



## รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลบำรุงระบบประสาทของมะม่วง มะละกอ และ  
น้ำมะพร้าวอ่อนต่อความจำและสมรรถภาพทางกายในหนูแก่

โดย ผศ.ดร. นิวัตติ เทพวราพฤกษ์ และคณะ

“งานวิจัยยังไม่เสร็จสมบูรณ์ โปรดอย่านำไปอ้างอิง”

สัญญาเลขที่ RDG5420048

## รายงานฉบับสมบูรณ์

### โครงการ ผลบำรุงระบบประสาทของมะม่วง มะละกอ และ น้ำมะพร้าวอ่อนต่อความจำและสมรรถภาพทางกายในหนูแก่

คณะผู้วิจัย

สังกัด

- |                              |                                          |
|------------------------------|------------------------------------------|
| 1. ผศ.ดร. นิวัติ เทพาราวฤกษ์ | คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร |
| 2. ดร. พรนรินทร์ เทพาราวฤกษ์ | คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร |
| 3. น.ส. รัตติยา สมบัติทวีกุล | คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา  |
| 4. นางสุภาพรรณ เอกอุฬารพันธ์ | คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร |

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)  
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

## สารบัญ

|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| แบบสรุปโครงการวิจัย .....        | 1   |
| บทคัดย่อ .....                   | 4   |
| Abstract.....                    | 6   |
| บทที่ 1 บทนำ .....               | 8   |
| บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม .....      | 10  |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย ..... | 22  |
| บทที่ 4 ผลการวิจัย.....          | 40  |
| บทที่ 5 อภิปรายผล/บทสรุป .....   | 66  |
| บรรณานุกรม.....                  | 73  |
| ภาคผนวก ก.....                   | 85  |
| ภาคผนวก ข.....                   | 86  |
| ภาคผนวก ค.....                   | 100 |

## แบบสรุปโครงการวิจัย

สัญญาเลขที่ RDG5420048 ชื่อโครงการ “ผลบำรุงระบบประสาทของมะม่วง มะละกอ และน้ำมะพร้าวอ่อนต่อความจำและสมรรถภาพทางกายในหนูแก่”

หัวหน้าโครงการ ผศ.ดร. นิวัติ เทพาราวฤกษ์ หน่วยงาน ภาควิชาสรีรวิทยา

คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.นเรศวร อ. เมือง จ. พิษณุโลก

โทรศัพท์ (มือถือ) 081-5342511 โทรสาร 055-964770 อีเมล [taepavan@hotmail.com](mailto:taepavan@hotmail.com)

### ความสำคัญ / ความเป็นมา

มะม่วงสุก มะละกอสุก และน้ำมะพร้าวอ่อน จัดเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและสมอง เนื่องจากมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซี และสารโพลีฟีนอล ในปริมาณค่อนข้างสูง ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ลดการเกิดภาวะ oxidative stress ต่อเซลล์ในร่างกาย รวมทั้งเซลล์สมอง ที่ผ่านมามีรายงานวิจัยทั้งของ Joseph และคณะ และ Williams และคณะ ที่พบว่าหนูแก่ที่ได้รับน้ำอบเชยในขนาด 18.6 มก./กก. น้ำหนักตัว หรือ สเตอร์เบอรี่ในขนาด 14.8 มก./กก. น้ำหนักตัว ในรูปของ freeze-dried aqueous extract จะมีประสิทธิภาพในการเรียนรู้และความจำเกี่ยวกับสถานที่ (spatial memory) ที่ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมที่ได้รับเฉพาะน้ำที่เป็นตัวทำละลาย อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานวิจัยใดที่ระบุว่าผลไม้ไทยทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว มีส่วนช่วยบำรุงร่างกายและสมอง และยังไม่มียังข้อมูลเกี่ยวกับผลไม้นี้ที่ช่วยในการฟื้นฟูความจำโดยเฉพาะในผู้สูงอายุ

เป็นที่ทราบกันดีว่ามะม่วง มะละกอ และมะพร้าว เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารและมีประโยชน์ต่อร่างกาย และที่สำคัญเป็นผลไม้ที่ราคาถูก หาบริโภคได้ตามฤดูกาลหรือตลอดทั้งปี สำหรับโครงการวิจัยนี้เป็นโครงการที่มุ่งศึกษาวิจัยผลของการได้รับน้ำผลไม้ดังกล่าวทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน ต่อการทำงานของระบบประสาทที่ควบคุมการเคลื่อนไหว การเรียนรู้และความจำ และศึกษากลไกที่อาจเกี่ยวข้องคือการเปลี่ยนแปลงระดับของแอนติออกซิแดนซ์ เอนไซม์ และระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโน รวมทั้งจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูแก่ตามธรรมชาติ ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะในผู้สูงอายุ ทำให้ทราบถึงผลการบริโภคผลไม้ต่อสุขภาพทางกายและระบบประสาทโดยรวม และทำให้เกิดความมั่นใจในด้านคุณประโยชน์ และหันมานิยมบริโภคมากขึ้น นอกจากนี้ยังเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการวิจัยต่อยอดในเชิงลึกต่อไป

### วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อตรวจสอบผลของการบริโภคมะม่วงสุก มะละกอสุกและน้ำมะพร้าวอ่อนติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 เดือนในหนูแก่ตามธรรมชาติ โดยตรวจสอบด้านต่างๆ ดังนี้

1. สมรรถภาพในการเคลื่อนไหวและการทรงตัวในขณะเคลื่อนไหวบนแกนหมุน
2. ความสามารถในการเรียนรู้และความจำ
3. ระดับการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในสมอง ปริมาณสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนในสมอง และจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส
4. ระดับวิตามินซี โพลีฟีนอล และเบต้าแคโรทีนในผลไม้และในเลือด

### ผลการวิจัย

ผลเบื้องต้นพบว่าหนูแก่ตามธรรมชาติทั้งสองเพศ ที่ได้รับน้ำกลั่นซึ่งเป็นหนูกลุ่มควบคุม มะม่วงสุกพันธุ์น้ำดอกไม้ หรือ มะละกอสุกพันธุ์ฮอลแลนด์ ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน ส่วนใหญ่มีน้ำหนักตัวไม่เปลี่ยนแปลง ยกเว้นหนูแก่เพศผู้ที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยลดลงเล็กน้อย แต่สำหรับหนูแก่ที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน มีน้ำหนักตัวเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อย ผลการทดสอบสมรรถภาพทางกาย เช่น การไต่บันไดไม้ และการทรงตัวบนแกนหมุน สรุปว่าหลังจากหนูแก่ได้รับผลไม้ทั้ง 3 ชนิด ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน ไม่พบว่ามีสมรรถภาพทางกายแตกต่างจากช่วงก่อนป้อน แต่ผลการทดสอบความสามารถในการเรียนรู้และจดจำพบว่าหนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับมะม่วงสุกและหนูแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน มีความสามารถในการจดจำด้านสถานที่ที่ดีขึ้น และเฉพาะหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงสุก วัตถุประสงค์ของได้ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

ผลของการป้อนผลไม้ต่อระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในสมอง ได้แก่ superoxide dismutase (SOD) และ glutathione peroxidase (GPx) พบว่าในหนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับมะม่วงสุกนาน 3 เดือนมีการเพิ่มของระดับเอนไซม์ทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูแก่กลุ่มควบคุม

ผลของการป้อนผลไม้ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน ต่อการเพิ่มระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโน และจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส พบว่าน้ำมะพร้าวอ่อนทำให้ระดับของกลูตาามิน กลูตาเมต และกาบ้าในสมองหนูแก่ทั้งสองเพศเพิ่มขึ้น และทำให้ระดับของแอสปาเตทในสมองหนูแก่เพศเมียเพิ่มขึ้น มะม่วงสุกทำให้เพิ่มระดับของกลูตาามินในสมองหนูแก่เพศเมีย และมะละกอสุกทำให้เพิ่มระดับของกลูตาามินและกาบ้าในสมองหนูแก่เพศเมีย

เมื่อเปรียบเทียบผลของการป้อนผลไม้ต่อจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส พบว่าเฉพาะหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงสุกนาน 3 เดือนมีจำนวนเซลล์ประสาทพิวามีดมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม และในหนูแก่เพศเมียที่ได้รับผลไม้แต่ละชนิดมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ประสาทพิวามีดมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ หนูแก่เพศเมียที่ได้รับมะละกอสุกหรือน้ำมะพร้าวอ่อนมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ประสาทที่ dentate gyrus มากกว่าหนูกลุ่มควบคุม

สำหรับผลการวิเคราะห์ระดับสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดในผลไม้ทั้งสาม พบว่า มะละกอสุกพันธุ์ฮอลแลนด์มีวิตามินซีมากที่สุด มะม่วงสุกพันธุ์น้ำดอกไม้มีเบต้าแคโรทีนมากที่สุด และน้ำมะพร้าวอ่อนมีสารแคเทคิน (catechins) และกรดคาเฟอิก (caffeic acid) ซึ่งเป็นสารจำพวกโพลีฟีนอลมากที่สุด แต่งานวิจัยนี้ไม่สามารถวิเคราะห์ระดับของสารต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวในพลาสมาได้ อาจสืบเนื่องจากข้อจำกัดของเทคนิคและเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์

ดังนั้นอาจสรุปผลโดยรวมได้ว่า การป้อนมะม่วงสุก มะละกอสุก หรือน้ำมะพร้าวอ่อน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 เดือนไม่ได้ช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางร่างกายโดยตรง แต่อาจช่วยในแง่การบำรุงรักษาระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำในหนูทดลองที่แก่ตามธรรมชาติ

#### การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- ยังไม่ได้นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

#### การประชาสัมพันธ์

- ผลวิจัยบางส่วนได้ถูกนำไปเผยแพร่ในงานประชุมระดับชาติในรูปแบบโปสเตอร์ (แสดงในภาคผนวก ค.)
  - 1) งานประชุม Medical Science Academic Annual Meeting (MSAM) 2012 ครั้งที่ 2 ณ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.นเรศวร เมื่อ 5-6 มี.ค. พ.ศ. 2555 จำนวน 1 โปสเตอร์
  - 2) งานประชุมวิชาการสรีรวิทยาสมาคมแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 41 ณ อาคารศรีสวรินทิรา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อ 2-4 พ.ค. พ.ศ. 2555 จำนวน 2 โปสเตอร์

## บทคัดย่อ

ผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สุก มะละกอฟันธุ์ฮอลแลนด์สุก และน้ำมะพร้าวอ่อน เป็นผลไม้ไทยที่มีคุณค่าทางอาหารซึ่งไม่เพียงแต่จะอุดมด้วยสารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นและร่างกายต้องการ แต่ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่มากมายหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อการทำงานของสมอง การศึกษานี้เป็นงานวิจัยพื้นฐานเพื่อ 1) ตรวจสอบผลของผลไม้ไทยแต่ละชนิด เมื่อป้อนให้หนูแก่ติดต่อกันทุกวันเป็นเวลา 3 เดือนต่อ น้ำหนักตัว สมรรถภาพทางร่างกาย การเรียนรู้และความจำ จำนวนเซลล์ประสาทฮิปโปแคมปัส ระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในฮิปโปแคมปัส และระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนในฮิปโปแคมปัสของหนูแก่ และ 2) ตรวจวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดในผลไม้ทั้งสามชนิด ได้ผลดังนี้

1. ผลต่อน้ำหนักตัวอาจสรุปได้ว่า เมื่อป้อนมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สุกหรือมะละกอฟันธุ์ฮอลแลนด์สุก ให้หนูแก่ทุกวันๆ ละครั้ง ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 เดือน ไม่ทำให้น้ำหนักตัวส่วนใหญ่น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง แต่หนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

2. ผลการทดสอบสมรรถภาพทางกาย ได้แก่ การไต่บันคานไม้ แรงยึดเหนี่ยวของอุ้งเท้า และการทรงตัวบนแกนหมุน สรุปว่าหลังจากหนูแก่ได้รับผลไม้ทั้ง 3 ชนิด ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน สรุปว่าไม่ได้มีผลช่วยเสริมสมรรถภาพทางกายให้ดีขึ้นกว่าในช่วงก่อนป้อน

3. ผลการทดสอบความสามารถในการเรียนรู้และจดจำ สรุปได้ว่าหนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับมะม่วงสุกและหนูแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน มีความสามารถในการจดจำด้านสถานที่ที่ดีขึ้น และเฉพาะหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงสุก วัตถุสิ่งของได้ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

4. ผลของการป้อนผลไม้ต่อระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส สรุปว่าในหนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับมะม่วงสุกมีการเพิ่มการทำงานของระดับเอนไซม์ดังกล่าวสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูแก่กลุ่มควบคุม

5. ผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส สรุปได้ว่ามะม่วงสุกทำให้เพิ่มระดับของกลูตาามินในสมองหนูแก่เพศเมีย และมะละกอสุกทำให้เพิ่มระดับของกลูตาามินและกาบ้าในสมองหนูแก่เพศเมีย และน้ำมะพร้าวอ่อนทำให้ระดับของกลูตาามิน กลูตาเมต และกาบ้าในสมองหนูแก่ทั้งสองเพศเพิ่มขึ้น

6. ผลต่อจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส พบว่าหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงสุกมีจำนวนเซลล์ประสาทพิวามีดมากกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุม และในหนูแก่เพศเมียที่ได้รับผลไม้แต่ละชนิดมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ประสาทพิวามีดมากกว่าหนูกลุ่มควบคุม หนูแก่เพศเมียที่ได้รับมะละกอสุกหรือน้ำมะพร้าวอ่อนมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ประสาทที่ dentate gyrus มากกว่าหนูกลุ่มควบคุม

7. สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดในผลไม้ทั้งสามชนิดพบว่า มะม่วงน้ำดอกไม้สุกมีเบต้าแคโรทีนและ gallic acid มากที่สุด มะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์สุกมีวิตามินซีมากที่สุด และน้ำมะพร้าวอ่อนมี catechin และ caffeic acid มากที่สุด



## Abstract

Ripe Nam-Doc-Mai mango (RNM), ripe Holland papaya (RHP), and young coconut juice (YCJ) are nutritious Thai fruits not only enriched of essential nutrients and minerals but also antioxidants that help for brain function. The objectives of this study were 1) to screen the effects of a 3-month administration of one of these Thai fruits on physical ability, learning and memory, number of hippocampal neurons, antioxidant enzyme activities, and levels of amino acid neurotransmitters in the hippocampus of aged rats, and 2) to quantify antioxidant contents in each fruit. We found that:

1. After 3 months of feeding, the RNM- and RHP-treated groups did not have a significant change in their body weights whereas the YCJ-treated group had a slight increase in the body weight.

2. For the physical ability tests (i.e., beam walking, grip strength, and rotarod treadmill tests), each fruit did not alter or improve the rats' physical abilities when compared to the data obtained during pre-feeding period.

3. For the cognitive function tests, RNM-treated (both sex) and YCJ-treated female rats showed better spatial memory. Male RNM-treated group had a significantly better object recognition index than that of the control (vehicle-treated) group.

4. For the assay of antioxidant enzyme activity in the hippocampus, RNM-treated groups had significantly higher superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) activities when compared to those of the control group.

5. For the assay of amino acid neurotransmitter levels in the hippocampus, RNM-treated female group had a higher glutamine level, RHP-treated female group had higher glutamine and GABA levels, and YCJ-treated groups had higher glutamine, glutamate, and GABA.

6. For the assay of neuronal counts in the hippocampus, RNM-treated male group and all treated female groups had more pyramidal neurons than the control group.

RHP- and YCJ-treated female groups also had more dentate gyrus granule cells than the control group.

7. When compare the amount of antioxidants in each fruit, RNM contains highest amounts of both beta carotene and gallic acid, RHP has a highest concentration of vitamin C, and YCJ has highest concentrations of catechin and caffeic acid.

