกัดและผลไม้ที่ผ่านกระบวนการย่อยในการต้านการอักเสบนั้นก็อาจจะเกี่ยวข้องกับกลไกจากที่ได้กล่าวมานี้ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อไป

5.2. การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้และผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายด้วยวิธีทางเคมี

ORAC, DPPH และ Deoxyribose assay นั้น เป็นวิธีการทางเคมีสำหรับตรวจสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ โดยอาศัยหลักการคล้าย ๆ กัน คือ การทำให้เกิดภาวะที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นแล้วตรวจสอบประสิทธิภาพของสารตัวอย่างที่ต้องการศึกษาโดยดูจากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของกลุ่มที่ได้รับตัวอย่างที่ต้องการศึกษาเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น ซึ่งในทั้งสามวิธีที่ได้กล่าวมานั้นก็จะดูถึงการยับยั้งอนุมูลอิสระในกลุ่มของ ROS (Reactive oxygen species) เช่น peroxy radicals, hydroxyl radicals เป็นต้น

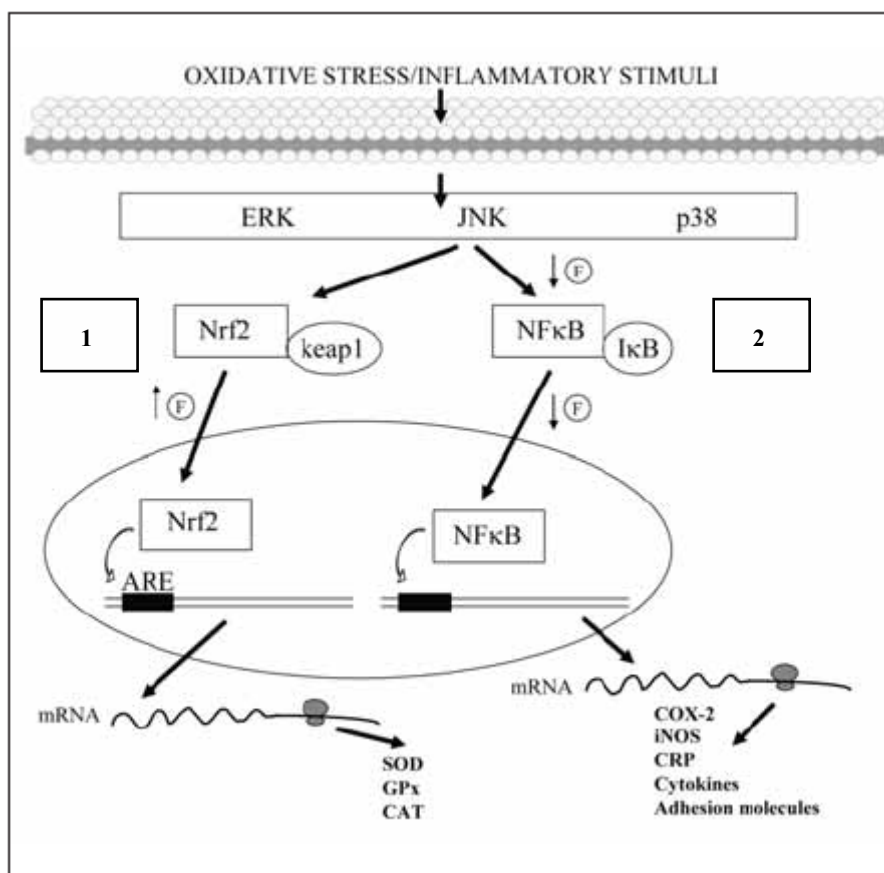
จากการศึกษาผลของสารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดโดยวิธีทางเคมีนั้น พบว่า สารสกัดจากผลไม้ทั้ง 12 ชนิดได้แก่ มะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม กล้วยไข่ มะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด และมะม่วงอกร่อง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระพวก ROS ที่เกิดขึ้นจากการจำลองได้ ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งพวกอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้เหล่านี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของผลไม้ และนอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบในผลไม้ชนิดเดียวกันก็ยังพบว่า ผลไม้ชนิดเดียวกันแต่คนละสายพันธุ์ก็มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่างกัน โดยจะเห็นจากผลการทดลองในข้อ 4.1.1 ซึ่งพบว่า ส้มโอ โดยเฉพาะส้มโอพันธุ์ทองดีนั้นจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งพวกอนุมูลอิสระมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำผลไม้ทั้ง 12 ชนิดมาผ่านกระบวนการจำลองภาวะการย่อยภายในร่างกายแล้ว ยังพบว่า ผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นก็ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งพวกอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากการจำลองได้เช่นกันดังแสดงไว้ในผลการทดลองข้อ 4.2.1 ซึ่งจากผลการทดสอบผลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดของผลไม้ทั้ง 12 ชนิดที่ได้ทำการศึกษา นั้นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ นอกจากนี้ผลไม้เหล่านี้เมื่อผ่านกระบวนการจำลองการย่อยภายในร่างกายซึ่งเปรียบเสมือนกับการที่ได้รับประทานเข้าไปจริง ๆ ก็พบว่าผลไม้เหล่านั้นก็ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้อยู่ ซึ่งผลเหล่านี้ก็แสดงให้เห็นว่าถ้ามีการรับประทานผลไม้เหล่านี้เข้าไปประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ก็จะยังคงอยู่ซึ่งอาจจะเป็นประโยชน์สำหรับร่างกายผู้บริโภคได้รับประทานเข้าไป

ประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นของผลไม้เหล่านี้ อาจเกิดมาจากสารพฤกษเคมีที่อยู่ในผลไม้ นั้น ๆ โดยเฉพาะกลุ่มของ phenolic acids, flavonoids และ carotenoids ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารพฤกษเคมีเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้

5.3. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ของสารสกัดจากผลไม้และผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกาย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาโดยการเหนี่ยวนำให้เซลล์ล้าให้เกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งทำให้เซลล์ล้าเหล่านั้นมีการผลิต ROS ขึ้นมาในปริมาณมากซึ่งวัดได้จาก spectrofluorometer และจากการศึกษานี้ก็พบว่า IL-1 β สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ล้าให้เกิดภาวะ oxidative stress และส่งผลให้มีการหลั่ง ROS ออกมาดังแสดงในข้อ 4.1.4 และ 4.2.3. โดยจะเห็นได้จากกลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียวเทียบกับกลุ่มควบคุม และเมื่อดูในกลุ่มของเซลล์ที่ได้รับสารสกัดจากผลไม้หรือผลไม้ที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายพบว่า ปริมาณของ ROS น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับ IL-1 β เพียงอย่างเดียว ซึ่งจากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดของผลไม้เหล่านั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง ROS จากเซลล์ล้าได้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress ได้ และถึงแม้ว่าผลไม้เหล่านี้จะผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายซึ่งเปรียบเสมือนการที่ผู้บริโภครับประทานผลไม้เหล่านี้เข้าไป ประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง ROS จากเซลล์ล้าได้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress นั้นก็ยังคงอยู่ ถึงแม้ว่าจะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อเทียบกับสารสกัด และเมื่อนำผลไม้แต่ละชนิดมาเปรียบเทียบกับกันนั้นก็พบว่า ชนิดและสายพันธุ์ของผลไม้ก็มีผลต่อการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ เช่นเดียวกันซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ได้จากวิธีทางเคมี โดยส้มโอทองดีจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหลั่ง ROS จากเซลล์ล้าได้ดีที่สุดจากผลไม้ที่ได้ทำการศึกษา ซึ่งที่เป็นเช่นนั้นอาจเกิดจากการที่ส้มโอทองดีนั้นมีปริมาณของสารพฤกษเคมีชนิดต่าง ๆ มากกว่าผลไม้ชนิดอื่น ๆ ก็ได้ซึ่งต้องทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมีเหล่านั้นต่อไป

ประสิทธิภาพของผลไม้ในการยับยั้งการหลั่งของ ROS จากเซลล์ล้าเหล่านั้นน่าจะเกิดจากกลุ่มของสารพฤกษเคมีที่อยู่ในผลไม้เหล่านั้น โดยเฉพาะในกลุ่มของ phenolic acids และ flavonoids ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยกลไกที่เกิดขึ้นนั้นอาจเกิดได้จากการที่สารสกัดจากผลไม้เหล่านั้นไปมีผลต่ออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นโดยตรง หรืออาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกระตุ้นระบบ phase II enzyme ของเซลล์ล้าได้ (Kwak et.al., 2004 and Gallego et.al., 2007) โดยการที่สาร flavonoids จะไปมีผลต่อ transcription factor Nrf2 ซึ่งส่งผลให้เกิดการสร้าง antioxidant enzyme เช่น superoxide dismutase, glutathione peroxidase และ catalase เป็นต้น ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้ก็จะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ ดังแสดงในรูปที่ 45 หมายเลข 1



รูปที่ 39 กลไกของ Flavonoids (F) ในด้านการต้านอนุมูลอิสระและภาวะการอักเสบ โดยในด้านซ้ายหมายเลข 1 จะเป็นส่วนของการต้านอนุมูลอิสระของ flavonoids ส่วนด้านขวาหมายเลข 2 จะเป็นส่วนของการต้านการอักเสบ ของ flavonoids (Gallego et.al., 2007)

ดังนั้นประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของทั้งสารสกัดจากผลไม้และผลไม้หลังจากที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแล้วนั้นก็อาจจะเกิดจากกลไกจากพวกสารพฤกษเคมีที่อยู่ในผลไม้เหล่านั้นซึ่งไปมีผลโดยกระตุ้นให้ Nrf2 ถูกส่งเข้าสู่นิวเคลียสเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการ express ของพวก antioxidant enzyme เพิ่มขึ้นซึ่งทำให้สามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ดีขึ้น แต่นอกจากกลไกนี้แล้วจากที่ได้กล่าวมาพวกสารพฤกษเคมีเองก็น่าจะมีผลต่อพวกอนุมูลอิสระโดยตรงด้วยโดยสังเกตได้จากการที่ทั้งสารสกัดของผลไม้และผลไม้จากส่วนที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายนั้นสามารถต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากการจำลองด้วยวิธีทางเคมีได้