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ความชราภาพเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติและเป็นไปตามอายุขัย สิ่งที่เห็นได้เด่นชัดสำหรับผู้ที่มีความชราคือ การเปลี่ยนแปลงที่ถดถอยทั้งทางร่างกาย การเรียนรู้และความจำ ความรับรู้ความรู้สึก และกำลังวังชา เป็นต้น (Riddle and Lichtenwalner, 2007) ได้มีสำรวจว่ามนุษย์เราจะมีอายุขัยเฉลี่ยยืนยาวมากขึ้นในทุกๆ ห้าทศวรรษ ตัวอย่างเช่น ในปี ค.ศ. 1900 มนุษย์มีอายุขัยเฉลี่ย 47 ปี และมีอายุขัยเพิ่มขึ้นเป็น 68 ปี ใน ค.ศ. 1950 ซึ่งในปี ค.ศ. 2000 พบว่ามนุษย์มีอายุขัยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 76 ปี ตามลำดับ (Guralnik and Ferrucci, 2003) ทั้งนี้อาจสืบเนื่องมาจากวิวัฒนาการและเทคโนโลยีทางการแพทย์ที่ก้าวหน้ามากขึ้น ทำให้อัตราการตายอันสืบเนื่องมาจากความชราลดลงในแต่ละปี อย่างไรก็ตาม จำนวนผู้สูงอายุที่เพิ่มสูงขึ้นในอนาคตอาจส่งผลกระทบต่อด้านเวชศาสตร์ฟื้นฟูและด้านอายุรกรรมทางการแพทย์ ตลอดจนปัญหาทางสังคมที่ต้องเล็งดูอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเป็นสิ่งที่รัฐบาลของประเทศที่พัฒนาแล้วหรือประเทศที่กำลังจะพัฒนาต้องแบกรับอยู่ในขณะนี้

เป็นที่ทราบกันดีว่าผู้ที่อยู่ในวัยชรา นอกจากจะพบความเสื่อมทางร่างกายแล้ว ยังพบความเสื่อมของสมองและเซลล์สมองอีกด้วย ซึ่งมีรายงานวิจัยระบุว่า ภาวะความเสื่อมจากอายุที่เพิ่มมากขึ้นดังกล่าว เกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นของ reactive oxygen species (ROS) ซึ่ง ROS เหล่านี้เกิดจากอนุมูลอิสระ (free radicals) ในเยื่อหุ้มเซลล์ membrane lipids เป็นเหตุให้มีการเสื่อมของ enzyme ในเซลล์เป็นบริเวณกว้างทำให้เกิดกระบวนการเสื่อมของระบบประสาท (neurodegenerative process) ตามมา (Komatsu and Hiramatsu, 2000; Yatin et al., 1999) การบริโภคอาหารเสริมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ อาจมีผลป้องกันการเกิด oxidative damage และลดการตายของเซลล์สมอง จากรายงานวิจัยเมื่อเร็วๆ นี้ของทีมผู้วิจัยได้ระบุว่า หนูแก่ตามธรรมชาติที่ได้รับชาเขียวหรือกากชาเขียวที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจำพวก catechins อยู่จำนวนมาก เมื่อให้ด้วยขนาด 300 มก./กก. น้ำหนักตัว ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน มีความสามารถในการเรียนรู้และความจำชนิดอ้างอิง (reference memory) และความจำขณะทำงาน (working memory) ความจำด้านสถานที่ (spatial memory) และด้านการจดจำวัตถุสิ่งของ (object recognition) ที่ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ ยังพบว่ามีความะดับการทำงานของเอนไซม์ทั้ง SOD และ GPx ในสมองส่วน hippocampus สูงกว่าในหนูหนุ่มปกติและหนูแก่กลุ่มควบคุมที่ได้รับ

น้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ (Taepavrapruk et al., 2009) จึงอาจเป็นไปได้ว่าการรับประทานผลไม้ เช่น มะม่วงสุก มะละกอสุก และน้ำมะพร้าว ที่มี phytochemical หรือสารต้านอนุมูลอิสระสูงอยู่เป็นประจำอาจมีส่วนช่วยปกป้องภาวะเสื่อมของระบบประสาทอันเนื่องมาจากความชรา และช่วยฟื้นฟูความจำ โดยเชื่อว่าเป็นผลจากสารสำคัญในผลไม้ซึ่งเป็นสารจำพวกวิตามิน เช่น วิตามิน ซี และสารกลุ่ม polyphenols เช่น flavonoids ที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อเซลล์สมอง ซึ่งสามารถช่วยปกป้องกระบวนการอักเสบ (neuroinflammatory process) และการตาย (apoptosis) ของเซลล์สมอง (Galli et al., 2002; Spencer, 2009, 2010a, 2010b)

ในบรรดาผลไม้เมืองร้อน มะม่วง (*Mangifera indica* L.) มะละกอ (*Carica papaya* L.) และมะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) จัดเป็นผลไม้ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและสมอง เนื่องจากมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น โพลีฟีนอล (polyphenols), เบต้าแคโรทีน (betacarotene) และวิตามินซี (vitamin C) ในปริมาณค่อนข้างสูง (Rocha Ribeiro et al., 2007; Leontowicz et al., 2008; Toledo et al., 2008; Kongkachuichai et al., 2010; Oliveira Dda et al., 2010; Radenahmad et al., 2009, 2011) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบว่าสามารถช่วยลดการเกิด oxidative stress ต่อเซลล์ในร่างกาย รวมทั้งเซลล์สมอง (Multhaup et al., 1997; Pappolla et al., 1998; Floyd, 1999; Heo and Lee, 2004) อย่างไรก็ตาม ยังไม่รายงานวิจัยใดที่ตีพิมพ์แล้ว ระบุว่าผลไม้เหล่านี้มีส่วนช่วยบำรุงร่างกายและสมอง และยังไม่มีความเกี่ยวข้องกับผลไม้นี้ที่ช่วยในการฟื้นฟูความจำโดยเฉพาะในผู้สูงอายุ ที่ผ่านมามีรายงานวิจัยของ Joseph และคณะ (Joseph et al., 1999; Galli et al., 2002) ตามด้วยรายงานของ Williams และคณะ (Williams et al., 2008) ที่พบว่าหนูแก่ที่ได้รับสารสกัดน้ำบลูเบอร์รี่ (18.6 mg/kg) หรือ สตอร์เบอร์รี่ (14.8 mg/kg) จะมีความสามารถในการเรียนรู้เกี่ยวกับสถานที่ (spatial memory) ที่ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุม

โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของการบริโภคผลไม้ดังกล่าว ต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง โดยดูผลช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางร่างกาย (psychomotor activity) ในหนูทดลองที่แก่ตามธรรมชาติ ที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 15 เดือนขึ้นไป ซึ่งเทียบได้กับคนที่มีอายุประมาณ 60 ปี (Quinn, 2005) นอกจากนี้ การวิจัยนี้ยังได้วางแผนทำการทดสอบผลของน้ำผลไม้ดังกล่าวต่อการเรียนรู้และความจำ (cognitive function) เพื่อเป็นการตรวจสอบถึงผลต่อการทำงานของสมองในด้านความจำที่ลดลงในหนูที่แก่ตามธรรมชาติ ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้ จะทำให้ทราบข้อมูลหรือคุณค่าของผลไม้ไทยในกลุ่มดังกล่าวในเชิงประโยชน์ต่อสุขภาพสำหรับผู้สูงอายุ เพื่อสนับสนุนให้มีการมีบริโภคผลไม้ไทยให้แพร่หลายมากขึ้น และทำให้ผลไม้ไทยมีมูลค่าเพิ่มขึ้น

## บทที่ 2

### ทบทวนวรรณกรรม

#### 2.1 มะม่วง

มะม่วง (mango) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Mangifera indica* L. เป็นผลไม้เมืองร้อนที่นิยมรับประทานกันมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูร้อนซึ่งเป็นช่วงที่มะม่วงออกผลผลิตได้มากที่สุด ผลมะม่วงสุกนิยมนำมาทานทันทีหรือหลังการปอกเปลือกไม่นาน โดยนำมาทานเล่นหรือทานกับข้าวเหนียวมูลและน้ำกะทิ ผลมะม่วงสุกที่นิยมนำมาทานมากที่สุดคือ มะม่วงอกร่อง และ มะม่วงน้ำดอกไม้ เนื่องจากมีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ รสชาติที่หวาน และเนื้อผลไม้ที่นุ่มน่าทาน แต่เนื้อมะม่วงอกร่องสุกจะมีเส้นใยไฟเบอร์ที่มากกว่า

มะม่วงเป็นแหล่งสำคัญของวิตามินและสาร flavonoid เช่น beta-carotene, alpha-carotene และ beta-cryptoxanthin จากรายงานวิจัยของ นัทยา จงใจเทศ และคณะ (2008) ได้ระบุว่ามะม่วงน้ำดอกไม้เป็นผลไม้ที่มี beta-carotene สูงมากที่สุดในบรรดาผลไม้ 83 ชนิดที่ทีมนักวิจัยชุดนี้ได้ทำการวิเคราะห์ โดยพบว่าในเนื้อมะม่วง 100 กรัม มีส่วนประกอบของเส้นใยไฟเบอร์ (dietary fiber) ที่ค่อนข้างสูงถึง 1.2-1.8 ก. มีคาร์โบไฮเดรต 18.8 ก. ไขมัน 0.2-0.27 ก. วิตามินซี 5 มิลลิกรัม และ beta-carotene 445 ไมโครกรัม และให้พลังงาน 70-80 แคลอรี (USDA National Nutrient data base 2010; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, พ.ศ. 2554)

นอกจากนี้ สารสกัดจากผลมะม่วงหรือเปลือกไม้มะม่วงก็มีสารสำคัญมากมาย เช่น mangiferin (Schieber et al., 2000), วิตามิน, terpenoids, steroids, fatty acid และ polyphenols ที่ผ่านมามีรายงานการวิจัยทางระบบประสาท ที่ระบุว่าสารสำคัญจากผลมะม่วงอาจมีฤทธิ์ลดการตายของเซลล์ประสาท และ oxidative damage อันสืบเนื่องมาจากผลของภาวะการขาดเลือดไปเลี้ยงที่สมอง (Martínez Sánchez et al., 2001; Pardo-Andreu et al., 2006)



**รูปที่ 1** ผลมะม่วงสุกพันธุ์น้ำดอกไม้ (ภาพจาก [www.thaifruits-online.com](http://www.thaifruits-online.com) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2554 สืบค้นเมื่อ ต.ค. 2555)

## 2.2 มะละกอ

มะละกอ (Papaya) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Carica papaya* Linn. อยู่ในวงศ์ *Caricaceae* ผลมะละกอประกอบด้วยน้ำและคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนใหญ่ มีปริมาณแคลอรีต่ำและวิตามินแร่ธาตุสูง โดยเฉพาะวิตามินเอ, วิตามินซี และโพแทสเซียม ซึ่งในเนื้อมะละกอสุก 100 กรัม ประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต 9.5-9.81 โปรตีน 0.5-0.61 ก. ไขมัน 0.1-0.14 ก. มีเส้นใยไฟเบอร์ 1.3-1.8 ก. วิตามินซี 43-61.8 มก. เบต้าแคโรทีน 276 ไมโครกรัม นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) อื่นๆ เช่น Caffeic acid 179 มก. p-Coumaric acid 163 มก. Ferulic acid 193 มก. และให้พลังงาน 41 แคลอรี (Krishna et al., 2008; Teixeira da Silva et al., 2007; USDA National Nutrient data base 2010; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, พ.ศ. 2554) จากการศึกษาวิจัยพบว่ามะละกามีปริมาณแคโรทีนซึ่งเป็นสารที่ช่วยในการป้องกันการทำลายของอนุมูลอิสระมากกว่าผลไม้ชนิดอื่นๆ เช่น แอปเปิ้ล, ฝรั่ง เป็นต้น (นัทยา จงใจเทศ, 2008) ผลมะละกามีเอนไซม์มากมาย โดยตัวที่สำคัญในผลมะละกอดิบคือ Papain ซึ่งเป็นเอนไซม์เปปซินในพืชสามารถย่อยเนื้อสัตว์ได้ เมื่อนำมาหมักเนื้อก็จะทำให้เนื้อนุ่มขึ้น



**รูปที่ 2** ผลมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ (ภาพจาก <http://zeenatsyal.files.wordpress.com/2009> สืบค้นเมื่อ พ.ย. 2554)

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับสรรพคุณของส่วนต่างๆ ของมะละกอหลายเรื่อง ซึ่งพบว่าสารสกัดจากใบมะละกอสามารถที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง และมีคุณสมบัติช่วยเสริมภูมิคุ้มกัน (Otsuki et al., 2010) สามารถป้องกันการลดลงของ plasma lipid peroxidation และเพิ่ม glutathione peroxidase activity ซึ่งเป็นสารที่สำคัญในการต้านอนุมูลอิสระและสามารถป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหารได้ (Chen et al., 1981; Krishna et al., 2008) นอกจากนี้

ยังพบว่าน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดมะละกามีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและลดปริมาณโคเลสเตอรอลในสมอง (Afolabi et al., 2011) น้ำมันมะละกามีฤทธิ์ในการลดความดันโลหิต ลดอัตราการเต้นของหัวใจ และทำให้หลอดเลือดคลายตัวโดยลด vascular tone (Eno et al., 2000) ยางมะละกอสสามารถเพิ่มการสร้างคอลลาเจน ส่งเสริมกระบวนการรักษารอยแผลได้ (Gurung and Skalko-Basnet., 2009) ส่วน epicarp extract จากผลมะละกอก็มีฤทธิ์ในการส่งเสริมกระบวนการรักษาแผลเช่นเดียวกัน (Anuar et al., 2008) และสารสกัดจากรากมะละกามีฤทธิ์ในการขับปัสสาวะ (Sripanickulchai et al., 2001) การศึกษาผลของ fermented papaya preparation (FPP) ซึ่งเป็นสารที่ได้จากการหมักของยีสต์ในมะละกอบพบว่า FPP มีฤทธิ์ในการลด beta-amyloid precursor protein, ลดการสะสมของ reactive oxygen species (ROS), ลดระดับของ lipid peroxide, ลดการสะสมของ NO ในเซลล์, ยับยั้ง apoptosis stress (Zhang et al., 2006), เพิ่ม reduced glutathione (GSH) และการทำงานของเอนไซม์ SOD (Korkina et al., 1995), ลดการทำลายของ DNA และเนื้อเยื่อในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิด epilepsy (Imao et al., 1999), และยับยั้งการเกิด hydroxyl radical ได้ด้วย (Noda et al., 2008)

จากข้อมูลการแพทย์แผนไทยได้ระบุว่า เนื้อมะละกอ (ดิบและสุก) สามารถนำมาต้มแล้วทานเพื่อขับน้ำดี น้ำเหลือง บำรุงน้ำนม ขับพยาธิ รักษาโรคจิตสับสน ทวาร เมื่อทานผลสุกสามารถช่วยแก้อาการท้องผูก เมื่อนำเนื้อมะละกอสุกมาปั่น ใช้พอกหน้าแล้วล้างออก จะช่วยใบหน้าชุ่มชื้น ส่วนในตำรายาอายุรเวทพบว่าผลมะละกอสุกมีฤทธิ์ในการช่วยการย่อย, ขับปัสสาวะ, แก้ท้องเสีย, รักษาโรคผิวหนัง, รักษาแผลในกระเพาะอาหารและทางเดินปัสสาวะ, โรคผิวหนังบางชนิด (Krishna et al., 2008; Sala 2005) ที่ผ่านมายังไม่มีการศึกษาผลของมะละกอสูกต่อการเรียนรู้และความจำในหนูแก่ธรรมชาติ แต่มีการศึกษาผลของผลไม้ที่มีชนิดอื่นๆต่อความสามารถในการเรียนรู้และความจำ เช่น บลูเบอร์รี่, สตรอเบอร์รี่ เป็นต้น ซึ่งผลไม้เหล่านี้ต่างก็มีผลเพิ่มความสามารถในการเรียนรู้และความจำที่เกิดจากคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Joseph et al., 1998; Joseph et al., 1999)

เนื่องจากมะละกอเป็นผลไม้เป็นที่สามารถเพาะปลูกและขยายพันธุ์ได้ง่ายในประเทศไทย อีกทั้งมีราคาไม่แพง ดังนั้นหากผลจากการศึกษารั้ครั้งนี้ได้ข้อมูลที่บ่งชี้ให้เห็นถึงประโยชน์ของมะละกอสูกในการเพิ่มความสามารถในการเรียนรู้และความจำในหนูแก่ธรรมชาติ ก็น่าจะเป็นการส่งเสริมให้เกิดการบริโภคผลไม้มะละกอสูกเพิ่มมากขึ้น

## 2.3 น้ำมะพร้าวอ่อน (Young coconut juice)

มะพร้าว (coconut) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cocos nucifera* L. เป็นต้นไม้ที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน และมีสรรพคุณทางการแพทย์มากมาย น้ำมะพร้าวเป็นน้ำเกลือแร่จากธรรมชาติ (mineral water) เนื่องจากมีสารอาหารและเกลือแร่ต่างๆ ผสมอยู่มาก ในน้ำมะพร้าว 1 ผล จะมีน้ำอยู่ถึง 90% คิดเป็นปริมาณน้ำ 400-465 ซีซี ในน้ำมะพร้าว 100 ก. ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต 4.5 ก. โปรตีน 0.2 ก. ไขมัน 0.4 ก. วิตามินซี 2.4-3 มก. อิเลคโตรไลต์ 355 มก. เกลือแร่ 90 มก. ให้พลังงาน 19-22 แคลอรี (Young et al., 2009; USDA National Nutrient data base 2010; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, พ.ศ. 2554) ดังนั้นการดื่มน้ำมะพร้าวอ่อน 1 ผลจะได้รับทั้ง สารอาหาร วิตามิน และเกลือแร่อย่างเพียงพอที่ร่างกายต้องการ



**รูปที่ 3** ผลและน้ำมะพร้าวอ่อน (ภาพจาก [ThaiFruits-online.com](http://ThaiFruits-online.com) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2554 สืบค้นเมื่อ ต.ค. 2555)

นอกจากสารอาหารและเกลือแร่หลากหลายชนิดที่พบในน้ำมะพร้าวแล้ว ในทางการแพทย์มีการศึกษาพบว่าช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจ ให้เป็นยารักษาโรคหลายชนิดเช่น อหิวาตกโรค รักษาภาวะความเป็นกรดในเลือดสูง ทางเดินปัสสาวะอักเสบ ช่วยขับปัสสาวะในคนไข้โรคหัวใจ โรคตับ โรคไต รักษาคนไข้โรคท้องมาน และจากการศึกษาวิจัยพบว่าน้ำมะพร้าวอ่อนสามารถใช้ต้านเชื้อต่างๆ เช่น เชื้อแบคทีเรีย รา ไวรัส ปรสิตร เป็นต้น ใช้รักษาโรคทางผิวหนัง ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยควบคุมรักษาระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ บำรุงตับ และยังกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (DebMandal and Mandal, 2011)



ในทางอายุรเวชศาสตร์ น้ำมะพร้าวถือเป็นน้ำบริสุทธิ์ เนื่องจากลำต้นมะพร้าวมีความสูงมาก กว่าที่จะได้น้ำที่ไปสู่ลูกมะพร้าวบนยอดต้นต้องผ่านการกลั่นกรองมาหลายชั้นจากลำต้น ทำให้น้ำมะพร้าวที่มีความบริสุทธิ์สูง ดังนั้นจึงใช้น้ำมะพร้าวช่วยล้างพิษและขับของเสียออกจากร่างกาย และรักษาโรคกระเพาะ นอกจากนี้ในน้ำมะพร้าวยังมีไขมันจำเป็นที่ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ได้ภายใน 5 นาที และมีกลูโคสที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้ทันทีอีกด้วย น้ำมะพร้าวอ่อนยังช่วยบรรเทาอาการอ่อนเพลียจากอาการท้องร่วง ท้องเสีย จึงจัดว่าน้ำมะพร้าวเป็น “sport drink” ที่สามารถดื่มเพื่อชดเชยการสูญเสียเหงื่อหลังการออกกำลังกายได้ดี นอกจากนี้ การดื่มน้ำมะพร้าวยังช่วยลดอาการเมาค้างหลังดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (hangover) และช่วยลดอาการขาดน้ำ (dehydration) จากการเมาสุราได้เป็นอย่างดี (Duerr, 2010)