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าในส่วนของการด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้ และส่วนที่ผ่านการย่อยของร่างกายในภาวะจำลองของผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้น พบว่าผลไม้ทั้ง 12 ชนิดในส่วนที่เป็นสารสกัดก็มีประสิทธิภาพในการด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของผลไม้เหล่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อนำผลไม้เหล่านั้นมาผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลองของร่างกาย ซึ่งเปรียบเสมือนการรับประทานเข้าไปแล้วนั้น พบว่า ผลไม้เหล่านั้นก็ยังมีประสิทธิภาพในการด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ และจะเห็นได้ว่าผลไม้บางชนิดนั้นมีประสิทธิภาพดีกว่าในส่วนที่เป็นสารสกัดเสียอีก โดยเมื่อดูในตารางที่ 1 และ 2 ที่แสดงถึงค่า ORAC และค่า IC₃₀ ของสารสกัดจากผลไม้ เทียบกับ ตารางที่ 3 และ 4 ซึ่งแสดงถึงค่า ORAC และประสิทธิภาพในการด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของผลไม้ที่ผ่านการย่อย พบว่า ในส่วนของ ค่า ORAC ผลไม้ที่ผ่านการย่อยของร่างกายจะมีประสิทธิภาพดีกว่าผลไม้สกัด และ ในส่วนของ IC₃₀ จะพบว่าผลไม้ส่วนใหญ่จะมีค่าอยู่ประมาณ 5-15 mg/ml ซึ่งก็คือ การที่ผลไม้สกัดเหล่านั้นจะช่วยลดการเกิดอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบได้ 30% นั้น จะต้องใช้สารสกัดจากผลไม้ประมาณ 5-15 mg/ml แต่ผลไม้ที่ผ่านการย่อยของร่างกายนั้นมีความเข้มข้นคือ 6 mg/ml บางชนิดสามารถด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระได้มากกว่า 30% และบางชนิดของผลไม้ที่ผ่านการย่อยของร่างกายก็มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารสกัดจากผลไม้ที่ความเข้มข้น 10 mg/ml เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากประสิทธิภาพของสารพฤษเคมีที่อยู่ในผลไม้เหล่านั้น ไม่ว่าจะเป็นในกลุ่มของ carotenoids, phenolic acids หรือ flavonoids เป็นต้น เนื่องจากการสกัดสารด้วย 90% เอทานอลนั้น อาจทำให้ได้สารพฤษเคมีบางกลุ่มเท่านั้น แต่การนำไปทำการย่อยนั้น อาจได้สารพฤษเคมีทั้งในกลุ่มของ hydrophilic และ lipophilics ที่อยู่ในผลไม้เหล่านั้น ทำให้ผลไม้ที่ผ่านการย่อยของร่างกายนั้นจึงมีประสิทธิภาพดีกว่า ซึ่งอาจต้องทำการพิสูจน์โดยการหาปริมาณของสารพฤษเคมีที่อยู่ในสารสกัดและส่วนที่ผ่านการย่อยจากตัวอย่างผลไม้โดยใช้ HPLC ต่อไป

จากการศึกษานี้จะแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดและส่วนที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลองของผลไม้ในการด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระโดยใช้เซลล์ลำไส้มนุษย์เป็นแบบในการศึกษา จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากผลไม้เหล่านั้นมีประสิทธิภาพทั้งในการด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ นอกจากนี้เมื่อนำผลไม้เหล่านั้นมาผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายในภาวะจำลองซึ่งเปรียบเสมือนการรับประทานผลไม้เหล่านั้นเข้าไปนั้น พบว่าประสิทธิภาพเหล่านั้นยังคงอยู่และบางชนิดอาจมีเพิ่มขึ้น สิ่งเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อผู้บริโภครับประทานผลไม้เหล่านั้นเข้าไปแล้วผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแล้วนั้นประสิทธิภาพเหล่านั้นก็ยังคงอยู่ แต่ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นเพียงข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในหลอดทดลองเท่านั้น ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้เป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้นที่จะนำไปสู่การศึกษาต่อไป โดยเฉพาะในส่วนของคุณภาพของผลไม้หลังจากที่ผ่านการย่อยของร่างกาย เพื่อที่จะได้ข้อมูลที่ชัดเจน

สำหรับการบริโภคเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพจากผลไม้เหล่านี้ นอกจากกระบวนการย่อยของร่างกายแล้ว ควรคำนึงถึงการดูดซึมผ่านเซลล์ลำไส้ และการ metabolism ของร่างกายด้วย โดยเฉพาะการดูดซึมผ่านเซลล์ลำไส้และการ metabolism ของร่างกายเมื่อได้รับสารพฤกษเคมีจากผลไม้เหล่านี้เข้าไป ดังนั้นการที่จะได้ถึงข้อมูลในด้านของประโยชน์ต่อสุขภาพของผลไม้ไทยโดยเฉพาะในส่วนของการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระที่ชัดเจนและสมบูรณ์กว่านี้ควรจะทำการศึกษาในส่วนที่เป็น animal และ human model ต่อไป

6. สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์ของสารสกัดจากผลไม้ ได้แก่ มะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม กล้วยไข่ มะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด และมะม่วงอกร่อง และเพื่อใกล้เคียงกับความเป็นจริงการศึกษานี้จึงนำผลไม้ต่าง ๆ นั้นไปผ่านกระบวนการย่อยก่อนซึ่งเปรียบเสมือนกับการที่ได้รับประทานเข้าไปจริง ๆ และจากการศึกษานี้ก็พบว่า ทั้งสารสกัดจากผลไม้และส่วนที่ผ่านจากกระบวนการย่อยภายในร่างกายของผลไม้ก็มีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ และบางชนิดนั้นเมื่อผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแล้วอาจมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบเพิ่มขึ้น

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญของผลไม้ไทยในด้านของประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยอาจช่วยลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของคนไทยในปัจจุบันได้ แต่ข้อมูลที่ได้นี้ก็เป็นเพียงการทดสอบในหลอดทดลองเท่านั้น การที่จะได้ถึงข้อมูลในด้านของประโยชน์ต่อสุขภาพของผลไม้ไทยที่ชัดเจนและสมบูรณ์กว่านี้ควรจะทำการศึกษาในส่วนที่เป็น animal และ human model ต่อไป

บรรณานุกรม

- Aggarwal B., Shishodia S., Sandur K., Pandey K. and Sethi G. (2006). Inflammation and cancer: How hot is the link? *Biochemical Pharmacology* 72(11): 1605-1621.
- Aggarwal B.B. (2004). Nuclear factor-[kappa]B: The enemy within. *Cancer Cell* 6(3): 203-208.
- Aggarwal B.B. and Shishodia S. (2004). Suppression of the Nuclear Factor-{kappa}B Activation Pathway by Spice-Derived Phytochemicals: Reasoning for Seasoning *Ann NY Acad Sci* 1030(1): 434-441.
- Aggarwal B.B. and Shishodia S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical Pharmacology* 71(10): 1397-1421.
- Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 2004, 84:551-562.
- Block G., Patterson B. and Subar A. (1992). Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 18: 1 - 29.
- Choi SY, Hwang JH, Ko HC, Park JG, Kim SJ. Nobiletin from citrus fruit peel inhibits the DNA-binding activity of NF-kappaB and ROS production in LPS-activated RAW 264.7 cells. *J Ethnopharmacol*. 2007, 15;113(1):149-55.
- de Souza LF, Barreto F, da Silva EG, Andrades ME, Guimarães EL, Behr GA, Moreira JC, Bernard EA. Regulation of LPS stimulated ROS production in peritoneal macrophages from alloxan-induced diabetic rats: involvement of high glucose and PPARgamma. *Life Sci*. 2007, 20;81(2):153-9.
- Ferruzzi MG, Lumpkin JL, Schwartz SJ, Failla M. Digestive Stability, Micellarization, and Uptake of β -Carotene Isomers by Caco-2 Human Intestinal Cells. *J Agric Food Chem*. 2006;54:2780-5.
- Garrett DA, Failla ML, Sarama RJ, Craft N. Development of an in vitro digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. *J Agric Food Chem*. 1999;47(10):4301-9.
- González-Gallego J, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ. Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutr Hosp*. 2007, 22(3):287-93.

- Garrido G, Delgado R, Lemus Y, Rodríguez J, García D, Núñez-Sellés AJ. Protection against septic shock and suppression of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production on macrophages and microglia by a standard aqueous extract of *Mangifera indica* L. (VIMANG). Role of mangiferin isolated from the extract. *Pharmacol Res.* 2004, 50(2):165-72.
- Houghton P, Fang R, Techatanawat I, Steventon G, Hylands PJ, Lee CC. The sulphorhodamine (SRB) assay and other approaches to testing plant extracts and derived compounds for activities related to reputed anticancer activity. *Methods.* 2007, 42(4):377-87.
- Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Prior RL. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J Agric Food Chem.* 2002, 50(16):4437-44.
- Katayama S, Mine Y. Antioxidative activity of amino acids on tissue oxidative stress in human intestinal epithelial cell model. *J Agric Food Chem.* 2007, 55(21):8458-64.
- Kwak MK, Wakabayashi N, Kensler TW. Chemoprevention through the Keap1-Nrf2 signaling pathway by phase 2 enzyme inducers. *Mutat Res.* 2004, 555(1-2):133-48.
- Nayak SB, Pinto Pereira L, Maharaj D. Wound healing activity of *Carica papaya* L. in experimentally induced diabetic rats. *Indian J Exp Biol.* 2007, 45(8):739-43.
- Ozyürek M, Bektaşoğlu B, Güçlü K, Apak R. Hydroxyl radical scavenging assay of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method using catalase for hydrogen peroxide degradation. *Anal Chim Acta.* 2008, 616(2):196-206.
- Pettersson J, Karlsson PC, Göransson U, Rafter JJ, Bohlin L. The flavouring phytochemical 2-pentanone reduces prostaglandin production and COX-2 expression in colon cancer cells. *Biol Pharm Bull.* 2008, 56(3):534-7.
- Reddy L., Odhav B. and Bhoola K.D. (2003). Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacology & Therapeutics* 99(1): 1-13.
- Rui Hai Liu. Potential Synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *Nutrition.* 2004, 20(12 Suppl):3479S-3485S.

- Steinmetz K. and Potter J. (1996). Vegetables, Fruit, and Cancer Prevention: A Review. *Journal of the American Dietetic Association* 96(10): 1027-1039.
- Tapsell L., Hemphill I., Cobiac L., Sullivan D., Fenech M., Patch C., Roodenrys S., Keogh J., Clifton P., Williams P., Fazio V. and Inge K. (2006). Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *Med J Aust* 185(4): S1-S24.
- Yokimizo A. and Moriwaki M. Effect of uptake of flavonoids on oxidative stress induced by hydrogen peroxide in human intestinal caco-2 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006, 70(6):1317-1324.