ตามตำราแพทย์แผนไทย น้ำมะพร้าวอ่อนใช้แก้กระหาย แก้พิษ อาเจียนเป็นเลือด ท้องเสีย บวม น้ำ ขับปัสสาวะ และลดการเกิดนิ่ว ส่วนเปลือกผลใช้ห้ามเลือด แก้ปวด เลือดกำเดาออก โรคกระเพาะ และแก้อาเจียน ส่วนกะลาใช้ร่วมกับการนวดเพื่อบรรเทาอาการปวดกล้ามเนื้อ ปวดเส้นเอ็น และปวดกระดูก ถ่านจากกะลานำมารับประทานแก้ท้องเสีย และขับสารพิษต่างๆ น้ำมันที่ได้จากการเผากะลาใช้ทาบาดแผล แก้โรคผิวหนัง แก้กลาก และใช้อุดฟันแก้อาการปวดฟัน เนื้อมะพร้าวนำมารับประทานเพื่อบำรุงกำลัง และขับพยาธิ น้ำมันจากเนื้อมะพร้าวใช้ทาแก้กลาก และบาดแผลที่เกิดจากความเย็นจัด หรือถูกความร้อน และใช้ผสมทาแก้โรคผิวหนังต่างๆ ส่วนรากใช้ขับปัสสาวะ แก้ท้องเสีย และนำมาต้มน้ำอมแก้อาการปากเจ็บ ส่วนเปลือกต้น นำมาเผาเป็นถ่าน ใช้ทาแก้หิด และสีก้นแก้ปวดฟัน ส่วนสารสีน้ำตาลที่ไหลออกมาแข็งตัวที่ได้ไป ใช้ในการห้ามเลือด (ข้อมูลจาก สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ [http://www.rspg.or.th/plants\\_data/herbs/herbs\\_10\\_6.htm](http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_10_6.htm))

จากคุณสมบัติของน้ำมะพร้าวที่เป็นไฟโตเอสโตรเจน ซึ่งอาจช่วยป้องกันการเสื่อมของสมอง หรือโรคอัลไซเมอร์ โดยเฉพาะในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน เนื่องจากผู้หญิงกลุ่มนี้มีอัตราเสี่ยงต่อโรคอัลไซเมอร์ได้มากกว่าผู้ชายในวัยเดียวกัน มีรายงานวิจัยที่เพิ่งตีพิมพ์เร็วๆ นี้ โดย นิชาอุตะห์ ระเด่นอาหมัด และคณะ (Radenahmad et al., 2011) ได้สร้างแบบจำลองสภาวะหมดประจำเดือนคล้ายอาการที่พบในสตรีวัยทอง โดยนำหนูทดลองเพศเมีย 2 กลุ่มมาตัดรังไข่ทั้งสองข้าง หนูกลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมซึ่งได้รับอาหารตามปกติ แต่หนูกลุ่มที่สองได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนติดต่อกันเป็นเวลา 5 สัปดาห์ หลังจากนั้นพวกเขาพบว่า หนูกลุ่มที่สองได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนพบการสะสมของ Amyloid beta peptide, glial fibrillary acidic protein (GFAP) และ Tau-1 ซึ่งเป็น biomarker ของโรคอัลไซเมอร์ น้อยกว่าหนูกลุ่มควบคุมที่ถูกตัดรังไข่แต่ไม่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน

อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีงานวิจัยใดศึกษาผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อพฤติกรรมการเรียนรู้และความจำ โดยเฉพาะในหนูที่แก่ตามธรรมชาติ ดังนั้นโครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมะพร้าวอ่อนเมื่อป้อนให้หนูแก่ชรา 3 เดือน ว่าจะสามารถช่วยบำรุงร่างกายและสมองได้หรือไม่อย่างไร

## 2.4 สมองส่วนฮิปโปแคมปัส

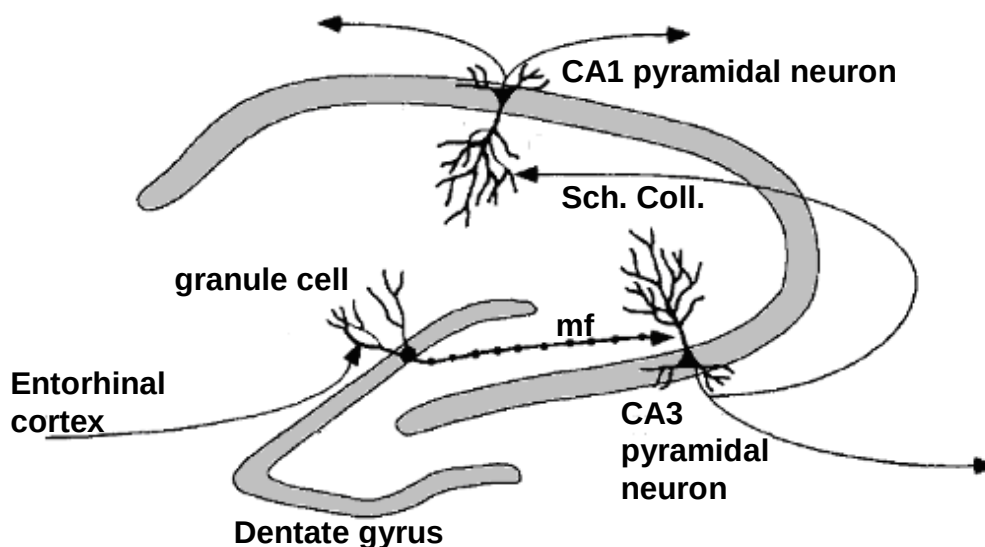
ฮิปโปแคมปัสจัดเป็นส่วนที่อยู่ในระบบลิมบิก (Limbic system) มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการการเรียนรู้และความจำ โดยอยู่ทางด้านในของ temporal lobe และผนังด้านในของโพรงสมองด้านข้าง (lateral ventricles) สำหรับ hippocampal formation นี้มีลักษณะเป็นแนวพับของเปลือกสมอง ทำให้เห็นเป็นรูปตัว “C” สองตัวซ้อนกัน ในภาคตัดขวางของสมอง ซึ่งประกอบด้วยสมอง 3 ส่วน ได้แก่ 1) hippocampus, 2) dentate gyrus และ 3) subiculum

ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์เมื่อศึกษาจากแผ่นผ่านสมองส่วนฮิปโปแคมปัส จะพบว่า มีลักษณะโครงสร้างที่ประกอบไปด้วยเซลล์ประสาทจำนวนมากเรียงตัวกันอยู่เป็นกลุ่มๆ ได้แก่ granule cells พบอยู่ที่บริเวณ dentate gyrus และ เซลล์พिरามิด (pyramidal cells) ซึ่งพบเรียงตัวที่บริเวณ cornu ammonis 1 (CA1), 2 (CA2) และ 3 (CA3) นอกจากนั้นลักษณะของทางเดินประสาทที่พบบนแผ่นผ่านสมองส่วนดังกล่าวนี้มีลักษณะเป็นแบบ “trisynaptic circuit” คือ มีทางเดินของ axon ในการส่งสัญญาณประสาทที่ประกอบไปด้วย synapse จำนวน 3 ชุด โดยทั้งหมดทำหน้าที่ในการส่งผ่านสัญญาณประสาทชนิดกระตุ้น เริ่มจากสัญญาณที่ส่งผ่านมาทาง entorhinal cortex ซึ่งส่งผ่านไปตาม perforant pathway ไปซินแนปส์กับ granule cells ของ dentate gyrus จากบริเวณนี้พบมี mossy fibers (mf) ทอดตัวไปยัง pyramidal cells ของ CA3 และจากเซลล์ที่ CA3 จะส่ง Schaffer collateral pathway (Sch. Coll.) ทอดตัวไปซินแนปส์ที่ dendrite ของ pyramidal cells ของ CA1 ดังแสดงในรูปที่ 4

หน้าที่ของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสเกี่ยวข้องกับความจำทั้งชนิด declarative และ spatial memory ซึ่งเกิดจากการทำงานของวงจร trisynaptic circuit ดังกล่าว สิ่งที่มีักพบในผู้สูงอายุ คือ การเสื่อมของสมอง ส่งผลให้จำนวนเซลล์ประสาทและซินแนปส์ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสลดน้อยลงอย่างมาก และทำให้เกิดการสูญเสียความจำทั้งสองชนิดดังกล่าวข้างต้น

ในการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลอง การทดสอบความจำอันเป็นหน้าที่สำคัญของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสได้แก่ การทดสอบความสามารถในการจดจำวัตถุสิ่งของ (object recognition) และการจดจำทิศทาง แผนที่ และสถานที่ (spatial memory) ซึ่งหนูที่ถูกชักนำให้เกิดพยาธิสภาพของสมองส่วนนี้จะสูญเสียความจำดังกล่าวอย่างชัดเจน คล้ายกับคนที่ เป็นโรคสมองเสื่อม หรือโรค

อัลไซเมอร์ มีการศึกษาทางพฤติกรรมในหนูแก่ตามธรรมชาติ พบว่าหนูพวกนี้มีอาการความจำบกพร่องอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับหนูหนุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาทางเซลล์วิทยา ที่แสดงให้เห็นว่ามีการลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสอย่างมากและมีความสำคัญ (Rasmussen et al., 1996; Calhoun et al., 1998; Rapp et al., 1996)



รูปที่ 4 วงจรประสาทของสมองส่วนฮิปโปแคมปัส ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ “trisynaptic circuit” (ดัดแปลงจาก McEwen, 1999)

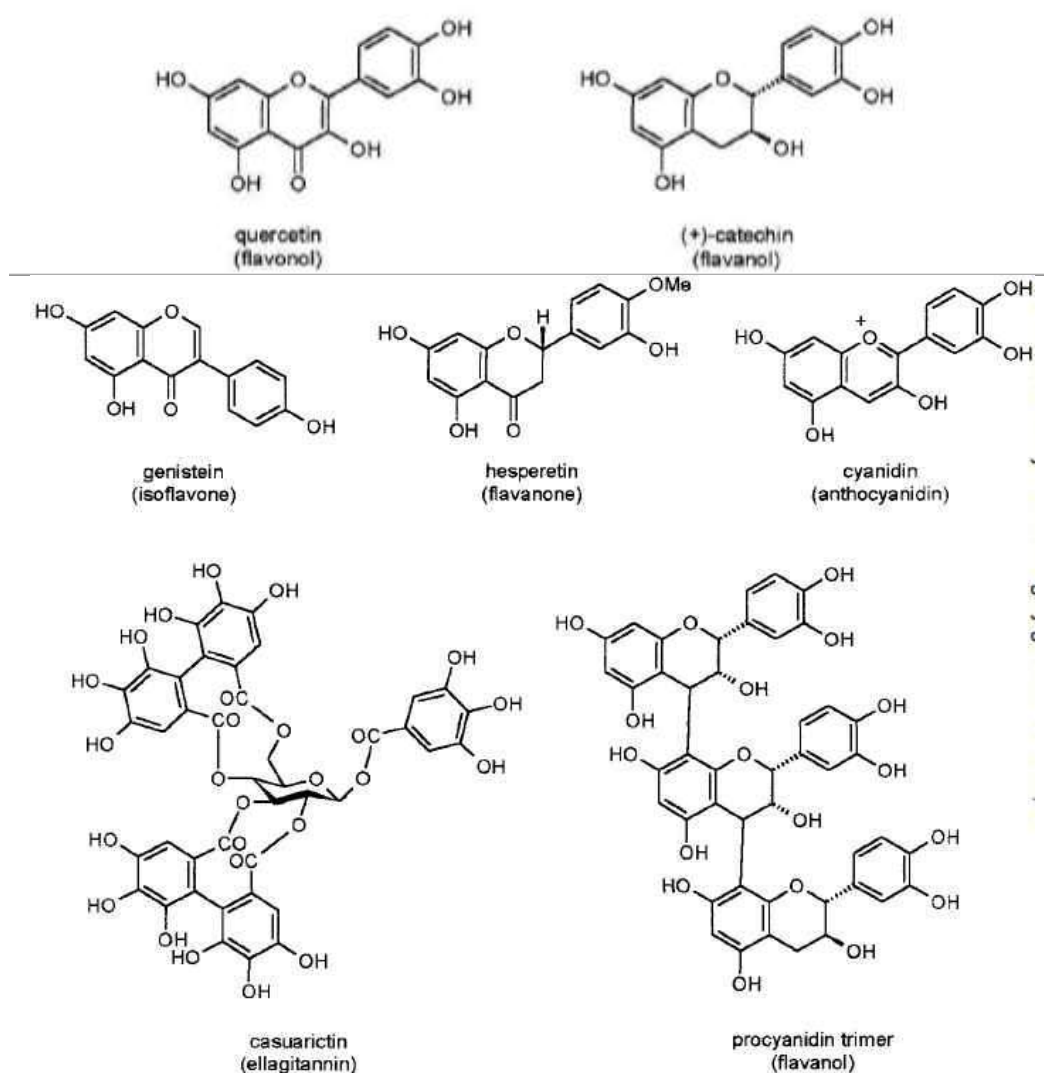
## 2.5 สารต้านอนุมูลอิสระในผลไม้

ในปัจจุบัน มนุษย์เราได้เริ่มมีการตื่นตัวและเรียนรู้เกี่ยวกับเรื่องสารต้านอนุมูลอิสระที่มีผลต่อสุขภาพของร่างกาย โดยเชื่อว่าจะสามารถช่วยป้องกันโรคได้หลายชนิด เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน และโรคข้อเสื่อม เป็นต้น พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีอยู่มากมายในอาหารจำพวกผักและผลไม้ จากรายงานผลการวิเคราะห์สารเหล่านี้ในผลไม้ไทยกว่า 30 ชนิด จากทางสำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (พ.ศ. 2549)

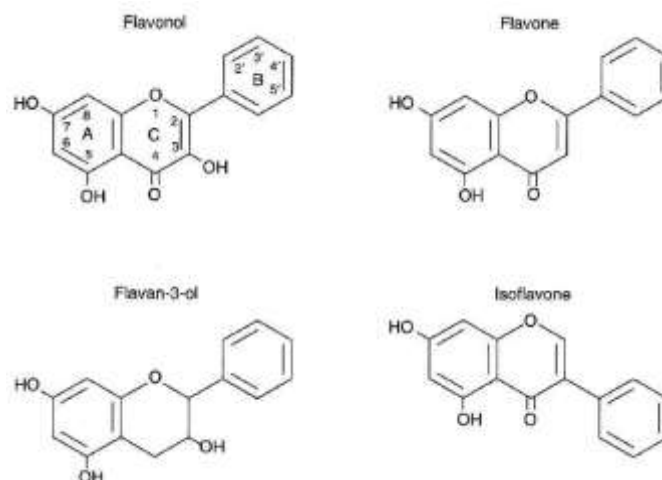
สำหรับงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระ 3 ชนิด เช่น สารกลุ่มโพลีฟีนอล วิตามินซี และเบต้าแคโรทีน ต่อสภาพร่างกายและการทำงานของสมองที่เกี่ยวข้องกับการจำ ซึ่งสารเหล่านี้ที่อาจใช้เป็น biomarker ภายหลังจากที่หนูทดลองได้รับเป็นเวลายาวนาน โดยแยกตามกลุ่มโดยสังเขปดังนี้

### 2.5.1 สารกลุ่มโพลีฟีนอล

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น สามารถละลายน้ำได้ พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบ glycosides และพบได้ในส่วนของ vacuole ภายในเซลล์ (Rice-Evans et al., 1997) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในรูปที่ 5 และ 6 ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบจะเป็นสารประกอบพวก flavonoids (Scalbert and Williamson, 2000) นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น simple monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenolic quinine และ polyphenolic เช่น พวก lignin, tannin เป็นต้น (Rice-Evans et al., 1997)



รูปที่ 5 แสดงโครงสร้างของสาร Phenolic compounds ประเภท Polyphenols (Scalbert and Williamson, 2000)



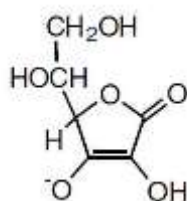
รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างของสาร Phenolic compounds ประเภท flavonoids (Rice-Evans et al., 1997)

พบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และ แทนนิน เป็นต้น ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกเกิดขึ้น เนื่องจากการที่สารกลุ่มนี้สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้ สามารถให้อะตอมของไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนได้หรือสามารถจับกับโลหะได้ (Blokchina et al., 2003) สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขั้วไล่ออนุมูลอิสระที่สำคัญคือ อนุมูล peroxy โดยมีกลไก 2 แบบคือ เมื่ออยู่ในสถานะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร จึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอน propagation ได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลต ดักจับไอออนของโลหะเข้าไปในโมเลกุล เช่น quercetin (Perron and Brumaghim, 2009; Rice-Evans et al., 1997) สารประกอบฟีนอลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอน หรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจน และกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูป active ด้วยหน้าที่ต่างๆ ดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชัน ที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป (Blokchina et al., 2003)

## 2.5.2 วิตามินซี

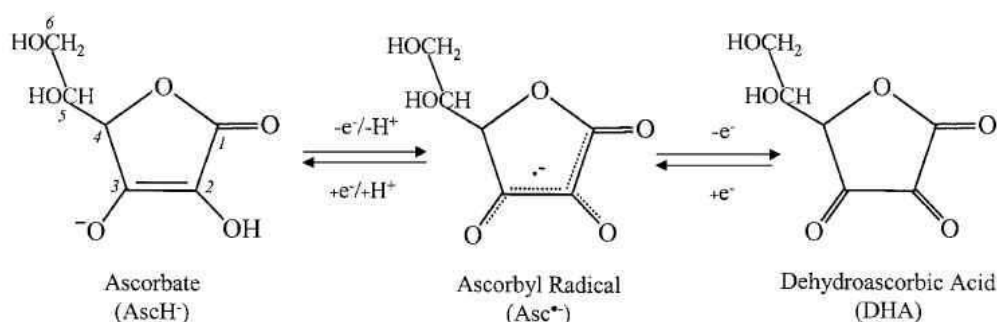
วิตามินซี หรือ ascorbate เป็นสารอินทรีย์ที่มีผลสีขาว ละลายน้ำได้ดีและออกฤทธิ์เป็นกรดมีรสเปรี้ยว เรียกว่า ascorbic acid วิตามินซีสังเคราะห์ได้จากกลูโคส แต่ในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินตัวนี้ได้เอง จึงต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น วิตามินซี ประกอบด้วยธาตุ

คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน (O) สูตรโมเลกุลคือ  $C_6H_8O_6$  (ดังรูปที่ 7) วิตามินซีสามารถสลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสง ความร้อนและอากาศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะที่เป็นด่างและมีไอออนของเหล็กหรือทองแดงเป็นตัวเร่ง (Hickey and Roberts, 2004)



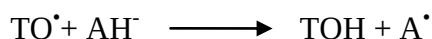
**รูปที่ 7** โครงสร้างของวิตามินซี (Institute of Medicine, The National Academy of Sciences, 2000)

วิตามินซีมีหน้าที่ที่สำคัญต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมหลายอย่างเช่น มีบทบาทในการเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) สำคัญในเอนไซม์หลายชนิดที่ใช้สังเคราะห์คอลลาเจน คาร์นิทีน และสารสื่อประสาท นอกจากนี้ บทบาทที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของวิตามินซีคือ การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการถูกทำลายจากอนุมูลอิสระ โดยวิตามินซีจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูล hydroxyl และอนุมูล peroxy (Braun and Cohen, 2007) วิตามินซีจะถูกออกซิไดส์และสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวให้กับอนุมูลอิสระ และเปลี่ยนรูปเป็น semidehydroascorbate หรือ ascorbyl radical ทำให้สามารถหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระได้ และในหลายปฏิกิริยาวิตามินซีจะให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระสองตัว และเปลี่ยนรูปเป็น dehydroascorbate ซึ่งสามารถจะถูกรีดิวซ์กลับมาเป็นรูป ascorbate ได้ดังรูปที่ 8 (Hickey and Roberts, 2004; Packer et al., 2002; Institute of Medicine, The National Academy of Sciences, 2000)



**รูปที่ 8** ปฏิกิริยาระหว่างวิตามินซีกับอนุมูลอิสระ (Packer et al., 2002)

นอกจากวิตามินซีสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้ว ยังทำหน้าที่เป็นตัวเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันของวิตามินอีด้วย โดยทำให้อนุมูล  $\alpha$ -tocopherol $\cdot$  (TO $\cdot$ ) เปลี่ยนกลับไปเป็น  $\alpha$ -tocopherol (TOH) ดังเดิม ดังสมการ (Braun and Cohen, 2007)

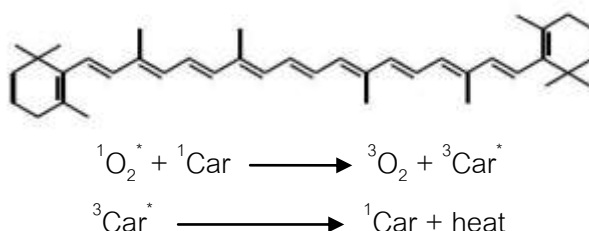


อาหารที่มีวิตามินซีมากได้แก่ผักและผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว เช่น มะม่วงดิบ ฝรั่ง มะขามป้อม มะเขือเทศ สตรอเบอรี่ ผักใบเขียว เป็นต้น (Braun and Cohen, 2007) สำหรับในมะม่วงน้ำดอกไม้สุกพบว่าวิตามินซีประมาณ 15 มิลลิกรัม ต่อ เนื้อผลไม้ 100 กรัม หรือคิดเป็นประมาณ 48 มิลลิกรัมต่อมะม่วง 1 ผล และในมะละกอแขกดำ มีวิตามินซีประมาณ 48-62 มิลลิกรัม ต่อ เนื้อผลไม้ 100 กรัม (นันทยา จงใจเทศ, 2008)

### 2.5.3 เบต้าแคโรทีน

เบต้าแคโรทีน ( $\beta$ -carotene) (รูปที่ 9) เป็นสารตัวหนึ่งในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) พบมากในพืชที่มีสีเหลือง และสีส้ม เช่น ห้วแครอท หัวผักกาดแดง มะเขือเทศ มะละกอ เป็นต้น (Prince and Frisoli, 1993) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ โดยร่างกายมนุษย์สามารถเปลี่ยน 9-*cis*- $\beta$ -carotene ไปเป็นวิตามินเอที่ตับและลำไส้ด้วยเอนไซม์ 15,15c- $\beta$ -carotenoid dioxygenase (Krinsky, 2001)

เบต้าแคโรทีนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญซึ่งหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระโดยใช้กลไกทางฟิสิกส์ โดยอนุมูลอิสระที่มีพลังงานสูง (singlet state,  $^1\text{O}_2^\bullet$ ) ถ่ายเทพลังงานให้กับเบต้าแคโรทีนซึ่งมีอิเล็กตรอนในโครงสร้างสูงและสามารถดูดกลืนพลังงานได้ดี ( $^1\text{Car}$ ) ได้ผลิตภัณฑ์ของออกซิเจนที่มีพลังงานต่ำลง (triplet state,  $^3\text{O}_2$ ) และเบต้าแคโรทีนพลังงานสูง (triplet state,  $^3\text{Car}^\bullet$ ) จากนั้นเบต้าแคโรทีน คายพลังงานออกมาในรูปความร้อน (Institute of Medicine, The National Academy of Sciences, 2000) เบต้าแคโรทีนสามารถป้องกันวิตามินอีจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและเปลี่ยนวิตามินอีให้กลับมาอยู่ใน antioxidant form ดังเดิมได้ (Bendich, 2004)



**รูปที่ 9** บน : แสดงโครงสร้างของเบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) (Institute of Medicine, The National Academy of Sciences.,2000) ล่าง : ปฏิกิริยาออกซิเดชันของเบต้าแคโรทีน (Car)

มีรายงานผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบของเบต้าแคโรทีนในผลไม้ไทยบางชนิด โดยใช้เทคนิค HPLC ตัวอย่างผลไม้ที่ถูกรวบรวมและปริมาณเบต้าแคโรทีน ต่อ 100 กรัมเนื้อผลไม้ เป็นดังนี้ กล้วยหอมมี 25.2 ไมโครกรัม กล้วยไข่ 58.8 ไมโครกรัม กล้วยน้ำว้า 32.8 ไมโครกรัม มะม่วงเขียวเสวย (ดิบ) 34.5 ไมโครกรัม มะม่วงแรด (ดิบ) 21.2 ไมโครกรัม มะม่วงน้ำดอกไม้ (สุก) 308 ไมโครกรัม และ มะละกอพันธุ์แขกดำ (สุก) 471 ไมโครกรัม เป็นต้น (Charoensiri et al., 2008) และผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบของเบต้าแคโรทีน จากสำนักโภชนาการ กระทรวงสาธารณสุข เมื่อเทียบต่อผลไม้ 1 ผล เป็นดังนี้ กล้วยหอมมี 79 ไมโครกรัม กล้วยไข่ 108 ไมโครกรัม กล้วยน้ำว้า 22 ไมโครกรัม มะม่วงเขียวเสวย (ดิบ) 129 ไมโครกรัม มะม่วงน้ำดอกไม้ (สุก) 2813 ไมโครกรัมและ มะละกอพันธุ์แขกดำ (สุก) 500 ไมโครกรัม เป็นต้น (นันทยา จงใจเทศ, 2008)



### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณา และได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการ  
ใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยนเรศวร แบบเต็มรูปแบบ ตั้งแต่วันที่ 21 มิ.ย. 2554 ถึง 20 มิ.ย. 2555 โดยมี  
เอกสารรับรองเลขที่ 5404003 และเลขที่โครงการคือ NU-AE540109 (ภาคผนวก ก)

#### 3.1 สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือหนูแรท สายพันธุ์ Sprague-Dawley (S.D. rats) เพศผู้  
และเพศเมีย เป็นหนูพ่อพันธุ์/แม่พันธุ์ที่ไร้ไทร (อายุตอนเลี้ยงคือ 8 เดือน) จากสำนักสัตว์ทดลอง  
แห่งชาติ ม.มหิดล ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม โดยหนูทั้งหมดได้ถูกเลี้ยงในห้องเลี้ยง  
สัตว์ทดลองของคณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.นเรศวร

หนูทดลองจะถูกแบ่งกลุ่มเพื่อแยกเลี้ยงในกรงๆ ละ 2-3 ตัวตามความเหมาะสม เลี้ยงใน  
ห้องที่ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่  $25.0 \pm 2.0$  องศาเซลเซียส ที่ตั้งเวลาเปิดของแสงไฟในห้องเลี้ยง  
ในช่วงเวลา 06:00-18:00 น. และได้รับอาหารเม็ด (สูตร G082, สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ ม.  
มหิดล) และน้ำอย่างบริบูรณ์

ผู้วิจัยได้วางแผนการแบ่งกลุ่มหนูทดลองออกเป็น 8 กลุ่ม รวมกลุ่มละประมาณ 9-12 ตัว  
แต่เนื่องจากหนูแก่มีจำนวนจำกัด ซึ่งไม่เพียงพอในการทำการทดลองทั้งหมดในเวลาเดียวกัน  
ผู้วิจัยจึงได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง และสืบเนื่องจากฤดูกาลของผลไม้ ซึ่งพบว่ามะม่วงจะ  
ออกมากในช่วงฤดูร้อนและมีราคาไม่แพง สำหรับมะละกอและมะพร้าวสามารถหาซื้อได้ทุกฤดูกาล  
จึงทำให้หนูกลุ่มที่ได้รับมะม่วงมีจำนวนหนูมากกว่ากลุ่มอื่นๆ โดยหนูทดลองชุดที่ 1 ที่นำมาทำการ  
ทดลอง มีจำนวนรวมทั้งหมด 48 ตัว อายุเริ่มต้นก่อนการทดลองประมาณ 20-22 เดือน แบ่งเป็น

- 1) หนูเพศผู้กลุ่มควบคุม (control male rats) ได้รับน้ำกลั่น จำนวน 11 ตัว
- 2) หนูเพศเมียกลุ่มควบคุม (control female rats) ได้รับน้ำกลั่น จำนวน 12 ตัว
- 3) หนูเพศผู้กลุ่มที่ได้รับมะม่วงสุก (mango treated male rats) จำนวน 9 ตัว
- 4) หนูเพศเมียกลุ่มที่ได้รับมะม่วงสุก (mango treated female rats) จำนวน 12 ตัว
- 5) หนูเพศผู้กลุ่มที่ได้รับมะละกอสุก (papaya treated male rats) จำนวน 11 ตัว
- 6) หนูเพศเมียกลุ่มที่ได้รับมะละกอสุก (papaya treated female rats) จำนวน 11 ตัว

7) หนูเพศผู้กลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (YJC treated male rats) จำนวน 12 ตัว

8) หนูเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (YJC treated female rats) จำนวน 10 ตัว

### 3.2 การเตรียมน้ำผลไม้

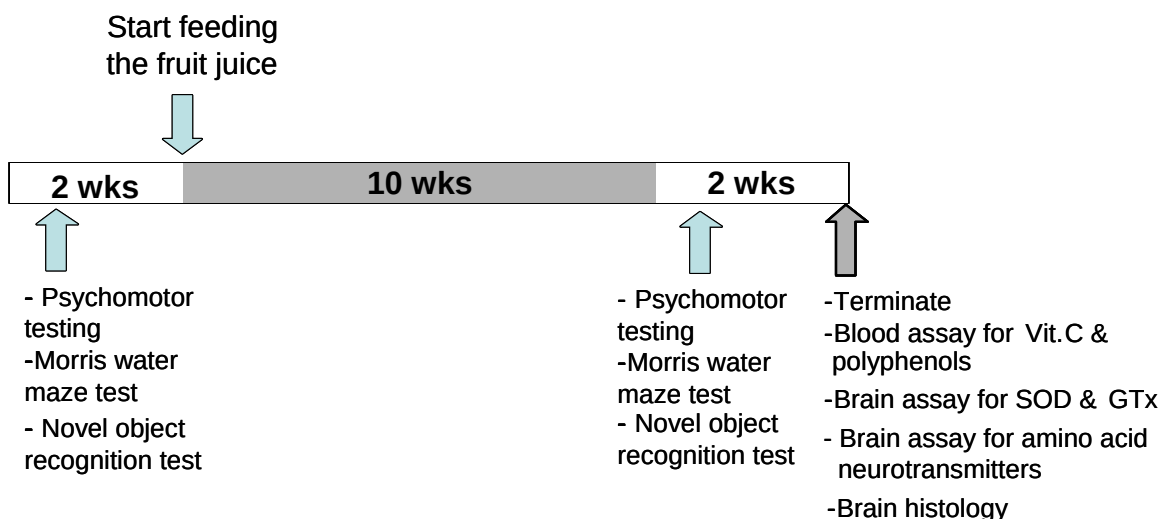
ผลไม้ที่จะนำมาทดสอบ ได้แก่ มะม่วงสุก (พันธุ์น้ำดอกไม้) มะละกอสุก (พันธุ์ฮอลแลนด์) และมะพร้าวอ่อนจะซื้อจากห้างสรรพสินค้าแมคโคร จ.พิษณุโลก หรือจากตลาดเทศบาล อ.เมือง จ.พิษณุโลก สำหรับผลมะม่วงสุกและมะละกอสุกได้นำมาปอกเปลือกออก ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และนำมาปั่นเพื่อแยกส่วนน้ำผลไม้และกาก โดยหนูแต่ละกลุ่มได้รับผลไม้ปั่นเหลวด้วยปริมาตร 1 มล./100 ก. นน.ตัว (ดังแสดงในตารางที่ 1) สำหรับน้ำมะพร้าวอ่อนจะนำไปป้อนให้แก่หนูทดลองด้วยปริมาตร 1 มล./100 ก. นน.ตัว

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบน้ำหนักตัวของหนูทดลองกับปริมาตรและปริมาณผลไม้ปั่นที่ป้อน

| Rat's B.W.<br>(g) | Fresh Fruit |            | Water or Young<br>Coconut Juice |
|-------------------|-------------|------------|---------------------------------|
|                   | Volume (ml) | Weight (g) | Volume (ml)                     |
| 300               | 3           | 3.18       | 3                               |
| 350               | 3.5         | 3.71       | 3.5                             |
| 400               | 4           | 4.24       | 4                               |
| 450               | 4.5         | 4.77       | 4.5                             |
| 500               | 5           | 5.3        | 5                               |
| 550               | 5.5         | 5.83       | 5.5                             |
| 600               | 6           | 6.36       | 6                               |
| 650               | 6.5         | 6.89       | 6.5                             |
| 700               | 7           | 7.42       | 7                               |
| 750               | 7.5         | 7.95       | 7.5                             |
| 800               | 8           | 8.48       | 8                               |

### 3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยทั้งหมดนี้จะศึกษาที่หน่วยวิจัยทางประสาทวิทยาศาสตร์ (MD411) ภาควิชา สรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ และศูนย์ปฏิบัติการกลาง คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.นเรศวร ซึ่งมีวิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อดังนี้



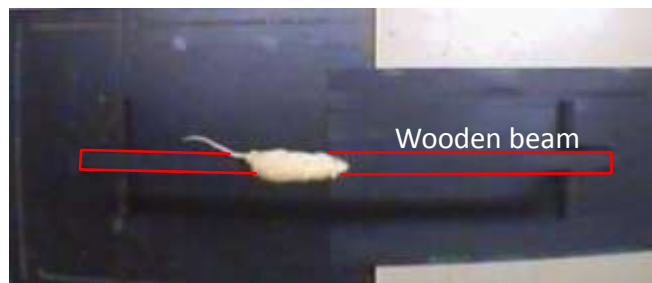
แผนผังที่ 1 ลำดับขั้นตอนการทดสอบ โดยเริ่มจากการทดสอบการทำงานของระบบประสาทมอเตอร์และประเมินความสามารถในการเรียนรู้และความจำในหนูแก่ประมาณ 2 สัปดาห์ก่อนเริ่มให้น้ำผลไม้ หลังจากให้บริโภคน้ำผลไม้เป็นเวลาประมาณ 10 สัปดาห์ จะทำการการทดสอบการทำงานของระบบประสาทมอเตอร์ และประเมินความสามารถในการเรียนรู้และความจำอีกครั้งใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์ จากนั้นถูกทำให้ตายอย่างสงบ เพื่อแยกเนื้อสมองส่วนฮิปโปแคมปัสมาศึกษาทางชีวเคมี เช่น การศึกษาระดับของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และ glutathione peroxidase (GTx) แบ่งสมองจากหนู สำหรับทำการศึกษาทาง histology เพื่อบันทึกจำนวนเซลล์ประสาท และหาสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส

#### 3.3.1 การทดสอบทางพฤติกรรม

3.3.1.1 Psychomotor test เป็นชุดทดสอบด้านพฤติกรรมเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวและการทรงตัว เพื่อประเมินความบกพร่องของระบบประสาทมอเตอร์ในหนูแก่ตามธรรมชาติ (Ingram, 1985; Willis et al., 2009) ได้แก่

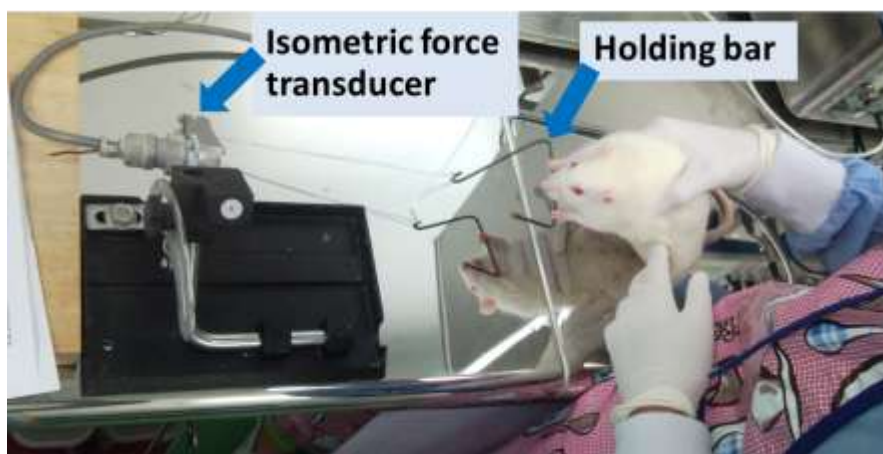
1) Beam walking test เพื่อประเมินการทรงตัว โดยให้หนูไต่บนท่อนไม้ขนาด (ก x ย x ส) 1.5 x 200 x 30 ซม.<sup>3</sup> (รูปที่ 10) พฤติกรรมของหนูได้ถูกบันทึกไว้เพื่อวัดการทดลอง