ภาคผนวก ก.

ตารางแสดงความชื้น (% moisture) ของตัวอย่างผลไม้ที่ทำการศึกษา

ตัวอย่างผลไม้	ความชื้น (%)
มะละกอ (แขกดำ)	84.94
มะละกอ (สอัสแลนด์)	85.40
ส้มโอ (ขาวน้ำผึ้ง)	88.27
ส้มโอ (ทองดี)	86.70
กล้วยเล็บมือนาง	69.65
กล้วยน้ำว้า	64.46
กล้วยหอม	73.74
กล้วยไข่	73.47
มะม่วงเขียวเสวย	71.24
มะม่วงน้ำดอกไม้	87.83
มะม่วงแรด	73.46
มะม่วงอกร่อง	86.74

ภาคผนวก ข.

การทดสอบประสิทธิภาพของตัวทำละลายจากที่ได้กล่าวนี้จะเลือกวิธีทดสอบ 2 วิธี คือ DPPH assay และ การลดการเกิดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ ซึ่งได้ผลดังนี้

1. DPPH assay

ตัวอย่าง (0.2 กรัม ตัวอย่างแห้ง สกัดด้วย 90% แอลกอฮอล์)	% Radical scavenging activity (% RSA)			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำกลั่น		90% เอทานอล	
	Mean	SD	Mean	SD
มะละกอ (แขกดำ)	61.67	1.61	52.14	2.34
มะละกอ (ฮอว์แลนด์)	55.24	4.08	41.23	1.56
ส้มโอ (ขาวน้ำผึ้ง)	57.89	0.94	49.02	3.57
ส้มโอ (ทองดี)	63.51	1.31	50.47	3.96
กล้วยเล็บมือนาง	35.16	3.39	25.64	0.99
กล้วยน้ำว้า	37.79	2.59	29.07	1.55
กล้วยหอม	39.76	1.77	30.78	1.84
กล้วยไข่	44.37	1.07	35.44	1.23

Positive	% RSA	
	Mean	SD
Trolox 0.8 mM	95.67	2.65

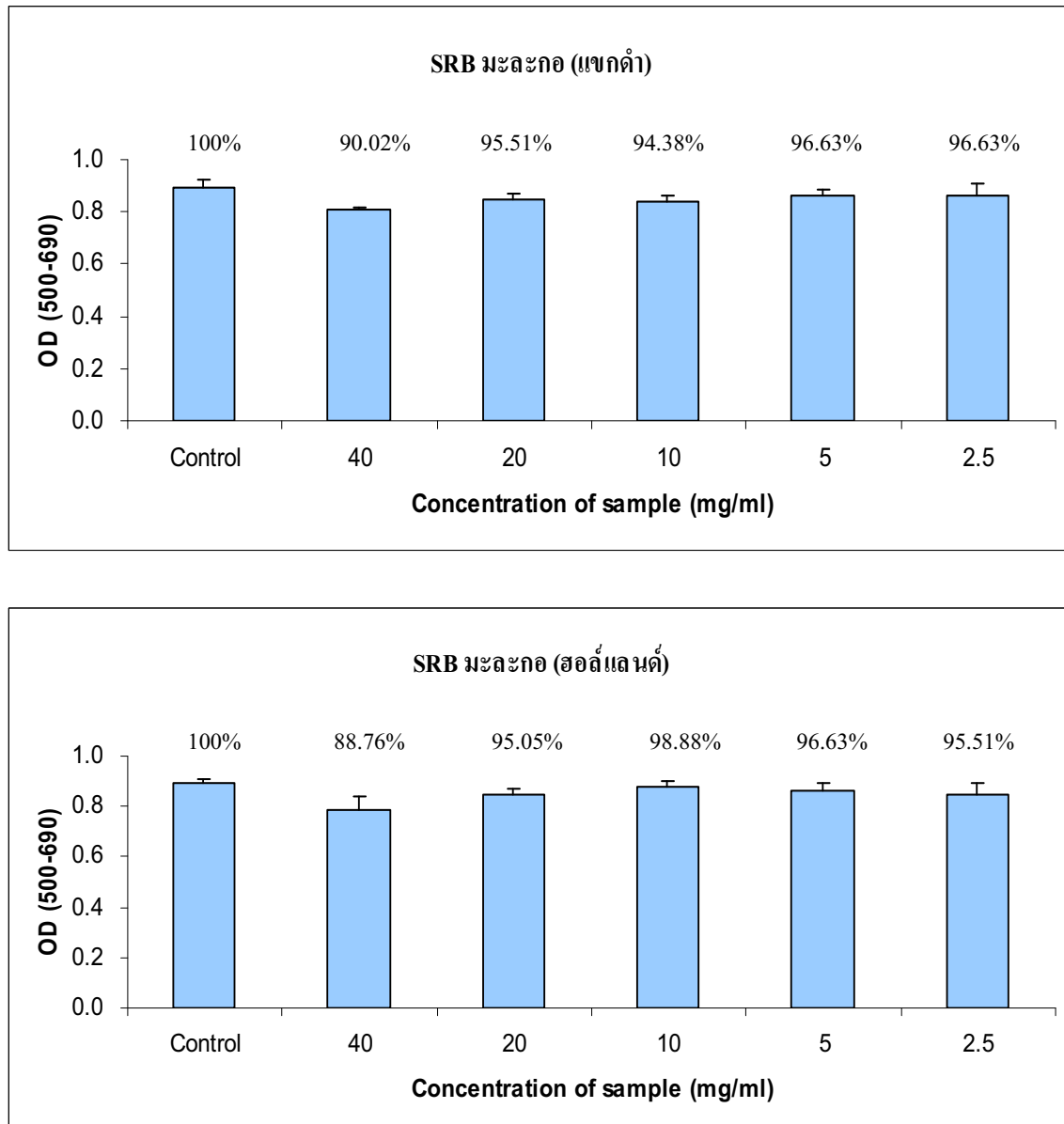
2. การลดการเกิดอนุมูลอิสระ (ROS) ภายในเซลล์

ตัวอย่าง (0.2 กรัม ตัวอย่างแห้ง สกัดด้วย 90% แอลกอฮอล์)	% ROS inhibition			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำกลั่น		90% เอทานอล	
	Mean	SD	Mean	SD
มะละกอ (แขกดำ)	51.53	1.89	42.58	3.11
มะละกอ (ฮอส์แลนด์)	45.66	2.24	36.71	2.47
ส้มโอ (ขาวน้ำผึ้ง)	46.28	1.54	38.39	1.87
ส้มโอ (ทองดี)	53.56	3.63	43.52	0.96
กล้วยเล็บมือนาง	43.31	2.31	34.55	1.32
กล้วยน้ำว้า	42.16	2.09	31.89	1.14
กล้วยหอม	42.45	1.66	33.46	1.88
กล้วยไข่	44.53	3.04	36.91	2.94

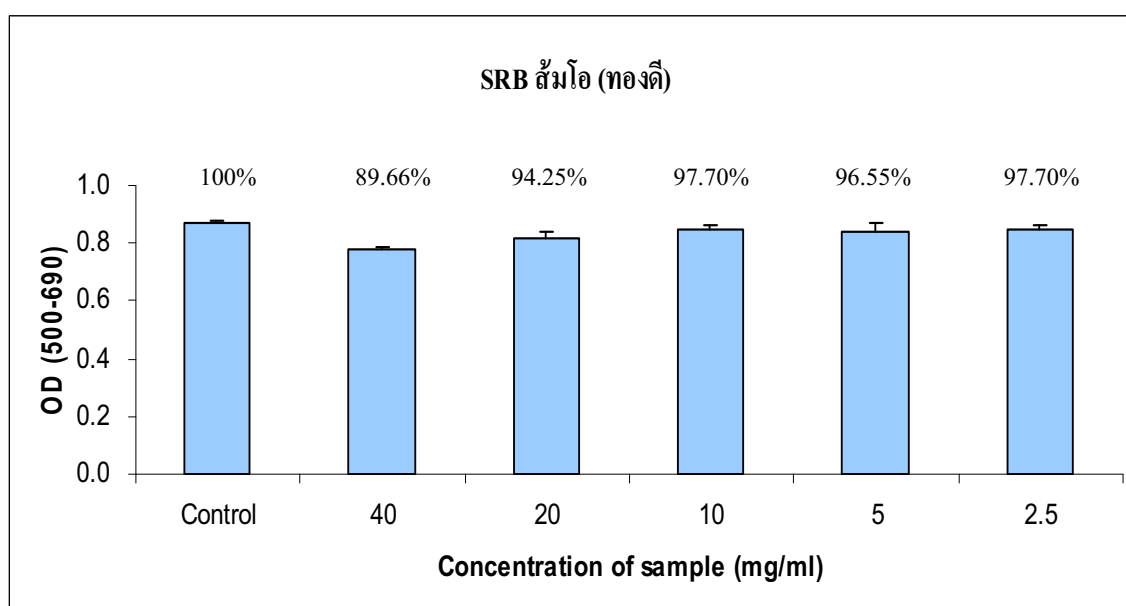
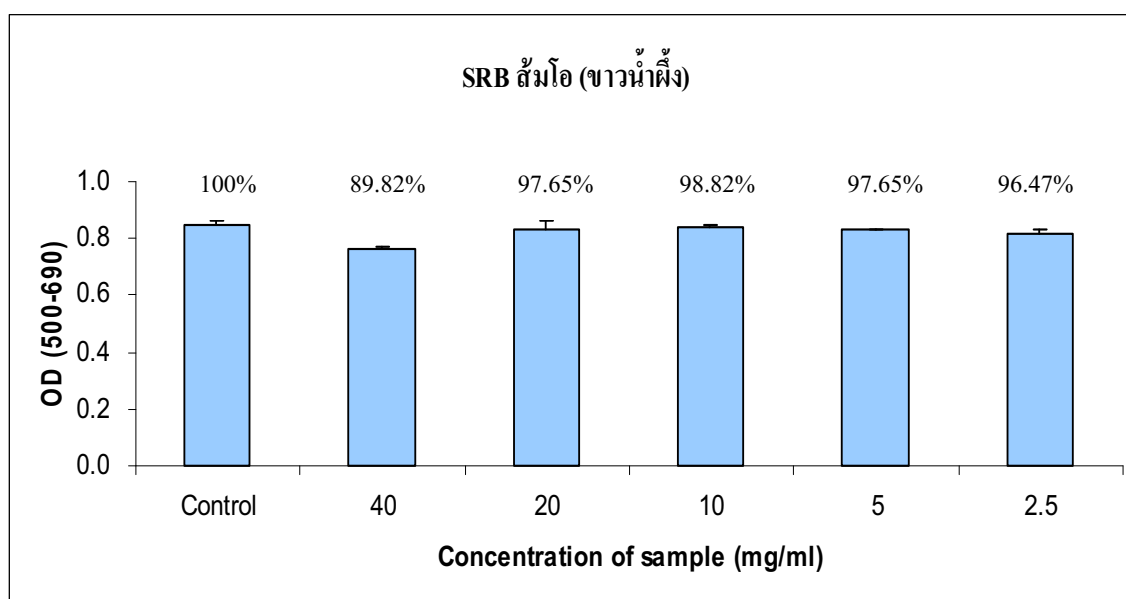
ผลการเปรียบเทียบตัวทำละลายสารจากตัวอย่างผลไม้แห้งที่สกัดด้วย 90% แอลกอฮอล์ จะทำโดยการทดสอบจากประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ (DPPH assay) และการลดการเกิดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ (n=3) พบว่า ตัวอย่างผลไม้แห้งที่ถูกสกัดด้วย 90% แอลกอฮอล์และถูกละลายด้วย 90% แอลกอฮอล์และน้ำกลั่นนั้น สามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ แต่เมื่อเปรียบเทียบทั้งสองตัวทำละลายด้วยกันแล้ว พบว่า การใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายจะให้ประสิทธิภาพในการลดการเกิดอนุมูลอิสระได้ดีกว่า 90% แอลกอฮอล์ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเลือกน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการทดสอบ

ภาคผนวก ก.

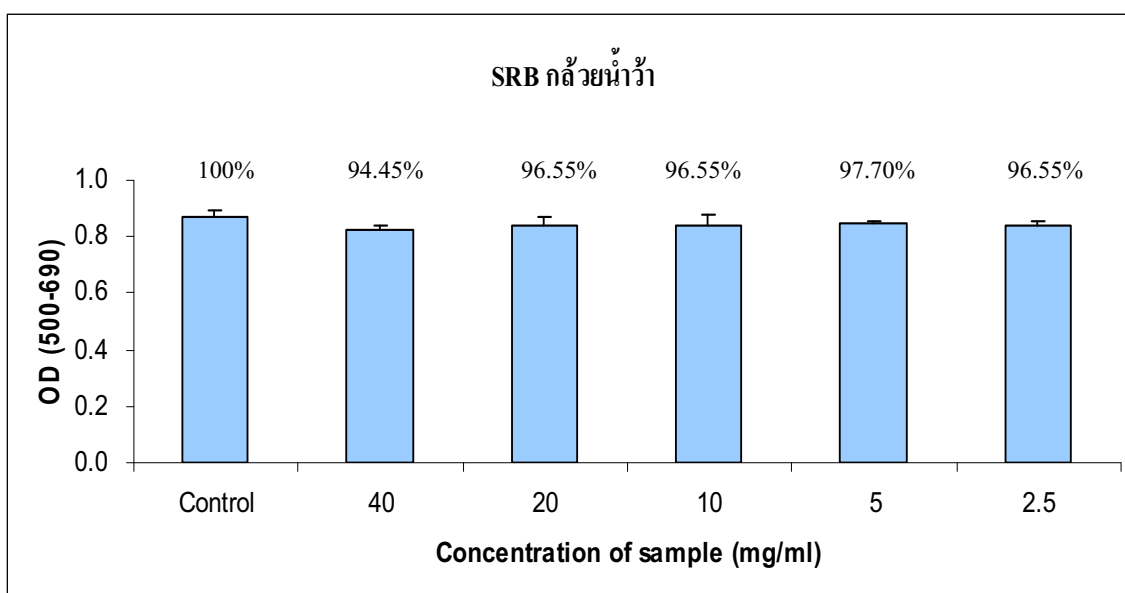
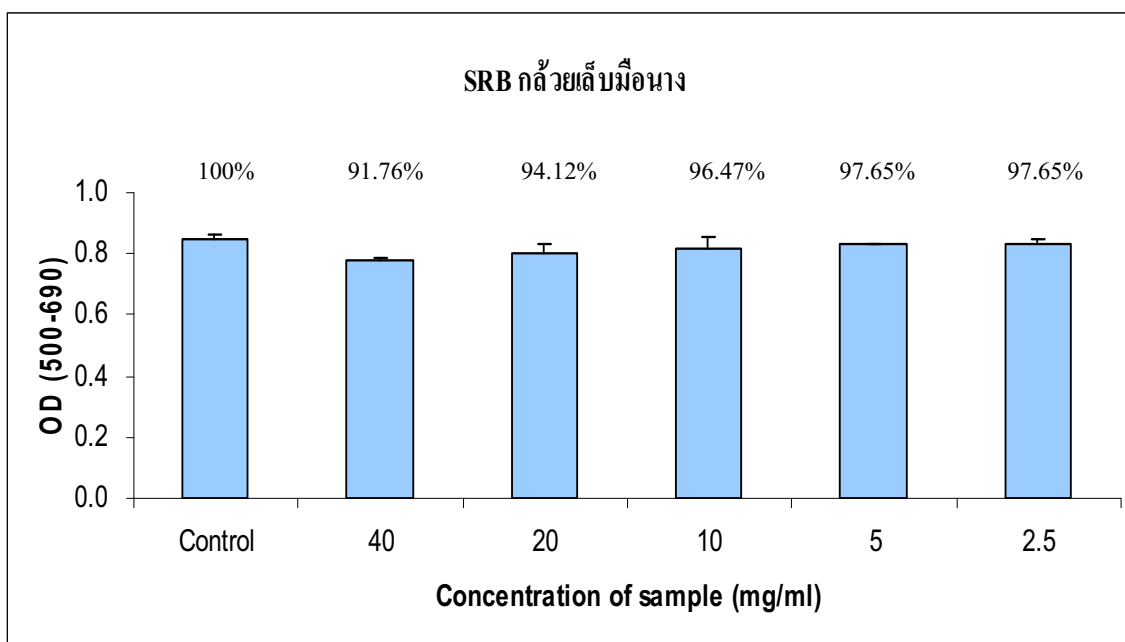
ผลแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ในแต่ละความเข้มข้น



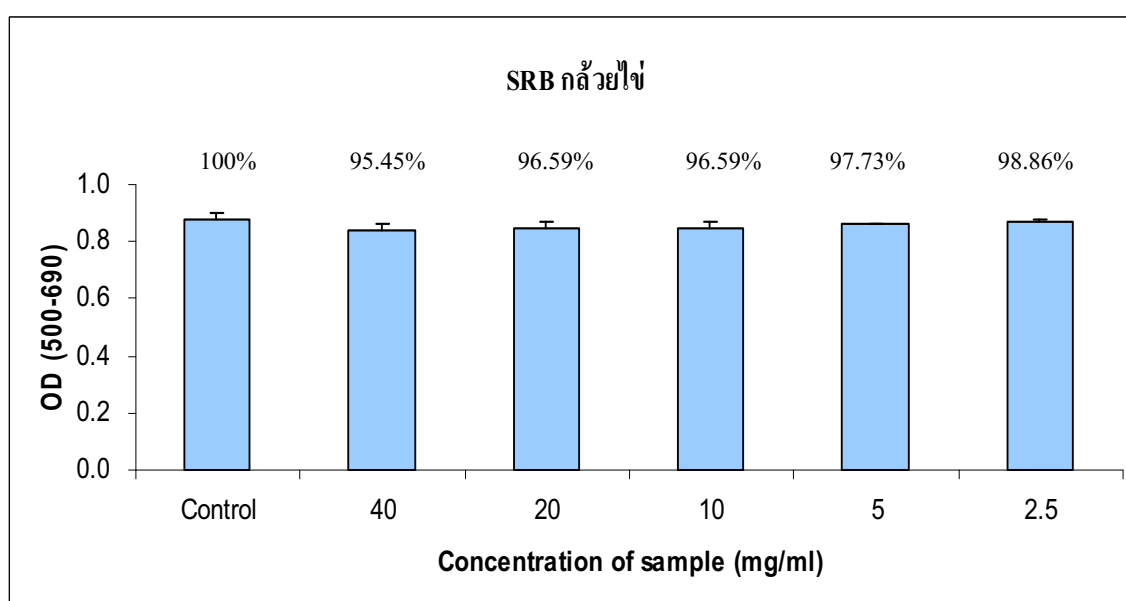
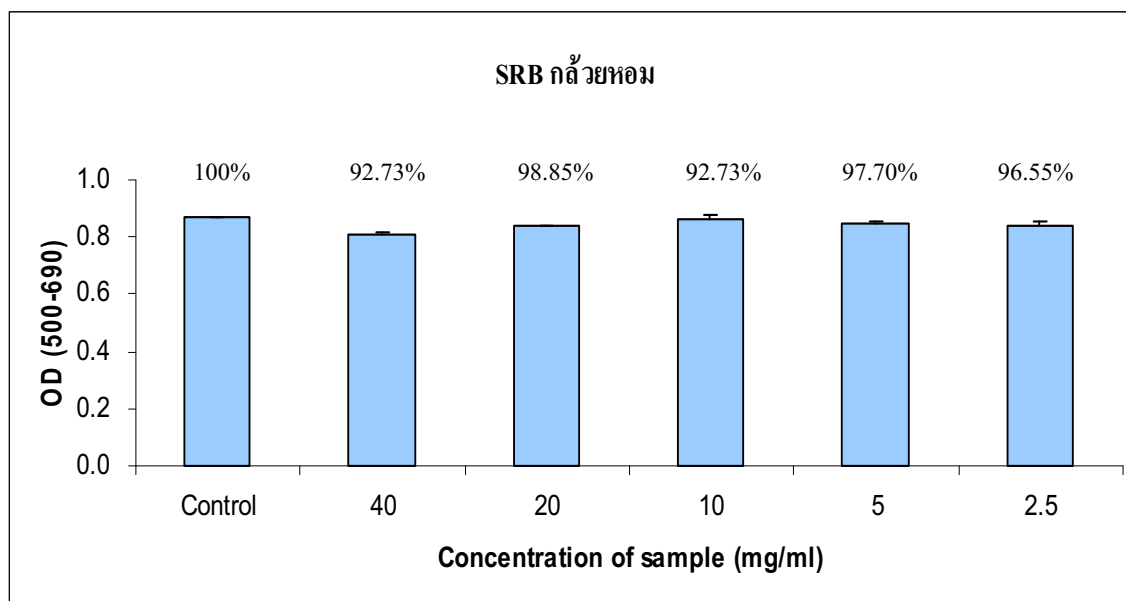
รูปที่ 40 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะละกอ (แขกดำ) และ มะละกอ (ฮอลแลนด์) โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิธีการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