และใช้โปรแกรม Anymaze video tracking system (Stoelting Co., USA) วิเคราะห์หาระยะทาง และเวลานับตั้งแต่เริ่มปล่อยจนกระทั่งหนูตกจากพ่อนไม้ (latency to fall)



**รูปที่ 10** beam walking test (ซ้าย) สำหรับทดสอบการทำงานของระบบประสาทมอเตอร์ในหนูแก่ โดยให้หนูเดินบนคานไม้ (wooden beam) แล้วบันทึกวิดีโอเพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Anymaze

2) Grip strength test เพื่อประเมินแรงยึดจับวัตถุของอุ้งเท้าหน้าทั้งคู่ของหนู โดยให้หนูใช้เท้าหน้ายึดเหนี่ยวหลอดโลหะไว้ (รูปที่ 11) แล้วผู้วิจัยจึงค่อยๆ จับลำตัวหนูดึงออกห่าง จนกระทั่งหนูปล่อยตะแกรงที่ยึดเกาะทั้งสองมือ โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง แรงยึดเกาะจะถูกแปลงเป็นศักย์ไฟฟ้าด้วย isometric force transducer (Grass model TF10, USA) ที่พ่วงต่อกับเครื่อง Bridge-Amp (model ML101, ADInstruments, Australia) และ PowerLab 4/25T (ADInstruments) แรงยึดเหนี่ยวจะถูกแสดงเป็นกราฟเส้นด้วยโปรแกรม Chart version 5.4 (ADInstruments)



**รูปที่ 11** อุปกรณ์เปลี่ยนแรงดึงให้เป็นศักย์ไฟฟ้า (isometric force transducer, model FT03, Grass Technologies, USA) และวิธีการทดสอบ grip strength test ในหนูแก่

3) Rotarod trademil test เพื่อประเมินการประสานงานของกล้ามเนื้อ การทรงตัว และความทนทานในการไต่บนแกนหมุน ด้วยเครื่อง rotarod (TSE RotaRod System, TSE Systems International Group, Germany) ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแกนหมุน 5 มม. ตั้งความเร็วในการหมุนไว้คงที่ที่ 13 รอบต่อนาที โดยผู้วิจัยจะจับเวลาตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งเวลาที่หนูตกลงจากแกนหมุน (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 ชุดทดสอบการทรงตัวและความทนทานในการไต่บนแกนหมุน (TSE RotaRod System, TSE Systems International Group, Germany)

สำหรับสมมุติฐานการวิจัยนี้คือ ถ้าน้ำผลไม้ดังกล่าวสามารถช่วยในการทำงานของระบบประสาทมอเตอร์ หนูทดลองที่ได้รับน้ำผลไม้ทุกวันนาน 3 เดือน น่าจะมีการทรงตัวบนท่อนไม้ แรงยึดจับ และความทนทานในการไต่บนแกนหมุนได้ดีกว่าหนูในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**3.3.1.2 Cognitive function test** เป็นชุดทดสอบด้านพฤติกรรมเกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำ เพื่อประเมินความบกพร่องของระบบประสาทส่วนลิมบิกของหนูแก่ตามธรรมชาติ (Rodefer and Baxter, 2007; Wilson et al., 2004) สำหรับงานวิจัยนี้จะทำการทดสอบ 2 วิธี ได้แก่ 1) Morris water maze (MWM) test, และ 2) Novel object recognition (NOR) test

**1) Morris water maze test** เป็นการทดสอบฤทธิ์ของน้ำผลไม้ต่อความจำเกี่ยวกับทิศทางและสถานที่ (spatial memory) ถูกคิดค้นโดย Morris และคณะ ในปี ค.ศ. 1984

ในวันแรกของการทดสอบจะปล่อยหนูทดลองให้คุ้นเคยกับการว่ายน้ำเป็นเวลาประมาณ 90 วินาที โดยจะวางแท่นได้น้ำไว้ในอ่างทรงกลม วันต่อมาจะฝึกวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลาทั้งสิ้น 14 วัน การปล่อยหนูจะทำการปล่อยตามสัญลักษณ์ทั้งหมด 3 จุด (ยกเว้นจุดหรือ zone ที่มีแท่นได้น้ำอยู่) และจะจับเวลาตั้งแต่ปล่อยหนูทดลองจนกระทั่งหนูค้นหาแท่นได้น้ำเจอเป็นค่า

escape latency ซึ่งจะกำหนดเวลาไว้ไม่เกิน 90 วินาที จากนั้นจะปล่อยให้หนูอยู่บนแท่นเป็นเวลาไม่เกิน 10 วินาที หากหนูตัวใดที่ไม่สามารถค้นหาแท่นได้น้ำจะภายในเวลา 90 วินาที ผู้วิจัยจะจับให้หนูขึ้นอยู่บนแท่น เป็นเวลานาน 10 วินาที ทั้งนี้หนูต้องหาแท่นที่อยู่ใต้น้ำให้พบ มีการบันทึกค่าเวลาที่หนูใช้ในการว่ายน้ำเพื่อหาแท่นได้น้ำ (escape latency) และในวันสุดท้ายจะทำการทดสอบแบบ probe trial โดยจะนำแท่นออก แล้วแบ่งพื้นที่ในอ่างทรงกลมเป็น 4 โซน (รูปที่ 13) จากนั้นจับเวลาที่หนูว่ายน้ำในแต่ละโซน เพื่อที่จะเช็คความสามารถของหนูในการดึงเอาความจำเก่าออกมาใช้ (retention memory) ผู้วิจัยบันทึกภาพเคลื่อนไหวโดยใช้กล้องวิดีโอวงจรปิดสำหรับใช้โปรแกรม Any-maze video tracking system (Stoelting Co., USA) วิเคราะห์หาระยะเวลาที่หนูว่ายน้ำในแต่ละโซน

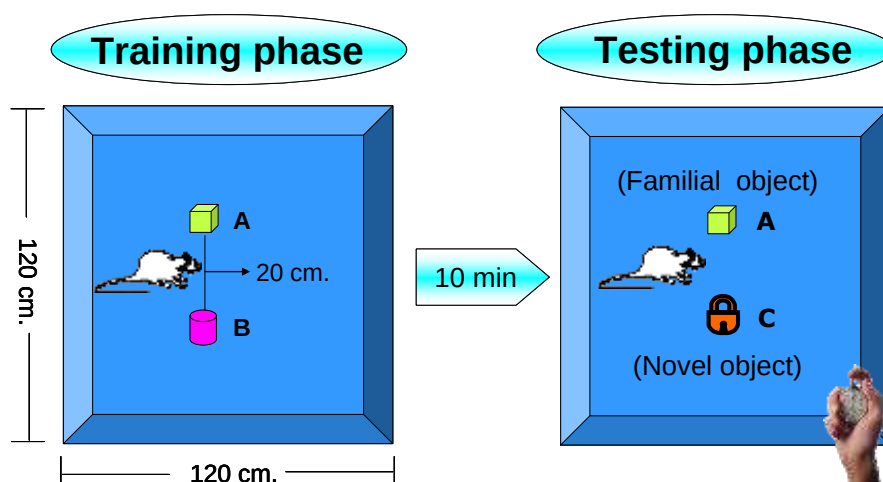


รูปที่ 13 ชุดทดสอบความจำเกี่ยวกับทิศทางและสถานที่ด้วย Morris Water Maze (ซ้าย) และผลการวิเคราะห์เส้นทางการว่ายน้ำ (ขวา) ด้วยโปรแกรม Anymaze (version 4.7, Stoelting Co., USA)

สำหรับสมมุติฐานการวิจัยนี้คือ หนูแก่ที่ได้รับน้ำผลไม้ไม่น่าจะมีความสามารถในการเรียนรู้และความจำเกี่ยวกับสถานที่ได้ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมที่ได้รับเฉพาะน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และหลังจากเขาแท่นได้น้ำออกในช่วงทดสอบ probe trial หนูแก่กลุ่มที่ได้รับน้ำผลไม้ไม่น่าจะใช้เวลาในการว่ายน้ำหาแท่นในโซนที่เคยมีแท่นมาก่อน (โซน 2) มากกว่าโซนอื่นๆ หากเป็นเช่นนั้น ก็แปลผลว่าน้ำผลไม้ไม่มีผลช่วยเสริมความจำ โดยเฉพาะการดึงข้อมูลในอดีต

2) Novel object recognition test เป็นการทดสอบความคุ้นเคยต่อวัตถุที่เคยเห็นหรือสัมผัสก่อนหน้านี้ในเวลาผ่านไปเพียงไม่กี่นาที ว่าสามารถจำได้หรือไม่ ซึ่งตามธรรมชาติหนูจะเป็นสัตว์ที่มีนิสัยอยากรู้อยากเห็นในสิ่งใหม่ๆ (novel object) เปรียบเสมือนกับ exploratory behavior อย่างหนึ่ง (Hoge and Kesner, 2007; Mumby, 2001) โดยการทดสอบจะใช้วัตถุที่มี

รูปร่างและสีสรรแตกต่างกัน เช่น ถ้วยกระเบื้อง แจกัน และตัวต่อเลโก้ เป็นต้น เลือกวัตถุที่ต่างกัน 2 อัน (วัตถุ A กับ B) วางห่างกันประมาณ 20 ซม. ภายในกล่องศึกษาพฤติกรรม (รูปที่ 14) การทดสอบเริ่มจากการปล่อยหนูภายในกล่องศึกษาพฤติกรรม หรือ ช่วง training phase ผู้วิจัยจะทำการจับเวลาที่หนูคลุกคลีกับวัตถุอันใดอันหนึ่ง โดยใช้เวลาประมาณ 5 นาที จากนั้นนำหนูกลับเข้ากรงเลี้ยงประมาณ 10 นาที ระหว่างนี้ผู้วิจัยจะทำความสะอาดวัตถุทั้งสองแล้วเปลี่ยนอันใดอันหนึ่งเป็นวัตถุอันใหม่ (C) ตัวอย่างเช่น วางวัตถุ B กับ C ณ ตำแหน่งเดิมเป็นต้น จากนั้นเริ่มปล่อยหนูกลับไปในการทดสอบอีกครั้ง หรือเรียกว่าช่วง testing phase ผู้วิจัยทำการจับเวลาที่หนูคลุกคลีกับวัตถุ B กับ C ซึ่งถ้าหนูยังใช้เวลาอยู่กับวัตถุ B มากกว่าวัตถุ C อย่างมีนัยสำคัญจะถือว่าหนูจำวัตถุเดิมที่เคยคลุกคลีไม่ได้ ผลการทดลองจะถูกบันทึกอย่างต่อเนื่องด้วยกล้องบันทึกภาพวิดีโอที่ติดตั้งภายในกล่องศึกษาพฤติกรรม แล้วใช้โปรแกรม Anymaze video tracking system (Stoelting Co., USA) วิเคราะห์หาระยะเวลาที่หนูเข้าใกล้วัตถุแต่ละชิ้น



รูปที่ 14 ชุดทดสอบการจดจำวัตถุที่เคยเห็นหรือสัมผัสก่อนหน้านี้ หรือ Novel Object Recognition โดยวิธีการทดสอบจะแบ่งออกเป็น 2 เฟส คือ training phase (ซ้าย) และ testing phase (ขวา)

ผู้วิจัยนำข้อมูลระยะเวลาในการสำรวจวัตถุเดิม (A) และวัตถุใหม่ (C) มาคำนวณค่าดัชนีความจำของหนูแต่ละตัวซึ่งคิดได้จากสูตร

$$\text{Object Recognition Index} = [TC / (TA + TC)] \times 100$$

โดยที่ TA เป็นเวลาที่หนูสำรวจวัตถุชิ้น A ในช่วง training phase

TC เป็นเวลาที่หนูสำรวจวัตถุชิ้น C ในช่วง testing phase

สำหรับสมมุติฐานการวิจัยนี้คือ หนูแก่ที่ได้รับน้ำผลไม้ติดต่อกันนาน 3 เดือน น่าจะมีความสามารถในการจำวัตถุที่คุ้นเคยได้ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมที่ได้รับเฉพาะน้ำกลั่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยจะใช้เวลาสำรวจวัตถุอันใหม่ (C) นานกว่าวัตถุอันเก่า (A) หรือมีค่า Recognition index สูงกว่า

### 3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

#### 3.3.2.1 การวัดระดับวิตามินซีในน้ำผลไม้

นำผลไม้มาล้างให้สะอาด แล้วปอกเปลือกและแยกเมล็ดออกก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก แล้วนำชิ้นผลไม้ (มะม่วง มะละกอ) และน้ำมะพร้าวอ่อนไปปั่นเพื่อแยกน้ำและส่วนกาก แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้ตกตะกอน จากนั้นนำ supernatant จากตัวอย่างน้ำผลไม้ 100 ไมโครลิตร ใส่หลอด Eppendorff เติมสารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร (working standard และ internal standard ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ) ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 1,000x g ประมาณ 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนแยกออกใส่หลอด Eppendorff แล้วนำไประเหยแห้งด้วย nitrogen gas เมื่อสารละลายระเหยจนหมด จะเหลือตะกอนอยู่ เติม methanol ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อเจือจาง

การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีและเบต้าแคโรทีนในน้ำผลไม้ จะทำตามวิธีของ Ross และคณะ (Ross et al., 1994) และ Vinci และคณะ (Vinci et al., 1995) โดยการนำตัวอย่างสารสกัดผลไม้แต่ละชนิด กรองผ่าน Syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เข้าสู่ HPLC Column (Luna 5 $\mu$ M C18(2) 100A Size 250x4.6 mm.) โดยสถานะของเครื่องในขบวนการแยกสารใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมของสารละลาย A (Methanol) และสารละลายบัฟเฟอร์ B (0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) pH 4.40 ในอัตราส่วน 60% : 40% ซึ่งสารละลาย mobile phase นี้กำหนดอัตราการไหล (flow rate) ไว้ที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิในการวิเคราะห์ที่ 25 องศาเซลเซียส สารวิตามินซีที่ผ่านกระบวนการแยกจะถูกส่งไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Detector ที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร และใช้ซอฟต์แวร์ทำการประมวลผลกราฟโครมาโตแกรม

#### 3.3.2.2 การวัดระดับเบต้าแคโรทีนในน้ำผลไม้

นำผลไม้มาล้างให้สะอาด แล้วปอกเปลือกและแยกเมล็ดออกก่อนนำไปชั่งน้ำหนัก นำตัวอย่างสารสกัดผลไม้แต่ละชนิด กรองผ่าน Syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เข้าสู่ HPLC Column (Luna 5  $\mu$ M C18(2) 100A Size 250x4.6



mm.) โดยสภาวะของเครื่องในขบวนการแยกสารใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมของสารละลาย A (Methanol) และสารละลาย B (Acetonitrile) เริ่มจาก 0.01-30 นาที ใช้อัตราส่วนสารละลาย A ลดอัตราส่วนลงจาก 50-10% และที่เวลาตั้งแต่ 30 นาที เป็นต้นไปให้อัตราส่วน mobile phase กลับมาเริ่มต้นที่ 50% : 50% ซึ่งสารละลาย mobile phase นี้กำหนดอัตราการไหล (flow rate) ไว้ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิในการวิเคราะห์ที่ 30 องศาเซลเซียส สารเบต้าแคโรทีนที่ผ่านกระบวนการแยกจะถูกส่งไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Detector ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และใช้ซอฟต์แวร์ทำการประมวลผลกราฟโครมาโตแกรม

### 3.3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลในน้ำผลไม้

นำตัวอย่างสารสกัดผลไม้แต่ละชนิด กรองผ่าน Syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เข้าสู่ HPLC Column (Luna 5  $\mu$ M C18(2) 100A Size 250x4.6 mm.) โดยสภาวะของเครื่องในขบวนการแยก 1) สาร Gallic acid ใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมของสารละลาย A (Acetonitrile) และสารละลาย B (0.1% Acetic acid) ในอัตราส่วน 5% : 95% ซึ่งสารละลาย mobile phase นี้กำหนดอัตราการไหล (flow rate) ไว้ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิในการวิเคราะห์ที่ 25 องศาเซลเซียส สาร Gallic acid ที่ผ่านกระบวนการแยกจะถูกส่งไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Detector ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร 2) สาร Catechin ใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมของสารละลาย A และสารละลาย B ในอัตราส่วน 20% : 80% ซึ่งสารละลาย mobile phase นี้กำหนดอัตราการไหล (flow rate) ไว้ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิในการวิเคราะห์ที่ 25 องศาเซลเซียส สาร Catechin ที่ผ่านกระบวนการแยกจะถูกส่งไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Detector ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร 3) สาร Caffeic acid ใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมของสารละลาย A และสารละลาย B ในอัตราส่วน 20% : 80% ซึ่งสารละลาย mobile phase นี้กำหนดอัตราการไหลไว้ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิในการวิเคราะห์ที่ 25 องศาเซลเซียส สาร Caffeic acid ที่ผ่านกระบวนการแยกจะถูกส่งไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Detector ที่ความยาวคลื่น 320 นาโนเมตร 4) สาร Quercetin ใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมของสารละลาย A และสารละลาย B ในอัตราส่วน 35% : 65% ซึ่งสารละลาย mobile phase นี้กำหนดอัตราการไหลไว้ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิในการวิเคราะห์ที่ 25 องศาเซลเซียส สาร Quercetin ที่ผ่านกระบวนการแยกจะถูกส่งไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Detector ที่ความยาวคลื่น 360 นาโนเมตร และใช้ซอฟต์แวร์ทำการประมวลผลกราฟ โครมาโตแกรม