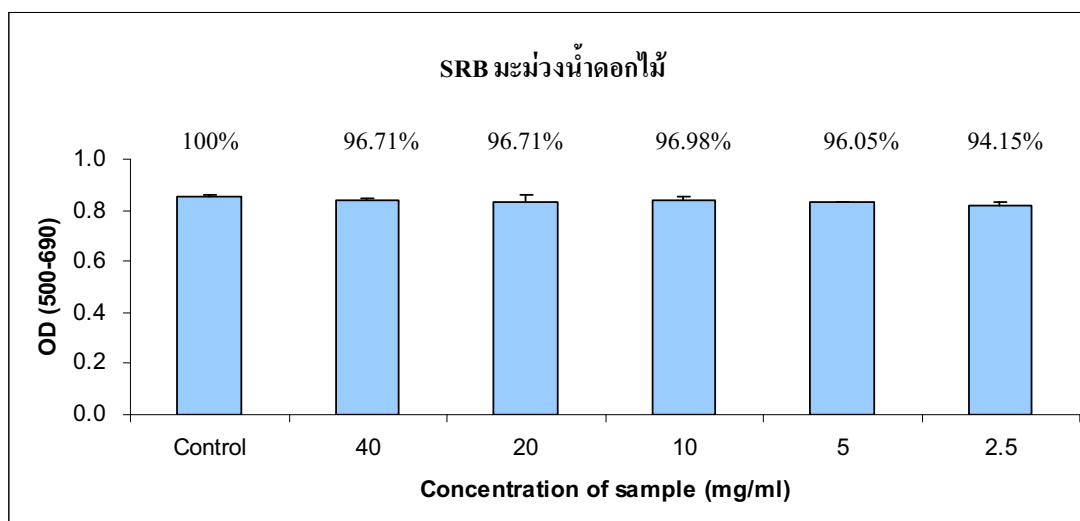
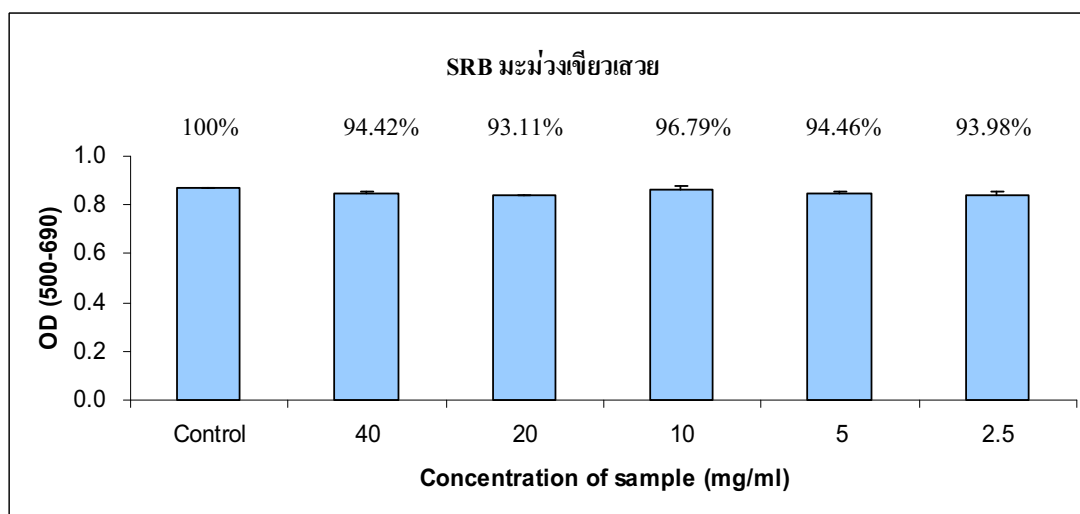
รูปที่ 41 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากส้มโอ (ขาวน้ำผึ้ง) และ ส้มโอ (ทองดี) โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



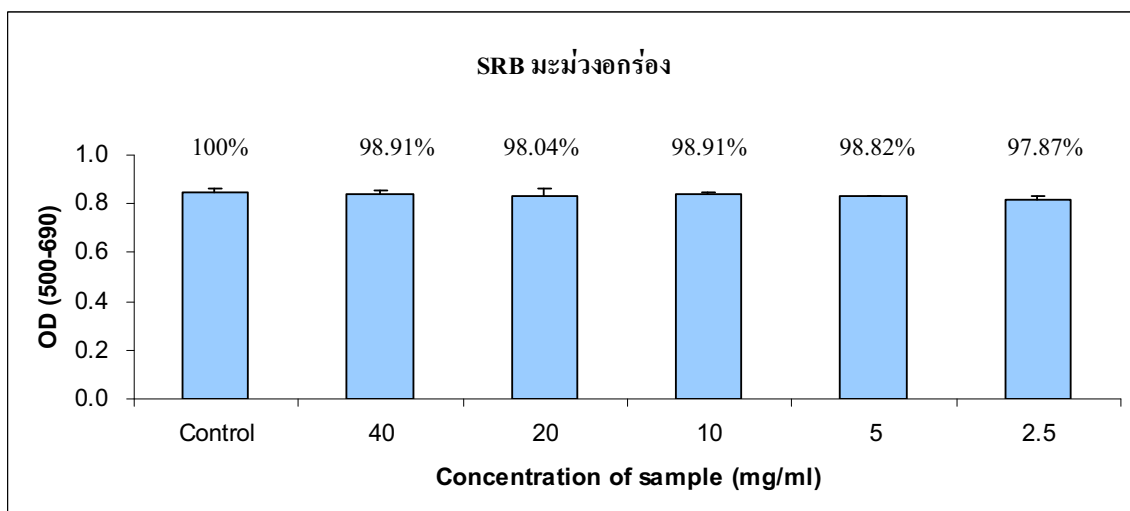
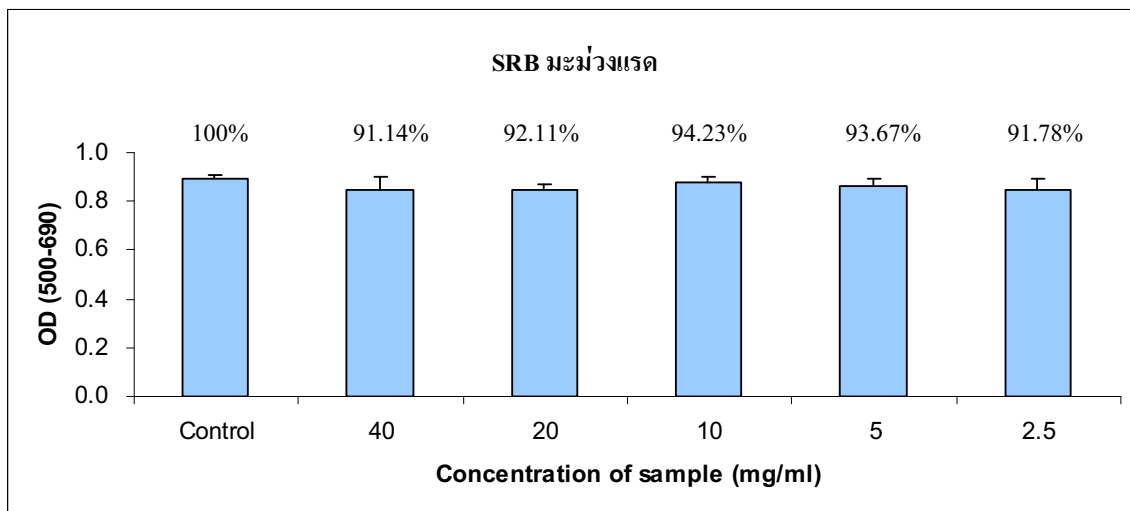
รูปที่ 42 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากกล้วยเล็บมือนาง และ กล้วยน้ำว้า โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



รูปที่ 43 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากกล้วยหอม และ กล้วยไข่โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



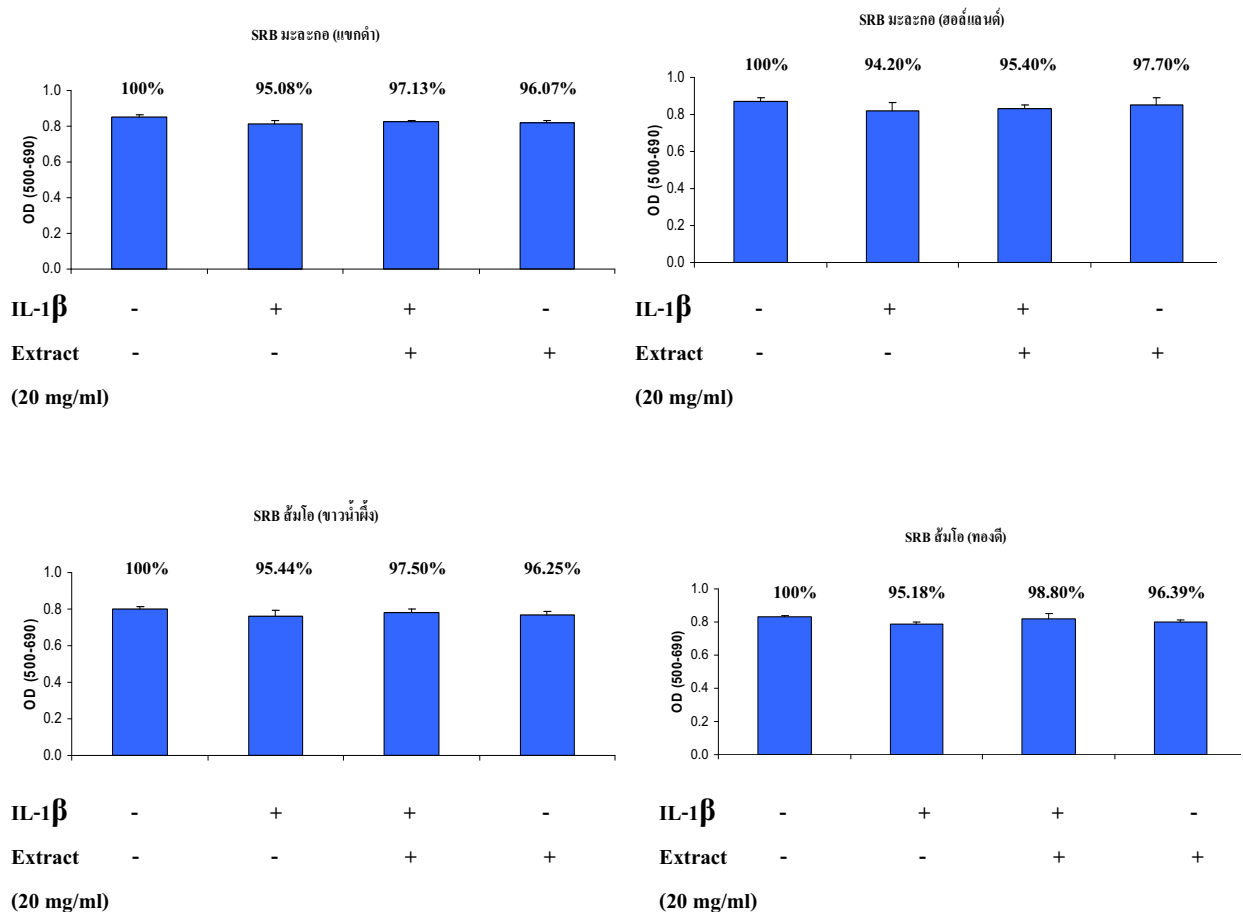
รูปที่ 44 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะม่วงเขียวเสวยและมะม่วงน้ำดอกไม้โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของวิธีการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



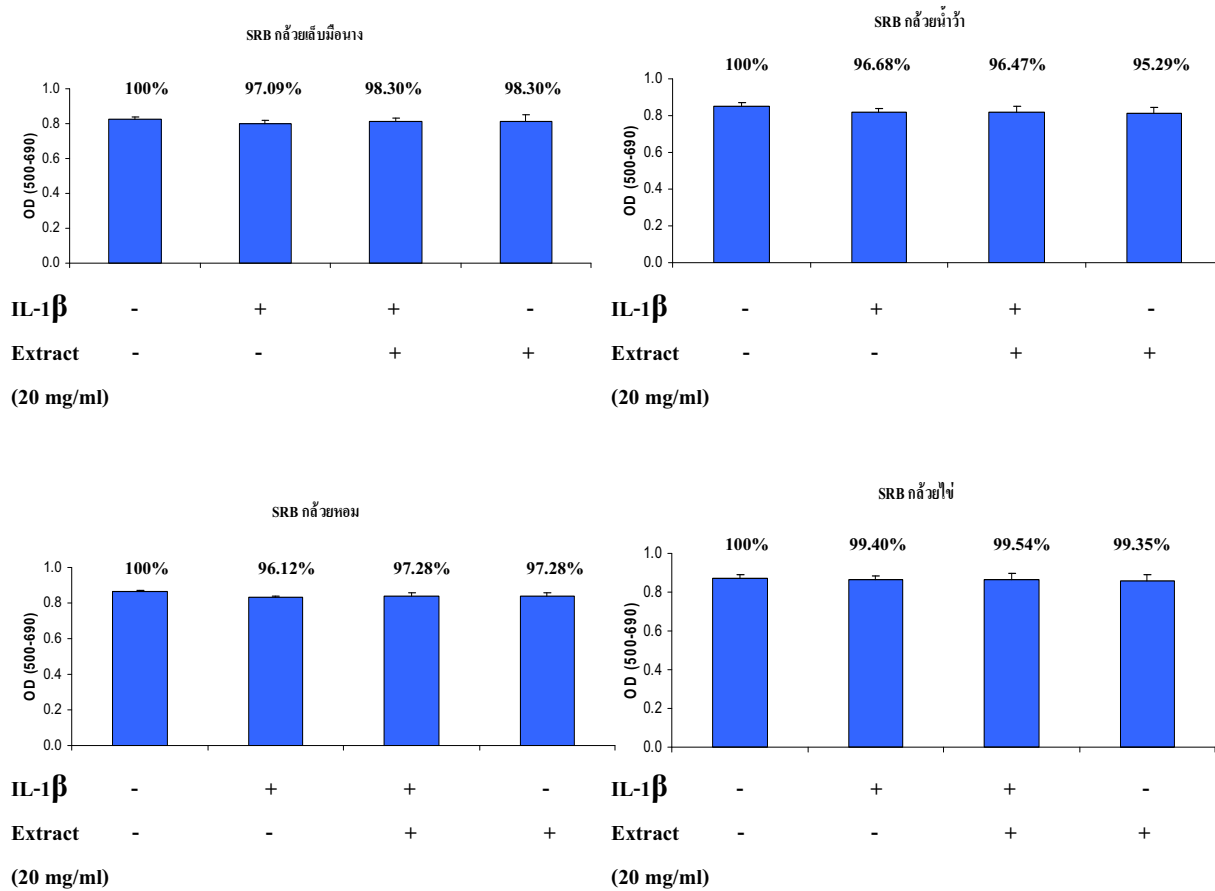
รูปที่ 45 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะม่วงแรดและมะม่วงกรร้งโดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)

ภาคผนวก ง.

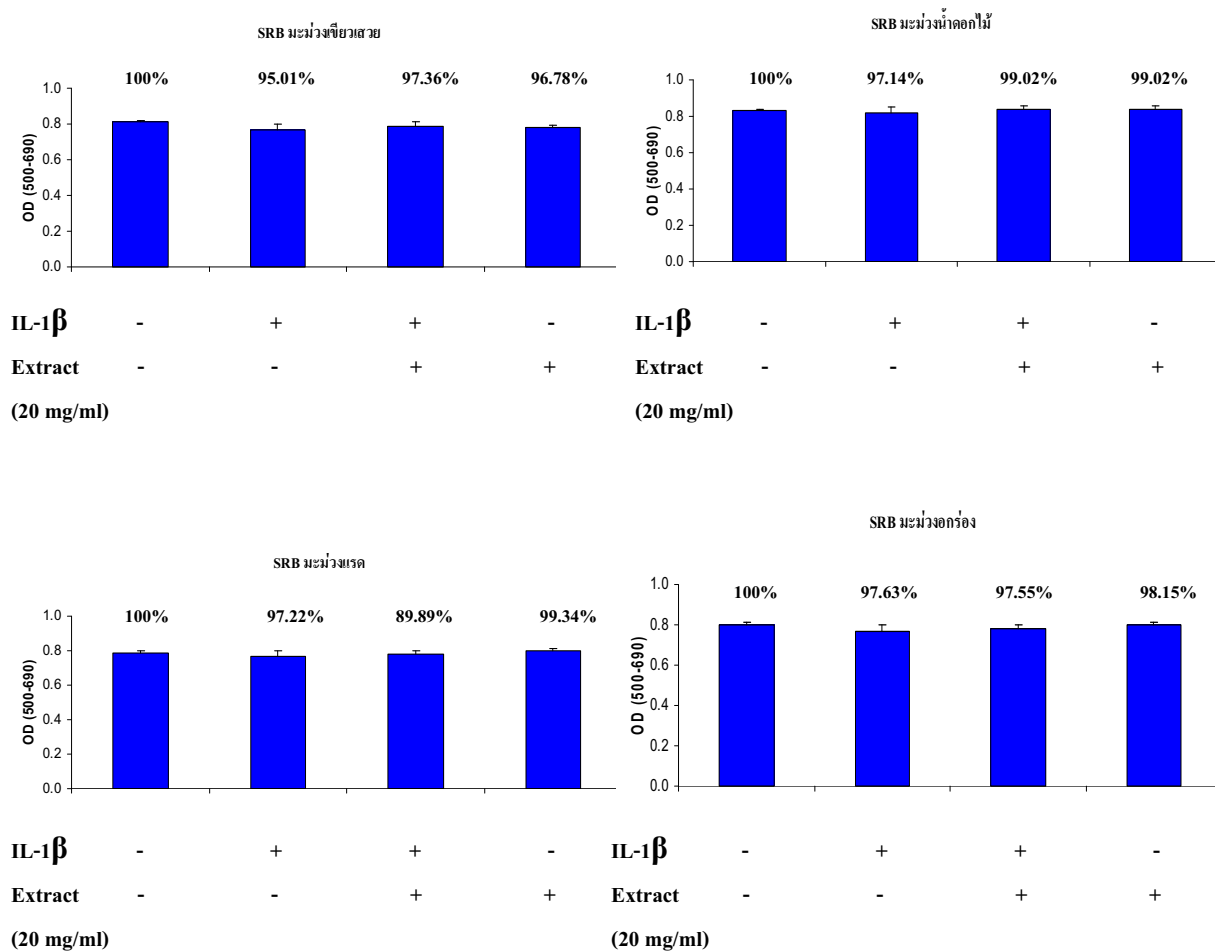
ผลแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ที่ทำการทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบในเซลล์



รูปที่ 46 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้งและส้มโอทองดี โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนและหลังกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml แล้วทำการเลี้ยงต่ออีก 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