### 3.3.2.4 การวัดระดับวิตามินซีในเลือด

นำพลาสมา (blank) 100 ไมโครลิตร ใส่หลอด Eppendorff เติมสารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร (working standard และ internal standard ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ) ผสมให้เข้ากัน จากนั้นตกตะกอนโปรตีนด้วย (60% methanol + 1mM EDTA) 400 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 นาที แล้วนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ประมาณ 8 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนแยกออกใส่หลอด Eppendorff แล้วนำไประเหยแห้งด้วย nitrogen gas เมื่อสารละลายระเหยจนหมด จะเหลือตะกอนอยู่ เติม methanol ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อเจือจาง แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC และนำค่า area ที่ได้มาสร้าง plasma calibration curve หาสมการและหาค่า  $R^2$

การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในพลาสมา ผู้วิจัยได้ทำตามวิธีของ Ross และคณะ (Ross et al., 1994) โดยนำตัวอย่างพลาสมา 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย (60% methanol + 1mM EDTA) ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 rpm ประมาณ 8 นาที ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนแยกออกใส่หลอด Eppendorff แล้วนำไประเหยแห้งด้วย nitrogen gas เมื่อสารละลายระเหยจนหมด จะเหลือตะกอนอยู่ เติม methanol ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC และเครื่อง UV detector โดยใช้ mobile phase คือ 0.05 M sodium acetate buffer (pH 4.3) และ methanol ในอัตราส่วน 90:10 ตั้งค่าอัตราการไหลของ mobile phase ที่ 1.0 มล/นาที ตั้งค่าอุณหภูมิของ column oven ที่ 30 องศาเซลเซียส และตั้งค่าการดูดกลืนแสงของเครื่อง UV detector ที่ 230 นาโนเมตร

### 3.3.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลในเลือด

นำพลาสมา (blank) 200 ไมโครลิตร ใส่หลอด Eppendorff เติมสารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร (working standard + internal standard ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ) ผสมให้เข้ากัน ตกตะกอนโปรตีนด้วย ethyl acetate 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ประมาณ 30 วินาที แล้วนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,000g ประมาณ 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนแยกออกใส่หลอด Eppendorff แล้วนำไประเหยแห้งด้วย nitrogen gas ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายระเหยจนหมด จะเหลือตะกอนอยู่ เติม 10% acetonitrile ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นตกตะกอนอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 3,000g ประมาณ 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC และนำ area ที่ได้มาสร้าง plasma calibration curves และหาค่า  $R^2$

การวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลในพลาสมา ผู้วิจัยได้ทำตามวิธีของ Fu และคณะ (Fu et al., 2008) นำตัวอย่างพลาสมา 200 ไมโครลิตร ใส่หลอด Eppendorff เติมสารละลาย internal standard 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตกตะกอนโปรตีนด้วย ethyl acetate 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ประมาณ 30 วินาที แล้วนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,000g ประมาณ 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดสารละลายส่วนใสด้านบนแยกออกใส่หลอด Eppendorff แล้วนำไประเหยแห้งด้วย nitrogen gas ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายระเหยจนหมด จะเหลือตะกอนอยู่ เติม 10% acetonitrile ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นตกตะกอนอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 3,000g ประมาณ 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC และเครื่อง UV detector โดยจะใช้ mobile phase คือ 0.1% citric acid และ acetonitrile ในอัตราส่วน 86 : 14 ตั้งค่าอัตราการไหลของ mobile phase ที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ตั้งค่าอุณหภูมิของ column oven ที่ 30 องศาเซลเซียส และตั้งค่าการดูดกลืนแสงของเครื่อง UV detector ที่ 280 นาโนเมตร

### 3.3.3 การวัดปริมาณสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโน และเอนไซม์ Super oxide dismutase และ Glutathione peroxidase ในสมอง

#### 3.3.3.1 การเตรียมเนื้อเยื่อสมอง

เมื่อทำการทดสอบพฤติกรรมเสร็จสิ้นแล้วในวันถัดมาหนูทดลองถูกฆ่าโดยหนูทดลองถูกฉีดด้วยยาสลบ urethane ขนาด 2 ก/กก น้ำหนักตัว เข้าทางช่องท้อง จากนั้นจึงทำการตัดศีรษะด้วยเครื่องตัดศีรษะ (decapitator) เลาะเอาสมองออกมาแยกส่วนโดยจะเก็บเฉพาะสมองส่วน hippocampus มาทำการวิเคราะห์ค่าระดับปริมาณสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโน การทำงานของเอนไซม์ super oxide dismutase (SOD) และ glutathione peroxidase (GTx) จะทำตามวิธีการที่ระบุไว้ในชุดทดสอบและรายงานการประชุมวิชาการของ Sombuthaweekul และคณะ (Sombuthaweekul et al., 2009) Preedapirom และคณะ (Preedapirom et al., 2009)

การทดสอบเริ่มจาก ชั่งน้ำหนักสมองส่วน hippocampus ก่อนนำไปใส่ในหลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร และเติม phosphate buffer ที่อัตราส่วน 5 มิลลิลิตร ต่อชิ้นส่วนของสมอง 2 กรัม. จากนั้นทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็วระดับ 5 เป็นเวลานานประมาณ 3 นาที หรือจนเห็นว่าเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 3,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บน้ำสมองที่เป็นของเหลวลอยอยู่ส่วนบน (supernatants) เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าการทำงานของเอนไซม์ SOD และ GPx หรือนำน้ำ

สมองไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์หาสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนต่อไป

### 3.3.3.2 การวัดทำงานของเอนไซม์ Super oxide dismutase (SOD)

ในการศึกษานี้จะใช้การตรวจวัดระดับ superoxide dismutase activity เพื่อศึกษาเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของผลไม้ที่ให้หนูทดลองบริโภคว่ามีการออกฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ SOD ในสมองหรือไม่ โดยเอนไซม์ SOD จะเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน superoxide anion ให้เป็น oxygen และ hydrogen peroxide นั้นจัดเป็นซึ่งเป็นกลไกการต้านอนุมูลอิสระหนึ่งที่สำคัญซึ่งมีหลักการในการตรวจวัด คือใช้ tetrazolium salt ในการตรวจจับ superoxide anion ซึ่งเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของ xanthine oxidase และ hypoxanthine โดยหนึ่งหน่วยของเอนไซม์ SOD หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเกิด dismutation ในปริมาณ 50% ของ superoxide anion

การตรวจวัดระดับ enzyme activity ของ SOD เริ่มจากการเตรียม SOD standard ที่ระดับ activity 0, 4, 8, 20, 40, 80, 200 และ 400 ยูนิท/มิลลิลิตร และเตรียม 1X SOD buffer, master mix และ 1X xanthine solution โดยเติม 1X SOD buffer 25 ไมโครลิตร ลงใน activity control well, SOD standard 25 ไมโครลิตร ลงใน standard well และใส่ sample 25 ไมโครลิตร ลงใน well ที่ใช้วัดค่าการทำงานของเอนไซม์ของแต่ละ sample เติม master mix 150 ไมโครลิตร ลงในทุก well ของ microplate แล้วเติม 1X xanthine solution 25 ไมโครลิตร ลงในทุก well อย่างรวดเร็วด้วย multichannel pipette ซึ่งถือเป็นการเริ่มปฏิกิริยา จากนั้นทำการ shake well plate นาน 10 วินาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ทุก 1 นาที จำนวน 10 ครั้ง และพักไว้ 10 นาที จากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้ง

การคำนวณ SOD activity จาก supernatant ที่ได้ภายหลังการ homogenize ทำโดยการใชักราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยคำนวณค่า average absorbance ของแต่ละ standard และ sample หาค่า absorbance ของ standard A ด้วยค่า absorbance ของ standard A และหาค่า linearized rate (LR) โดยใช้ค่า absorbance ของ standard A เป็นตัวตั้ง แล้วหารด้วยค่า absorbance ของ standard อื่นๆ รวมทั้งของ sample แล้ว plot linearized SOD standard rate (LR) ซึ่งถือว่าเป็น standard curve นำค่า y intercept และ slope ที่ได้จาก standard curve มาแทนในสมการด้านล่าง

$$\text{SOD(U/ml)} = \left[ \left( \frac{\text{Sample LR} - y \text{ intercept}}{\text{slope}} \right) \times \frac{0.2\text{ml}}{0.025\text{ml}} \right] \times \text{Sample dilution}$$

### 3.3.3.3 การวัดทำงานของเอนไซม์ glutathione peroxidase

ใช้ชุดวิเคราะห์ค่าการทำงานของเอนไซม์ GPx โดยมีหลักการคือ เอนไซม์ GPx ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของ สารประกอบ hydrogen peroxide ได้แก่ lipid peroxide (ROOH) และ  $\text{H}_2\text{O}_2$  โดยมี glutathione (GSH) ร่วมในปฏิกิริยา เกิดเป็น oxidized glutathione (GSSH) และ  $\text{H}_2\text{O}$  จากนั้นเอนไซม์ glutathione reductase (GR) จะเร่งปฏิกิริยารีดักชันของ GSSH โดยมี nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) ร่วมในปฏิกิริยา เกิดเป็น GSH และ  $\text{NADP}^+$  และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของ  $\text{NADP}^+$  ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร การทดสอบค่าการทำงานของเอนไซม์ GPx จะใช้ภาชนะที่มี 96 หลุม โดยเริ่มจาก 1) เติมน้ำ buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลุม blank ปริมาตร 160 ไมโครลิตร ลงในหลุมควบคุม control (ซึ่งถือเป็น background) ปริมาตร 140 ไมโครลิตร ลงในหลุม standard และหลุม sample 2) เติมน้ำ reaction mix ที่มีส่วนผสมของ GR GSH และ NADPH ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุม control หลุม standard และหลุม sample 3) เติมน้ำเอนไซม์ GPx ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุม standard 4) เติมน้ำ sample ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงในหลุม sample และ 5) เติมน้ำ cumene hydroperoxide ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุม control หลุม standard และหลุม sample รวมปริมาตรในแต่ละหลุมเท่ากับ 200 ไมโครลิตรนำไปเขย่าบนเครื่องอ่านค่าการดูดกลืนแสง 10 วินาที และอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ( $\Delta A_{340}$ ) ทุกๆ 1 นาที เป็นเวลาทั้งหมด 10 นาที

วิธีการคำนวณหาค่าการทำงานของเอนไซม์ GPx คือนำ  $\Delta A_{340}$  ที่ได้ไปคำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงต่อนาที (หรือเรียกว่า  $\Delta A_{340}/\text{min.}$ ) จากสูตร

$$\Delta A_{340}/\text{min.} = \frac{\Delta A_{340} (\text{Time 2}) - \Delta A_{340} (\text{Time 1})}{\text{Time 2 min.} - \text{Time 1 min.}}$$

จากนั้นนำค่า  $\Delta A_{340}/\text{min.}$  (ที่ได้จากสูตรข้างต้น) ของ sample และ standard ลบออกด้วยค่า  $\Delta A_{340}/\text{min.}$  ของ background และนำผลลัพธ์  $\Delta A_{340}/\text{min.}$  ของ sample ที่ได้มาคำนวณหาค่าการทำงานของเอนไซม์ GPx (GPx activity)

### 3.3.3.4 การวัดระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนในฮิปโปแคมปัส

การวิเคราะห์ปริมาณสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนได้แก่ แอสปาเตท กลูตาเมต เซอรีน กลูตามีน ไกลซีน และกาบา เป็นต้น จะทำโดยการนำ supernatant ที่ได้จากสมองส่วนฮิปโปแคมปัส มาวิเคราะห์ โดยการฉีดเข้าเครื่อง HPLC ที่ต่อกับเครื่อง fluorescence detector (model 474, Waters Corp., Massachusetts, USA) ตามวิธีของ Lindorth และ Mopper (1979)

ขั้นตอนในการวิเคราะห์เริ่มจากการนำตัวอย่าง supernatant ออกจากตู้แช่แข็ง ณ อุณหภูมิ  $-80^{\circ}\text{C}$  มาตั้งไว้รอให้ละลายที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1 นาที จากนั้นใช้ autopipette ดูด supernatant ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ลงใน reaction tube แล้วเติม derivatizing agent ที่มีส่วนผสมของ OPA และ  $\beta$ -mercaptoethanol ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer จับเวลา 2 นาที จากนั้นจึงใช้ microsyringe (Hamilton, Reno, NV, USA) ฉีดส่วนผสม 25 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง HPLC ผ่านทาง manual injector (model 7725, Rheodyne, Shimadzu, Japan) เข้าสู่ HPLC column ที่มี Spherisorb<sup>®</sup> 5  $\mu\text{m}$  ODS2 particle (Waters Corp.) เป็น stationary phase ในกระบวนการแยกสารนี้ใช้ gradient run ของ mobile phase ที่เป็นสารละลายของส่วนผสมของสารละลาย A (methanol) (HPLC grade, Lab-Scan Analytical Sciences, Lab-Scan Asia Co., Ltd., Thailand) และสารละลาย B ซึ่งเป็นบัฟเฟอร์ (buffer) ที่ประกอบด้วย  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Riedel-de Haën, Germany) 0.038 M และ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Riedel-de Haën, Germany) 0.012 M ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ  $7.4 \pm 0.2$  โปรแกรม CLASS-VP Software ทำหน้าที่ควบคุม system controller (model SCL-10 AVP, Shimadzu) ในการกำหนดสัดส่วนของสารละลาย B และ A ตามช่วงระยะเวลาต่างๆ ดังนี้ 1) ช่วงเวลา 0 – 7 นาที เป็น 80% : 20% 2) ช่วงเวลา 7 - 22 นาที เป็น 70% : 30% 3) ช่วงเวลา 22 - 32 นาที เป็น 60% : 40% 4) ช่วงเวลา 32 - 35 นาที เป็น 80% : 40% และ 4) ช่วงเวลาจาก 35 นาทีจนถึงระบบกลับเข้าสู่สภาวะคงที่ เป็น 80% : 20% mobile phase นี้จะ flow เข้าสู่เครื่อง HPLC ด้วย solvent delivery module (LC-10AD vp, Shimadzu) ด้วยระบบปั๊มแบบ dual piston pump โดยมีเครื่อง degasser (DGU-14A, Shimadzu) ทำหน้าที่กำจัดฟองอากาศออกจาก mobile phase ก่อนเข้าสู่ HPLC column ที่ติดตั้งอยู่ใน column oven (CTO-AS vp, Shimadzu) โดยกำหนดอัตราการไหล (flow rate) ไว้ที่ 1 มิลลิลิตร/นาที สารอนุพันธ์กรดอะมิโนที่ผ่านการแยกด้วย HPLC column นี้จะถูกส่งต่อไปที่เครื่อง scanning fluorescent detector โดยกำหนดค่าความยาวคลื่นของการกระตุ้น (excitation wavelength) ไว้ที่ 330 นาโนเมตร และการปลดปล่อยพลังงาน (emission wavelength) ไว้ที่ 418 นาโนเมตร

### 3.3.4 การศึกษาเนื้อเยื่อสมอง

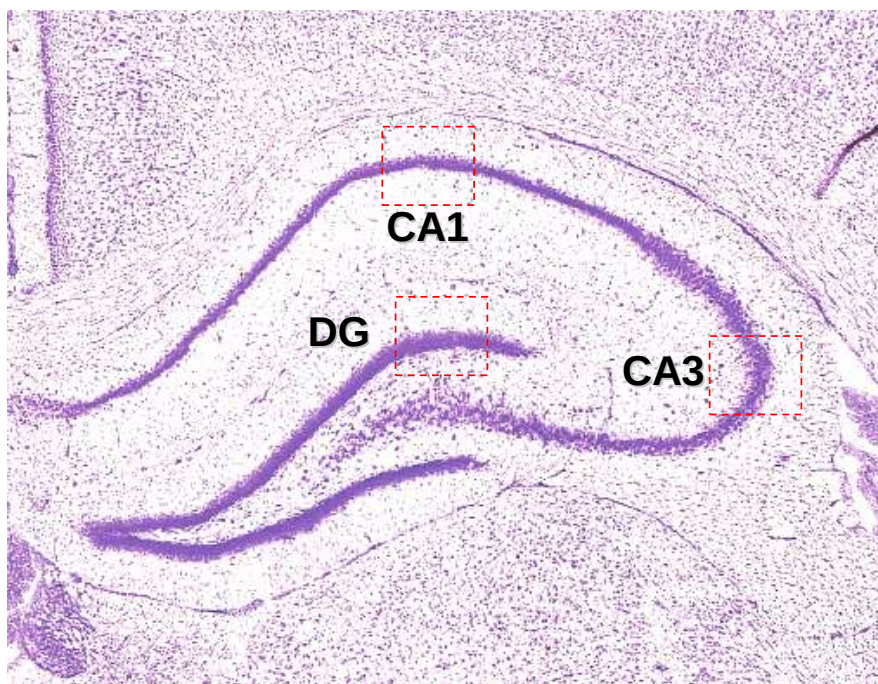
ในการศึกษานี้ได้แยกสมองของหนูในแต่ละกลุ่มมาศึกษาและได้ใช้ Paraffin technique ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาลักษณะ และการกระจายตัวของเซลล์ประสาท ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา ด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังต่อไปนี้

หลังจากทำให้หนูตายอย่างสงบ แล้ว นำสมองที่ใช้สำหรับการศึกษา morphology มา fix ใน fixative คือ 10% formalin ทันทีเพื่อป้องกันการเน่าเปื่อยของเนื้อเยื่อ (tissue autolysis) นำมาล้าง fixative ส่วนเกินออกด้วยน้ำกลั่นธรรมดาซึ่งเป็นการใช้น้ำเปล่าล้าง fixative ออกจากเนื้อเยื่อ โดยทำการล้างด้วยน้ำสะอาดที่ไหลตลอดเวลา ต่อด้วยการ Dehydration เป็นขบวนการทำให้ขึ้นเนื้อแห้งน้ำ โดยใช้ขบวนการดึงน้ำออกจากเซลล์ โดยการใช้ dehydrant ซึ่งก็คือ ethanol เริ่มจากความเข้มข้นต่ำไปหาสูง เช่น 70%, 80%, 95% และ 100% ตามลำดับ จากนั้นทำการ Clearing เป็นการนำขึ้นเนื้อที่แห้งน้ำไปแช่ในสารละลายอินทรีย์ เพื่อเป็นการนำ dehydrant ออกจากเนื้อเยื่อโดยให้ clearing agent เข้าไปแทนที่ โดยที่ clearing agent ต้องมีคุณสมบัติที่สามารถละลายได้ใน dehydrant และเป็น embedding media ตัวอย่างเช่น xylene, acetone, benzene และทำการ Infiltration เป็นขั้นตอนที่นำสาร embedding media เข้าสู่เนื้อเยื่อ โดยใช้ paraplast