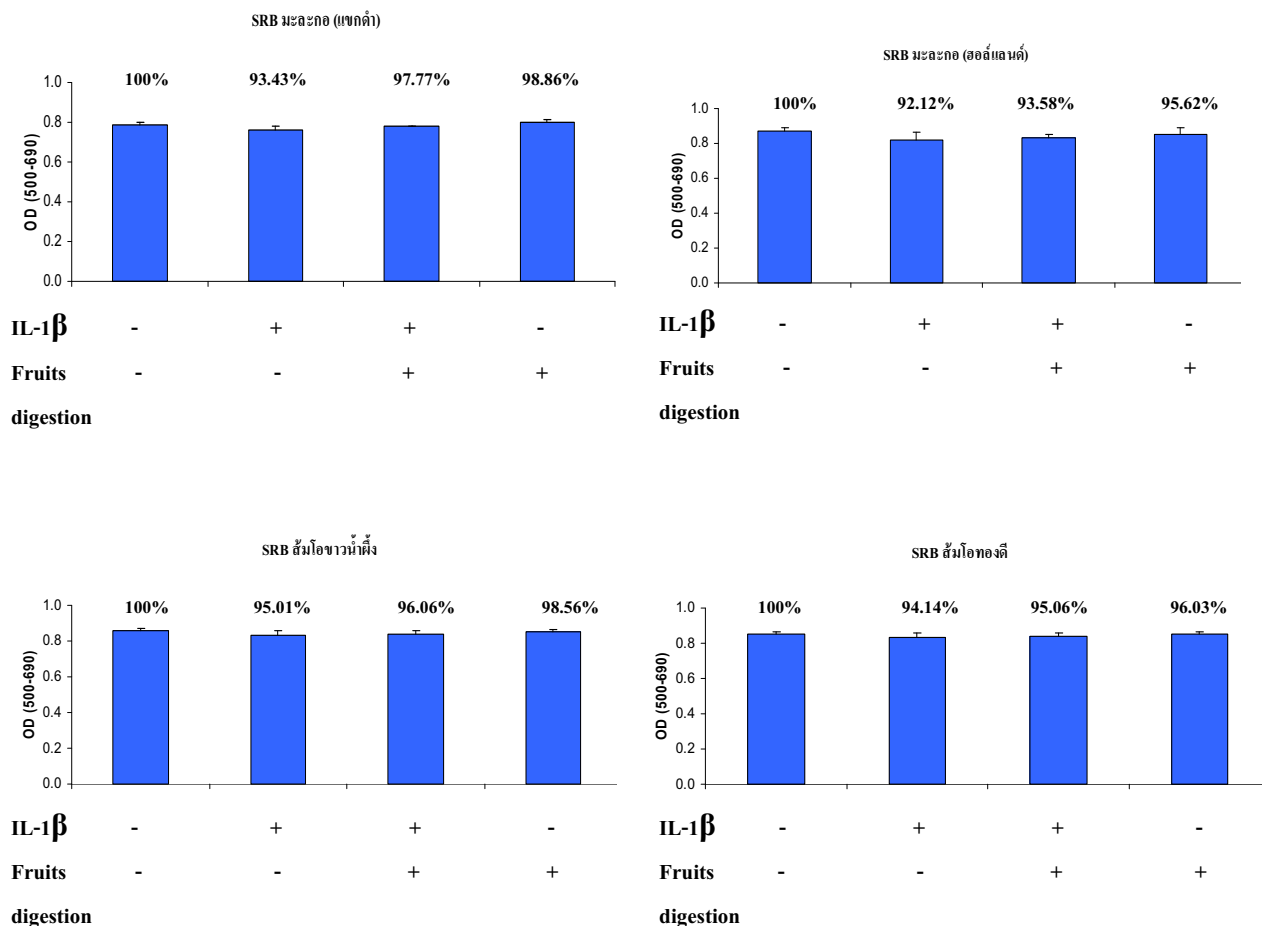
รูปที่ 47 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากกล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และกล้วยไข่ โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนและหลัง กระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml แล้วทำการเลี้ยงต่ออีก 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของ สารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของ วิธีการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมี ชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



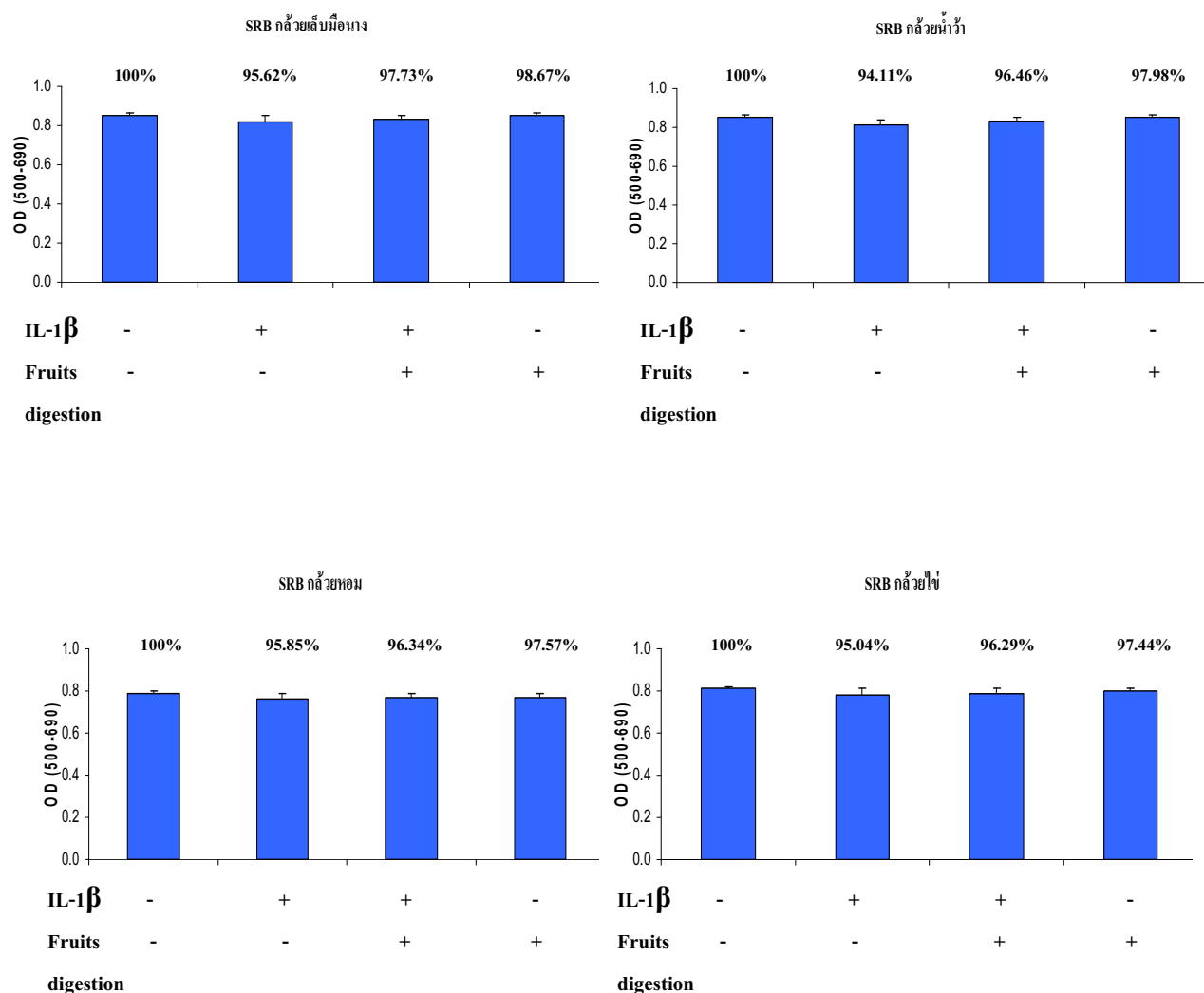
รูปที่ 48 แสดงผลความเป็นพิษของสารสกัดจากมะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด และมะม่วงอกร่อง โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีสารสกัดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนและหลังกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml แล้วทำการเลี้ยงต่ออีก 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของสารสกัดโดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)

ภาคผนวก จ.

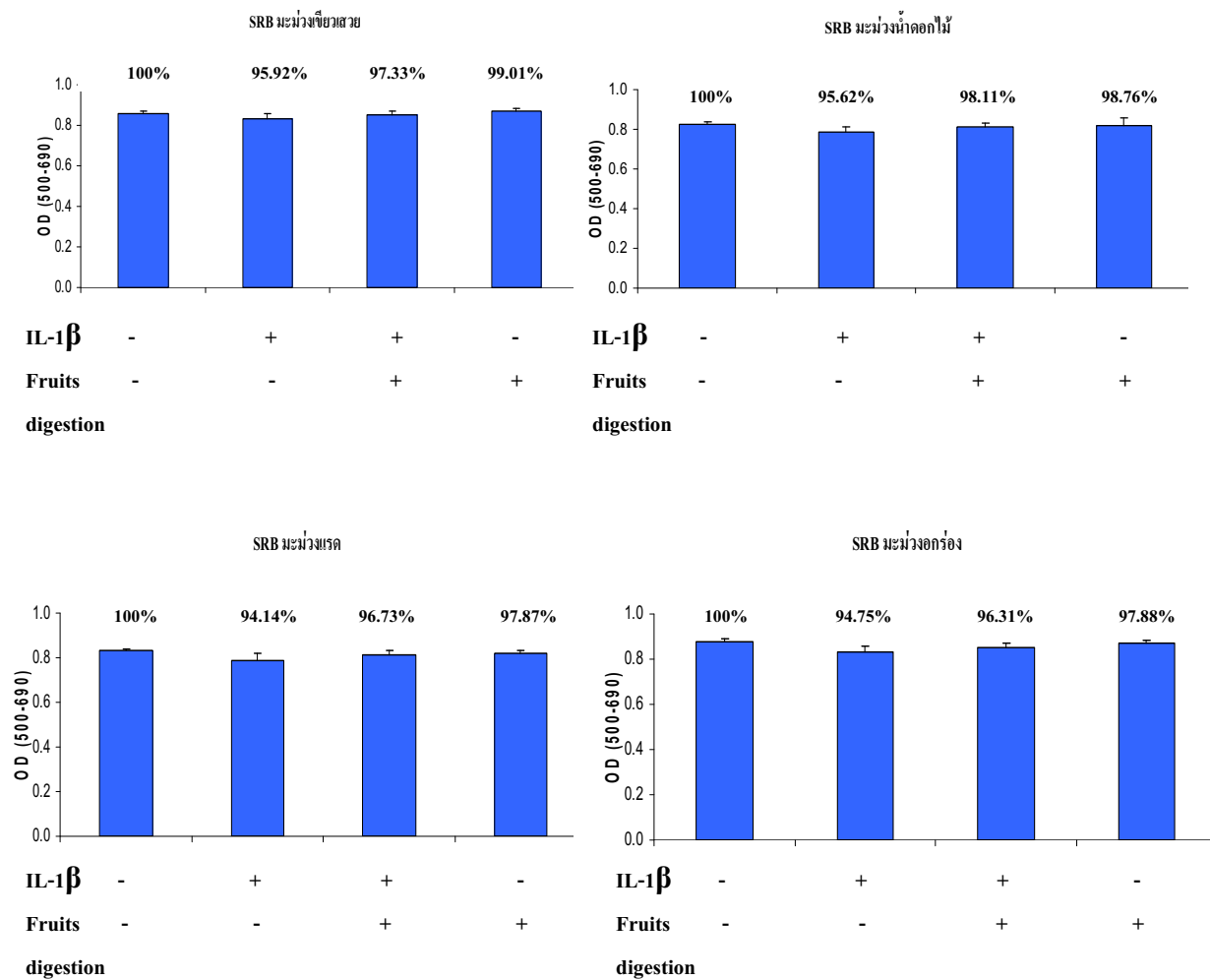
ผลแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ส่วนที่ผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายที่ทำการทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบในเซลล์



รูปที่ 49 แสดงผลความเป็นพิษของมะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้งและส้มโทองดี หลังจากผ่านการย่อยของร่างกาย โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนของผลไม้หลังจากที่ผ่านการย่อยเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนและหลังกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml แล้วทำการเลี้ยงต่ออีก 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของผลไม้หลังจากผ่านการย่อยของร่างกาย โดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิธีการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