โดยในขั้นตอนที่กล่าวข้างต้น เป็นขั้นตอนที่ทำโดยใช้เครื่องเตรียมเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (Leica TP 1020, Germany) จากนั้นนำมาผ่านกระบวนการ Embedding โดยใช้เครื่องทำพาราฟินบล็อก (Leica EG 1160, Germany) ทำโดยวางเนื้อเยื่อใน mold ซึ่งประกอบด้วย molten paraffin wax (embedded) จากนั้นจึงปล่อยให้เย็นและแข็งตัว แล้วจึงทำการตัดเนื้อเยื่อโดยใช้เครื่องตัดชิ้นเนื้ออัตโนมัติ (Leica RM 2235, Germany) โดยตัดเนื้อเยื่อสมองบริเวณหลังต่อ bregma ประมาณ 3-4 มิลลิเมตร ความหนา 5 ไมครอน และวางส่วนที่ตัดได้บน glass slide ที่จุ่มไว้ให้แห้ง 3-4 วัน จากนั้นจึงเริ่มทำการย้อมสี Hematoxylin & Eosin ซึ่งเป็นการย้อมติดสีที่นิยมใช้ในการกระบวนการศึกษาทาง histology โดยกระบวนการย้อมสีดังกล่าวมีการประยุกต์ใช้ basic dye hematoxylin ซึ่งสีที่ใช้ดูรูปร่างลักษณะของเซลล์หรือเนื้อเยื่อโดยจะติดสีฟ้าม่วงร่วมกับมีการใช้ eosin ซึ่งมีการย้อมติดสีชมพู ซึ่งเป็นการย้อมสีเพื่อให้เห็น contrast ใน tissue มากขึ้น

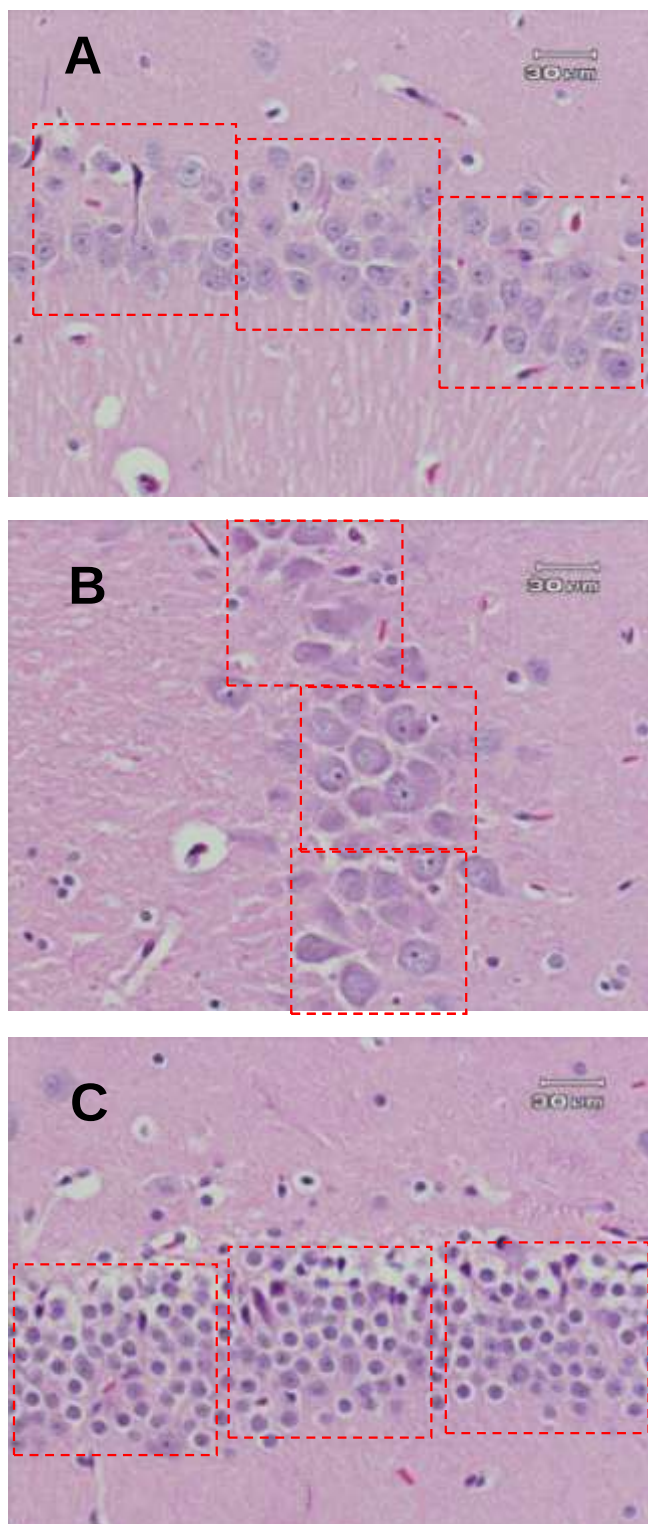
การศึกษาจำนวนเซลล์ประสาทที่ไม่ถูกทำลาย (undamaged neurons) ของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสในหนูแต่ละกลุ่ม โดยใช้ light microscope และถ่ายรูปโดยใช้กล้องถ่ายรูปจุลทรรศน์ระบบดิจิทัล (Olympus DP12) ด้วยกำลังขยาย 40 เท่า จากนั้นนำรูปที่ถ่ายได้มาศึกษาจำนวนเซลล์ประสาทที่ไม่ถูกทำลาย ซึ่งเป็นเซลล์ลักษณะที่มีนิวเคลียสติดสีฟ้าม่วงและเห็นขอบเขตนิวเคลียสที่ชัดเจน โดย undamaged neurons ถูกนับในบริเวณ CA1, CA3 และ dentate gyrus ของสมองส่วน hippocampus (รูปที่ 15) ต่อพื้นที่ 100 X 100 ตารางไมครอน โดยใช้โปรแกรม

ImagePRO Plus การนับ undamaged neurons (รูปที่ 16) ซึ่งทำโดยผู้ช่วยวิจัยที่ไม่ทราบเงื่อนไขการศึกษาในหนูแต่ละกลุ่ม



**รูปที่ 15** แสดงลักษณะการเรียงตัวของเซลล์ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสข้างซ้าย ที่ถ่ายจากแผ่นผ่านที่ย้อมด้วย H&E บริเวณในกรอบเส้นประรูปสี่เหลี่ยม เป็นส่วนที่จะเลือกสำหรับการนับจำนวนเซลล์ประสาท ซึ่งได้แก่ dorsal CA1, CA3 และส่วนบนของ dentate gyrus (DG)





**รูปที่ 16** ตัวอย่างภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา ที่แสดงการเรียงตัวของเซลล์ประสาทของฮิปโปแคมปัสส่วน CA1 (A), CA3 (B) และ dentate gyrus (C) ในหนูแก่เพศเมียที่ได้รับมะละกอนาน 3 เดือน และวิธีการสร้างกรอบเพื่อทำการนับจำนวนเซลล์ด้วยโปรแกรม ImagePro Plus

### 3.3.5 สถิติที่ใช้

ข้อมูลที่ได้จากทุกการทดลอง จะแสดงค่า  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$  และนำมาทดสอบความแตกต่างทางสถิติด้วย Student's t t-test สำหรับข้อมูลที่เปรียบเทียบเป็นคู่ หรือใช้ one-way analysis of variance (ANOVA) สำหรับเปรียบเทียบชุดข้อมูลที่มีมากกว่า 2 กลุ่ม เมื่อผลของ ANOVA แสดงให้เห็นว่ามีข้อมูลบางชุดมีข้อแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จะทำการทดสอบต่อด้วย Dunnett's post hoc test เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยตั้งค่านัยสำคัญเท่ากับ 0.05 โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติที่จะใช้ในงานวิจัยนี้คือ SigmaStat version 3.0 (SPSS Inc., USA)

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 ผลของการได้รับน้ำผลไม้ต่อน้ำหนักตัว

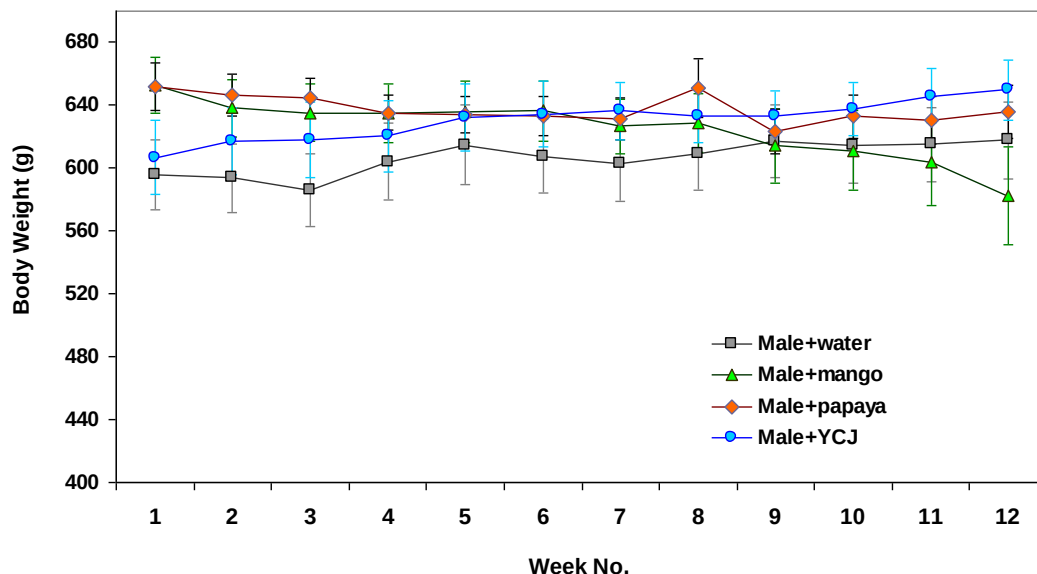
##### 4.1.1 น้ำหนักตัวหนูเพศผู้

ผลการบันทึกน้ำหนักตัวของหนูแก่เพศผู้ภายหลังที่ได้รับน้ำกลั่นทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน (Male+Water) พบว่า หนูกลุ่มควบคุมเพศผู้มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้น  $596.1 \pm 22.1$  ก. หลังจากถูกป้อนน้ำกลั่นนาน 3 เดือน มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ  $618.0 \pm 24.4$  ก. หรือเพิ่มขึ้นเพียง 3.7% ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.122$ ; Student's paired t-test) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวในช่วงก่อนป้อนน้ำกลั่น

สำหรับหนูแก่เพศผู้กลุ่มที่ได้รับน้ำมะละกอสุกปั่น (Male+papaya) มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นเท่ากับ  $651.9 \pm 15.1$  ก. และภายหลังจากถูกป้อนมะละกอสุกติดต่อกันทุกวัน นาน 3 เดือน พบว่า มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ  $635.9 \pm 17.0$  ก. หรือลดลง 2.4% ซึ่งไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ( $p = 0.218$ ; Student's paired t-test) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวในช่วงสัปดาห์แรก

สำหรับหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงน้ำดอกไม้ปั่น (Male+mango) พบว่ามีการลดลงของน้ำหนักตัวอย่างต่อเนื่องในช่วง 3 เดือน (ดังแสดงในรูปที่ 17) โดยมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นจาก  $649.2 \pm 23.6$  ก. และในสัปดาห์ที่ 12 วัดได้ลดลงเป็น  $603.0 \pm 18.7$  ก. ซึ่งลดลง 8.3% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวเฉลี่ยในช่วงสัปดาห์แรก ( $p = 0.037$ ; Student's paired t-test)

อย่างไรก็ตาม หนูแก่เพศผู้ที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (Male+YJC) กลับได้ผลตรงกันข้ามกับหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับผลไม้ทั้งสองชนิด โดยหนูแก่กลุ่มนี้มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นจาก  $606.9 \pm 19.9$  ก. และในสัปดาห์ที่ 12 มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น  $649.7 \pm 16.3$  ก. ซึ่งเพิ่มขึ้น 7.1% และเป็นการเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวในช่วงสัปดาห์แรก ( $p < 0.0001$ ; Student's paired t-test) ดังแสดงในรูปที่ 17 และตารางที่ 2



รูปที่ 17 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของหนูแก่เพศผู้ในช่วง 12 สัปดาห์ที่ได้รับน้ำกลั่น (Male+water) มะม่วงสุก (Male+mango) มะละกอสุก (Male+papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (Male+YCJ)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของหนูแก่เพศผู้ในช่วงก่อนป้อน (Pre Feeding) และ 3 เดือน (Post 3 mth) หลังจากที่ได้รับน้ำกลั่น (Male+water) มะม่วงสุก (Male+mango) มะละกอสุก (Male+papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (Male+YCJ)

|        | Male+Water  |            | Male+Mango  |            | Male+Papaya |            | Male+YCJ    |            |
|--------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
|        | Pre Feeding | Post 3 mth | Pre Feeding | Post 3 mth | Pre Feeding | Post 3 mth | Pre Feeding | Post 3 mth |
| mean   | 596.1       | 618.0      | 649.2       | 603.0*     | 651.9       | 635.9      | 606.9       | 649.7**    |
| s.e.m. | 22.1        | 24.4       | 23.6        | 18.7       | 15.1        | 17.0       | 19.9        | 16.3       |
| N      | 11          | 11         | 9           | 9          | 11          | 11         | 12          | 12         |

หมายเหตุ : \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.0001$ ; Student's paired t-test เมื่อเทียบกับค่าช่วงก่อนป้อน

#### 4.1.2 น้ำหนักตัวหนูเพศเมีย

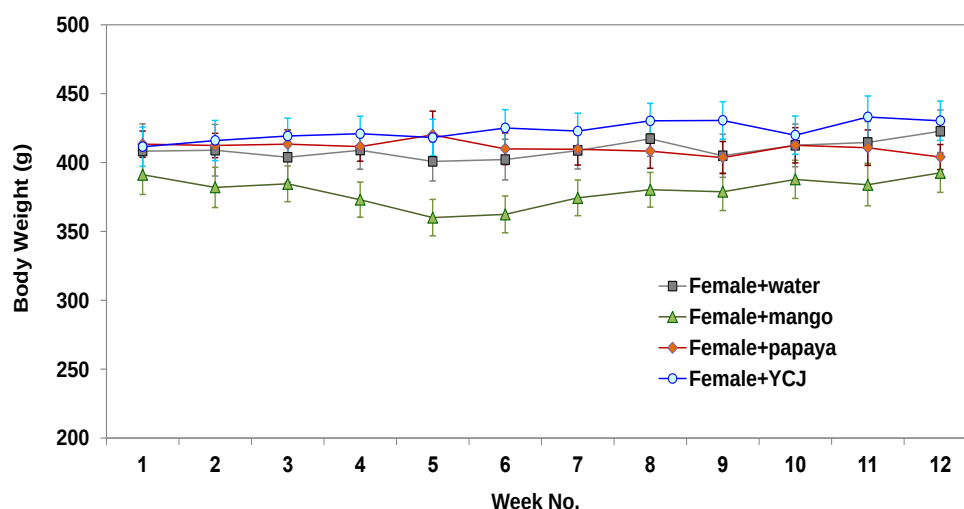
ผลการบันทึกน้ำหนักตัวหนูแก่เพศเมียที่ถูกป้อนด้วยน้ำกลั่น (Female+Water) มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นเท่ากับ  $408.3 \pm 19.8$  ก. และในสัปดาห์ที่ 12 มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ  $422.7 \pm 15.4$  ก. โดยพบว่าเพิ่มขึ้นเพียง 3.5% ซึ่งถือว่าไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวในช่วงสัปดาห์แรก ( $p = 0.119$ ; Student's paired t-test) แสดง

ให้เห็นว่าหนูแก่เพศเมียกลุ่มควบคุมนี้มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลา 3 เดือน คล้ายคลึงกับกลุ่มหนูแก่เพศผู้

สำหรับหนูแก่กลุ่มที่ได้รับมะละกอ (Female+papaya) มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นเท่ากับ  $413.3 \pm 9.5$  ก. และหลังจากถูกป้อนด้วยมะละกอสุกนาน 3 เดือน กลับมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยลดลงเพียงเล็กน้อยเป็น  $404.0 \pm 9.1$  ก. ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวในช่วงสัปดาห์แรก ( $p = 0.229$ ; Student's paired t-test)

ผลคล้ายกับหนูแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับมะม่วง (Female+Mango) ที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นเท่ากับ  $391.1 \pm 14.3$  ก. และหลังการป้อนมะม่วงสุกนาน 3 เดือน มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวในช่วงสัปดาห์แรก คือมีค่าเท่ากับ  $392.5 \pm 14.2$  ก. ในสัปดาห์ที่ 12 ( $p = 0.44$ ; Student's paired t-test)

อย่างไรก็ตาม ผลของหนูกลุ่มที่ได้รับมะละกอหรือมะม่วง กลับตรงกันข้าม กลุ่มหนูแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (Male+YCJ) ที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นจาก  $411.5 \pm 19.5$  ก. และเพิ่มขึ้นเป็น  $430.3 \pm 20.9$  ก. ในสัปดาห์ที่ 12 ดังแสดงในรูปที่ 18 และตารางที่ 3 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวเฉลี่ยของสัปดาห์แรก พบว่าเป็นการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.005$ ; Student's paired t-test)