รูปที่ 50 แสดงผลความเป็นพิษของก้วยเลียบมีอนาง ก้วยน้ำว้า ก้วยหอมและก้วยไข่ หลังจากผ่านการย่อยของร่างกาย โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนของผลไม้ หลังจากผ่านการย่อยเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนและหลังกระตุ้นด้วย IL-1 β 10 ng/ml แล้วทำการเลี้ยงต่ออีก 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของผลไม้หลังจากผ่านการย่อยของร่างกาย โดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)



รูปที่ 51 แสดงผลความเป็นพิษของมะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด และมะม่วงอกร่อง หลังจากผ่านการย่อยของร่างกาย โดยทำการเลี้ยง Caco-2 เซลล์ที่มีหรือไม่มีส่วนของผลไม้หลังจากที่ผ่านการย่อยเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ก่อนและหลังกระตุ้นด้วย IL-1β 10 ng/ml แล้วทำการเลี้ยงต่ออีก 24 ชั่วโมง วัดความเป็นพิษของผลไม้หลังจากการย่อยของร่างกาย โดยการย้อมโปรตีนของเซลล์ด้วยสี sulforhodamine B ดังที่กล่าวในส่วนของการวิธีการวิจัย ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SD (n=3) และค่าตัวเลข แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์ (% Cell viability) โดยเทียบกับกลุ่ม control (กลุ่ม control เป็น 100%)

เอกสารสำหรับการเผยแพร่

ปัจจุบันโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (non-communicable chronic diseases) ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคอ้วน เบาหวาน ความดันโลหิตสูง เป็นปัญหาที่สำคัญทั้งในระดับชาติ และ นานาชาติรวมทั้งประเทศไทยด้วย อัตราความชุกของโรคเหล่านี้นับวันยิ่งสูงขึ้นเป็นลำดับทั่วโลก ปัจจัยของการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังเหล่านี้มีอยู่ด้วยกันหลายสาเหตุ เช่น ปัจจัยทางด้านพันธุกรรมของมนุษย์เอง ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมภายนอก และ ภายในร่างกาย โดยเฉพาะกระบวนการอักเสบชนิดเรื้อรัง (chronic inflammation) เป็นปัจจัยภายในร่างกายที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุหนึ่งนำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพ และเป็นปัจจัยส่งเสริมความรุนแรงของโรคไม่ติดต่อเรื้อรังหลายชนิด จากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการศึกษามากมายที่บ่งชี้ว่าการบริโภคอาหารจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศในปริมาณที่เหมาะสมสามารถป้องกันการเกิดการอักเสบได้ซึ่งเป็นการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่มีพยาธิสภาพจากการอักเสบได้

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีภูมิอากาศแบบร้อนชื้น ทำให้มีความหลากหลายทางชีวภาพ อีกทั้งสภาพภูมิอากาศดังกล่าวมีความเหมาะสมกับการเพาะปลูกพืชพันธุ์ธัญญาหารด้วยเหตุนี้เองทำให้ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตอาหารที่สำคัญของโลก ไม่ว่าจะเป็น ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง โดยเฉพาะผลไม้มีนานาชนิด เรามีผลไม้หลายชนิดมาก มีทั้งชนิดที่ออกผลทั้งปี และออกตามฤดูกาล ผลไม้ไทยมีรสชาติดี หลายชนิดเป็นที่นิยมของต่างชาติ เป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้เป็นกอบเป็นกำ นอกจากรสชาติที่ดีแล้วผลไม้เหล่านั้นยังอุดมสมบูรณ์ไปด้วยสารอาหารมากมาย เช่น วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น นอกจากสารอาหารแล้วผลไม้ต่างๆ โดยเฉพาะผลไม้ที่มีสีสั่นยังเป็นแหล่งสำคัญของสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ซึ่งพบในพืชผักต่างๆ และได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางพบว่า สารพฤกษเคมีเหล่านี้มีบทบาทในการส่งเสริมสุขภาพและช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆ โดยลดการเกิดการอักเสบ และด้านการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นการช่วยลดปัจจัยเสี่ยงที่อาจชักนำไปสู่การเกิดความผิดปกติต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายได้ เป็นต้น

ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับส่งเสริมให้ผู้บริโภคตระหนักถึงคุณค่าของผลไม้ไทยและเพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ผลิตในการเผยแพร่ประชาสัมพันธ์ในแง่ของผลไม้ไทยที่ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบเพื่อช่วยลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง จึงก่อให้เกิดความสนใจในการศึกษาถึงคุณค่าเชิงสุขภาพของผลไม้ไทย ได้แก่ มะละกอแขกดำ มะละกอฮอลแลนด์ ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้มโอทองดี กล้วยเล็บมือนาง กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม กล้วยไข่ มะม่วงเขียวเสวย มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงแรด และมะม่วงอกร่อง ผลการวิจัยในโครงการ พบว่า สารสกัดของผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระ และด้านการเกิดภาวะการอักเสบในเซลล์ลำไส้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบ โดยเฉพาะส้มโอทองดีนั้น จะมีประสิทธิภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระและด้านการเกิดภาวะการอักเสบได้มากที่สุด

จากผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถบอกได้ถึงประโยชน์ของสารสกัดจากผลไม้เหล่านี้ที่น่าจะช่วยส่งเสริมคุณค่าทางด้านสุขภาพ โดยเฉพาะช่วยลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ และเพื่อให้ได้คำตอบที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริง จึงมีการนำผลไม้ทั้ง 12 ชนิดนั้นมาผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายซึ่งเปรียบเสมือนกับการที่ผู้บริโภคได้รับประทานผลไม้เหล่านี้เข้าไป ผลที่ได้พบว่าผลไม้เหล่านี้ก็ยังมีประสิทธิภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระและภาวะการอักเสบอยู่ และผลไม้ที่ผ่านกระบวนการจำลองการย่อยบางชนิดก็มีประสิทธิภาพดีกว่าตอนที่เป็นสารสกัดด้วย

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญของผลไม้ไทยในด้านของประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยอาจช่วยลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของคนไทยในปัจจุบันได้ ถึงแม้ว่าข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นการทดสอบในหลอดทดลองแต่ข้อมูลเหล่านี้ก็จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญในการที่จะนำไปทำการศึกษาต่อในเชิงลึกขึ้น โดยอาจทำการศึกษาต่อไปในแง่ของกลไกที่ผลไม้เหล่านั้นมีส่วนช่วยในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระและภาวะการอักเสบ เป็นต้น นอกจากนี้การที่จะได้ถึงข้อมูลในด้านของประโยชน์ต่อสุขภาพของผลไม้ไทยที่ชัดเจนและสมบูรณ์กว่านี้ควรจะทำการศึกษาในส่วนที่เป็น animal และ human model ต่อไป

ตารางเปรียบเทียบกิจกรรมตามแผน
6 เดือนแรก

วัตถุประสงค์ของโครงการ	กิจกรรม (ตามแผน)	กิจกรรมที่ดำเนินงานตามจริง	ผลที่ได้รับ	หมายเหตุ
1. เพื่อศึกษาศักยภาพในการด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะละกอ มะม่วง และกล้วย	1. ทำการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบ 2. ทำการตรวจทดสอบ condition ในการเลี้ยงเซลล์สำหรับการทดสอบศักยภาพในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ 3. ทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ	1. ทำการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบ 2. ทำการตรวจทดสอบ condition ในการเลี้ยงเซลล์สำหรับการทดสอบ 3. ทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากตัวอย่างผลไม้ในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ	1. ได้ตัวอย่างสำหรับการทดสอบ แต่ยังคงมีส่วนของตัวอย่างมะม่วง 2. ได้ condition สำหรับการเลี้ยงเซลล์ที่ใช้สำหรับทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากผลไม้ในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ 3. ทราบถึงศักยภาพของสารสกัดจากผลไม้ในการลดการเกิดอนุมูลอิสระทั้งส่วนที่เป็น chemical assay และส่วนที่ใช้เซลล์ลำไส้ทดสอบ	ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการทดสอบในปี 6 เดือนแรกนี้ จะยังไม่ได้ตัวอย่างมะม่วง เนื่องจากระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบนี้ไม่ใช่วางของมะม่วงที่จะนำมาขายในตลาด

6 เดือนที่สอง

วัตถุประสงค์ของโครงการ	กิจกรรม (ตามแผน)	กิจกรรมที่ดำเนินงานตามจริง	ผลที่ได้รับ	หมายเหตุ
1. เพื่อศึกษาศักยภาพในการด้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระจากมะละกอมะม่วง ส้มโอ และกล้วยหลังจากที่ผ่านกระบวนการย่อยภายในร่างกายในภาวะจำลอง	1. ทดสอบศักยภาพจากตัวอย่างผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแบบจำลองในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ	1. ทำการเตรียมตัวอย่างมะม่วง 4 สายพันธุ์ที่เหลือ 2. ทำการทดสอบสารสกัดจากมะม่วง 4 สายพันธุ์ที่ได้ทำการเตรียมไว้ 3. ทดสอบศักยภาพจากตัวอย่างผลไม้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยของร่างกายแบบจำลองในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ	1. ได้ตัวอย่างมะม่วง 4 สายพันธุ์สำหรับการทดสอบ 2. ได้ข้อมูลของสารสกัดจากมะม่วงในการต้านการอักเสบและลดการเกิดอนุมูลอิสระ 3. ทราบถึงศักยภาพของสารสกัดจากผลไม้นี้หลังจากผ่านกระบวนการย่อยภายในร่างกายในภาวะจำลอง	โครงการนี้ได้รับการขอขยายเวลาเพิ่มขึ้นจากเดิมจากเดิมเป็นระยะเวลา 3 เดือน เป็นเวลาทั้งหมด 15 เดือนเนื่องจากมีปัญหาเกี่ยวกับการเตรียมตัวอย่างผลไม้นี้ในส่วนองตัวอย่างมะม่วง โดยช่วงที่เริ่มทำการวิจัยนั้นยังไม่เข้าสู่ฤดูกาลของมะม่วง ซึ่งฤดูกาลของมะม่วงนั้นจะอยู่ในช่วงม.ค. ถึง เม.ย. ทำให้มีการเตรียมตัวอย่างที่ล่าช้า จึงทำให้โครงการนี้ต้องขอเลื่อนระยะเวลาสำหรับการวิจัย