รูปที่ 18 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของหนูแก่เพศเมียในช่วง 12 สัปดาห์ที่ได้รับน้ำกลั่น (Female+water) มะม่วงสุก (Female+mango) มะละกอสุก (Female+papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (Female+YCJ)

**ตารางที่ 3** ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของหนูแก่เพศเมียในช่วงก่อนปั้อน (Pre Feeding) และ 3 เดือน (Post 3 mth)หลังจากที่ได้รับน้ำกลั่น (Female+water) มะม่วงสุก (Female+mango) มะละกอสุก (Female+papaya) และ น้ำมะพร้าวอ่อน (Female+YJC)

|               | Female+Water |            | Female+Mango |            | Female+Papaya |            | Female+YJC  |            |
|---------------|--------------|------------|--------------|------------|---------------|------------|-------------|------------|
|               | Pre Feeding  | Post 3 mth | Pre Feeding  | Post 3 mth | Pre Feeding   | Post 3 mth | Pre Feeding | Post 3 mth |
| <b>mean</b>   | 408.3        | 422.7      | 391.1        | 385.7      | 413.3         | 404.0      | 411.5       | 430.3*     |
| <b>s.e.m.</b> | 19.8         | 15.4       | 14.3         | 14.2       | 9.5           | 9.1        | 19.5        | 20.9       |
| <b>N</b>      | 12           | 12         | 12           | 12         | 11            | 11         | 10          | 10         |

หมายเหตุ : \* =  $p < 0.005$ ; Student's paired t-test เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยช่วงก่อนปั้อน

## 4.2 การทดสอบทางพฤติกรรม

### 4.2.1 Psychomotor test

ผลการประเมินสมรรถภาพทางกายในหนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับน้ำกลั่นหรือน้ำผลไม้ชนิดใดชนิดหนึ่ง โดยใช้วิธีการทดสอบ 3 ชนิด พอสรุปได้ดังนี้

#### 1) Beam walking test

การทดสอบสมรรถภาพทางกายทดสอบโดยการให้หนูไต่บนราวไม้ เพื่อประเมินประสิทธิภาพในการเคลื่อนไหวและการทรงตัว โดยให้หนูไต่บนท่อนไม้ขนาด (ก x ย x ส) 5 x 200 x 30 ซม. บนที่กักพฤติกรรมด้วยกล่องวงจรปิด จากนั้นใช้โปรแกรม Any-maze video tracking system (Stoelting Co.) วิเคราะห์ไฟล์วิดีโอที่ได้บันทึกไว้ก่อนหน้า จากผลการวิเคราะห์เวลานับตั้งแต่เริ่มปล่อยจนกระทั่งหนูตกจากท่อนไม้ (latency to fall) ระยะทางเฉลี่ย (average distance) และความเร็วเฉลี่ย (average speed) ผลการทดลองสรุปไว้ในตารางที่ 4

ผลการทดสอบสมรรถนะทางร่างกายในหนูแก่เพศผู้และเพศเมียกลุ่มควบคุม ที่ได้รับน้ำกลั่นติดต่อกันทุกวัน เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมทั้งสองเพศไม่มีการเปลี่ยนแปลงสมรรถภาพทางร่างกายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ; Student's paired t-test) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยในสัปดาห์แรก โดยพิจารณาจากค่าเฉลี่ยเวลาที่ไต่บนคาน ระยะทางเฉลี่ย และความเร็วเฉลี่ย

สำหรับผลการทดสอบสมรรถนะทางร่างกายในหนูแก่กลุ่มทดสอบทั้งสองเพศ ที่ได้รับมะละกอ มะม่วง หรือน้ำมะพร้าวอ่อน พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของความสามารถในการไต่บนคานไม้ในหนูแก่กลุ่มทดสอบทั้งสองเพศทุกกลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยในสัปดาห์แรกกับค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 12 ( $p > 0.05$ ; Student's paired t-test) อาจสรุป

ได้ว่าผลไม้ทั้งสามชนิดอาจไม่ได้ช่วยในเรื่องการเสริมสมรรถภาพทางร่างกายในหนูแก่ ทั้งเพศผู้หรือเพศเมีย

**ตารางที่ 4** ผลของมะม่วงสุก (+Mango) มะละกอสุก (+Papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (+YJC) ต่อสมรรถภาพทางร่างกายในหนูแก่ทั้งสองเพศ ที่ทดสอบโดยให้หนูไต่บนคานไม้ในช่วงก่อนป้อน (Pre Feeding) และหลังป้อนนาน 3 เดือน (Post 3 mth)

|                        | Latency to fall (s) |              | Distance (cm) |            | Speed (cm/s) |            |
|------------------------|---------------------|--------------|---------------|------------|--------------|------------|
|                        | Pre Feeding         | Post 3 mth   | Pre Feeding   | Post 3 mth | Pre Feeding  | Post 3 mth |
| Male control (n = 10)  | 139.2 ± 22.7        | 131.9 ± 22.7 | 4.9 ± 1.7     | 6.6 ± 3.5  | 4.1 ± 1.2    | 5.0 ± 2.0  |
| Male+mango (n = 8)     | 137.2 ± 22.3        | 172.7 ± 7.9  | 6.1 ± 2.5     | 7.3 ± 1.9  | 5.2 ± 2.0    | 4.2 ± 1.0  |
| Male+papaya (n = 9)    | 168.1 ± 12.6        | 166.7 ± 13.3 | 15.9 ± 3.6    | 4.4 ± 1.1  | 9.7 ± 2.0    | 2.7 ± 0.1  |
| Male+YJC (n = 10)      | 85.5 ± 22.5         | 139.0 ± 22.1 | 5.0 ± 1.3     | 9.8 ± 5.6  | 8.3 ± 2.0    | 5.8 ± 3.0  |
| Female control (n = 9) | 169.2 ± 4.9         | 168.2 ± 12.6 | 7.5 ± 1.8     | 7.5 ± 2.1  | 4.4 ± 1.0    | 4.3 ± 1.1  |
| Female+mango (n = 12)  | 175.1 ± 5.1         | 148.8 ± 16.2 | 8.1 ± 1.6     | 7.9 ± 1.8  | 4.6 ± 0.9    | 7.6 ± 3.1  |
| Female+papaya (n = 10) | 138.3 ± 21.3        | 145.9 ± 18.8 | 7.8 ± 1.6     | 7.6 ± 2.3  | 11.6 ± 4.9   | 4.9 ± 1.2  |
| Female+YJC (n = 10)    | 174.1 ± 5.9         | 179.0 ± 1.1  | 8.2 ± 1.8     | 11.0 ± 2.1 | 4.7 ± 1.0    | 6.1 ± 1.2  |

## 2) Grip strength test

ในการทดสอบสมรรถภาพทางร่างกายโดยประเมินแรงยึดจับวัตถุของอุ้งเท้าคู้หน้าของหนู ใช้อุปกรณ์ isometric force transducer (model FT03E, Grass Instruments) ที่พ่วงต่อกับเครื่อง Bridge-Amp (model ML101, ADInstruments) และ PowerLab 4/25T (ADInstruments) แล้วใช้โปรแกรม Chart v.5.4 (ADInstruments) เพื่อการแสดงผลแรงยึดเหนี่ยวเป็นกราฟเส้น จากนั้นทำการวัดค่าแรงดึงจากจุด peak ของกราฟ 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย (average) จากนั้นนำค่าเฉลี่ยมาคำนวณเป็นค่า group mean และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (s.e.m.) ซึ่งผลการทดลองเบื้องต้นได้สรุปในตารางที่ 5

ผลการทดสอบในหนูแก่เพศผู้กลุ่มควบคุม (Male+water) พบว่า ก่อนป้อนน้ำกลั่นสามารถวัดแรงยึดเหนี่ยวของอุ้งเท้าคู้หน้าได้  $278.9 \pm 24.0$  ก. และหลังจากป้อนน้ำกลั่น 3 เดือน หนูแก่กลุ่มนี้มีการเปลี่ยนแปลงของค่าแรงยึดเหนี่ยวที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยวัดได้เท่ากับ  $337.5 \pm 28.3$  ก. ( $p = 0.042$ ; Student's paired t-test) อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบในหนูแก่เพศเมีย (Female+water) ก่อนป้อนวัดได้  $497.0 \pm 28.5$  ก. พบว่าหลังจากป้อนน้ำกลั่น 3 เดือน มีค่าแรงยึดเหนี่ยวเพิ่มขึ้นเป็น  $564.1 \pm 62.4$  ก. แต่เมื่อทดสอบทางสถิติแล้วพบไม่มีความแตกต่าง

อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยในช่วงก่อนป้อนน้ำกลั่น ( $p = 0.190$ ; Student's paired t-test)

สำหรับผลการทดสอบในหนูแก่เพศผู้กลุ่มมะละกอ (Male+papaya) ก่อนป้อนมะละกอสามารถวัดแรงยึดเหนี่ยวของอุ้งเท้าคู้หน้าได้  $578.0 \pm 72.9$  กรัม และหลังจากป้อนมะละกอสุก 3 เดือนหนูกลุ่มนี้มีค่าแรงยึดเหนี่ยวลดลง โดยวัดได้  $535.1 \pm 77.7$  กรัม แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงก่อนป้อน ( $p = 0.314$ ; Student's paired t-test) ผลที่ได้จากหนูแก่เพศผู้นี้คล้ายกันกับผลของหนูแก่เพศเมีย (Female+papaya) ที่พบว่าหลังจากป้อนมะละกอ 3 เดือน โดยก่อนป้อนมะละกอสุกวัดได้  $775.8 \pm 74.2$  กรัม แต่หลังป้อนมะละกอสุก 3 เดือนวัดได้  $646.8 \pm 73.2$  กรัม มีค่าแรงยึดเหนี่ยวลดลง แต่เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลทั้งสองชุดแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.070$ ; Student's paired t-test)

สำหรับหนูแก่เพศผู้กลุ่มมะม่วง (Male+mango) สามารถวัดแรงยึดเหนี่ยวของอุ้งเท้าคู้หน้าก่อนป้อนมะม่วงสุกได้  $465.5 \pm 41.4$  กรัม และหลังจากป้อนมะม่วงสุก 3 เดือน หนูแก่กลุ่มนี้มีค่าแรงยึดเหนี่ยวลดลงประมาณ 13% โดยวัดได้  $406.2 \pm 42.9$  กรัม แต่เมื่อทดสอบทางสถิติแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.173$ ; Student's paired t-test) ผลที่ได้นี้ตรงกันข้ามกับหนูแก่เพศเมีย (Female+mango) ที่พบว่าหลังจากป้อนมะม่วง 3 เดือน มีค่าแรงยึดเหนี่ยวลดลง โดยก่อนป้อนวัดได้  $448.0 \pm 36.6$  กรัม แต่หลังป้อนมะม่วงสุก 3 เดือนวัดได้  $435.1 \pm 39.7$  กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.416$ ; Student's paired t-test)

ผลการทดสอบแรงยึดเหนี่ยวของอุ้งเท้าคู้หน้าก่อนป้อนน้ำมะพร้าวอ่อนวัดได้  $429.7 \pm 48.1$  กรัม และหลังจากป้อนน้ำมะพร้าวอ่อน 3 เดือน หนูแก่กลุ่มนี้มีค่าแรงยึดเหนี่ยวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยประมาณ 6% โดยวัดได้  $455.3 \pm 30.4$  กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.308$ ; Student's paired t-test) ผลของหนูแก่เพศผู้คล้ายคลึงกับในหนูแก่เพศเมีย โดยก่อนป้อนน้ำมะพร้าวอ่อนวัดได้  $487.3 \pm 46.3$  กรัม และหลังจากป้อนน้ำมะพร้าวอ่อน 3 เดือน หนูแก่กลุ่มนี้มีค่าแรงยึดเหนี่ยวเพิ่มขึ้นประมาณ 10% โดยวัดได้  $538.1 \pm 50.4$  กรัม แต่เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลก่อนกับหลังการป้อนแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.237$ ; Student's paired t-test)

กล่าวโดยสรุปสำหรับผลการป้อนผลไม้แต่ละชนิดติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน ไม่มีผลต่อการเสริมสมรรถภาพทางร่างกาย โดยดูจากการเปลี่ยนแปลงของกำลังกล้ามเนื้อของอุ้งเท้าคู้หน้าในหนูแก่ทั้งสองเพศ ดังแสดงผลสรุปในตารางที่ 5



ตารางที่ 5 ผลของการป้อนมะม่วงสุก (+Mango) มะละกอสุก (+Papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (+YCJ) นานติดต่อกัน 3 เดือน ต่อแรงยึดเหนี่ยวของอุ้งเท้าหน้าของหนูแก่ทั้งสองเพศ ในช่วงก่อนป้อน (Pre Feeding) และหลังป้อนนาน 3 เดือน (3 mth post feeding)

|                        | Grip Strength (g) |                    |
|------------------------|-------------------|--------------------|
|                        | Pre feeding       | 3 mth post feeding |
| Male control (n = 10)  | 278.9 ± 24.0      | 337.5 ± 28.3       |
| Male+mango (n = 12)    | 465.5 ± 41.4      | 406.2 ± 42.9       |
| Male+papaya (n = 10)   | 578.0 ± 72.9      | 535.1 ± 77.7       |
| Male+YCJ (n = 12)      | 429.7 ± 48.1      | 455.3 ± 30.4       |
| Female control (n = 7) | 497.0 ± 28.5      | 564.1 ± 62.4       |
| Female+mango (n = 12)  | 448.0 ± 36.6      | 435.1 ± 39.7       |
| Female+papaya (n = 10) | 775.8 ± 74.2      | 646.8 ± 73.2       |
| Female+YCJ (n = 10)    | 487.3 ± 46.3      | 538.1 ± 50.4       |

### 3) Rotarod trademil test

การทดลองนี้เป็นการทดสอบสมรรถภาพทางร่างกาย เพื่อประเมินการประสานงานของกล้ามเนื้อและควบคุมการทรงตัวด้วยการไต่บนแกนหมุน (TSE RotaRod System, TSE Systems International Group, Germany) โดยทำการวัดระยะเวลาที่หนูเกาะบนแกนหมุนได้นานที่สุด 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย (average) จากนั้นนำค่าเฉลี่ยมาคำนวณเป็นค่า group mean และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (s.e.m.) ซึ่งผลการทดลองเบื้องต้นได้สรุปในตารางที่ 6

ในหนูแก่เพศผู้กลุ่มควบคุม (Male+water) ในช่วงก่อนป้อนน้ำกลั่นสามารถบันทึกระยะเวลาเฉลี่ยที่หนูเกาะไต่อยู่บนแกนหมุนได้  $35.8 \pm 11.4$  วินาที และหลังจากป้อนน้ำกลั่น 3 เดือน หนูกลุ่มนี้มีการทรงตัวที่นานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวัดได้  $26.1 \pm 6.6$  วินาที ( $p = 0.047$ ; paired t-test) แต่ในหนูแก่เพศเมีย (Female+water) ก่อนป้อนน้ำกลั่นวัดได้  $97.7 \pm 19.0$  วินาที แต่หลังป้อนน้ำกลั่น 3 เดือนวัดได้  $86.8 \pm 23.2$  วินาที ซึ่งลดลง 11% แต่ก็ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.247$ ; Student's paired t-test)

สำหรับหนูแก่เพศผู้กลุ่มมะม่วง (Male+mango) ก่อนป้อนมะม่วงสุกสามารถวัดระยะเวลาที่หนูเกาะบนแกนหมุนได้  $47.5 \pm 8.5$  วินาที และหลังจากป้อนมะม่วงสุก 3 เดือนหนูกลุ่มนี้มีค่าระยะเวลาในการไต่แกนหมุนลดลง 39% โดยวัดได้  $29.1 \pm 3.8$  วินาที ผลที่ได้นี้คล้ายคลึงกับผลของหนูแก่เพศเมีย (Female+mango) ที่พบว่าหลังจากป้อนมะม่วงสุก 3 เดือน มีค่าระยะเวลาที่หนูไต่บนแกนหมุนลดลง โดยก่อนป้อนวัดได้  $60.3 \pm 13.3$  วินาที แต่หลังป้อนมะม่วงสุก 3 เดือนวัดได้  $46.0 \pm 14.8$  วินาที ซึ่งลดลง 24% แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.251$ ; Student's paired t-test)

สำหรับหนูแก่เพศผู้กลุ่มมะละกอ (Male+papaya) สามารถวัดระยะเวลาที่หนูเกาะบนแกนหมุนก่อนป้อนมะละกอสูกได้  $44.2 \pm 9.0$  วินาที และหลังจากป้อนมะละกอสูก 3 เดือนหนูกลุ่มนี้มีค่าระยะเวลาที่หนูเกาะบนแกนหมุนลดลงเท่ากับ  $32.9 \pm 4.8$  วินาที ซึ่งเป็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ; Student's paired t-test) อย่างไรก็ตาม ผลจากหนูแก่เพศผู้จะตรงกันข้ามกับผลของหนูแก่เพศเมีย (Female+papaya) ที่พบว่าก่อนป้อนวัดได้  $80.4 \pm 18.4$  วินาที และหลังป้อนมะละกอสูก 3 เดือนวัดได้  $53.9 \pm 16.4$  วินาที ซึ่งลดลง 33% แต่เมื่อทดสอบทางสถิติแล้วกลับพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.164$ ; Student's paired t-test)

สำหรับหนูแก่เพศผู้กลุ่มมะพร้าว (Male+coconut) ก่อนป้อนน้ำมะพร้าวอ่อนสามารถวัดระยะเวลาที่หนูเกาะบนแกนหมุนได้  $50.1 \pm 10.7$  วินาที และหลังจากป้อนน้ำมะพร้าวอ่อน 3 เดือนหนูกลุ่มนี้มีค่าระยะเวลาในการไต่แกนหมุนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเพียง 5% โดยวัดได้  $52.7 \pm 12.2$  วินาที ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.35$ ; Student's paired t-test) เช่นเดียวกับผลของหนูแก่เพศเมีย (Female+coconut) ที่พบว่าหลังจากป้อนน้ำมะพร้าวอ่อน 3 เดือน มีค่าระยะเวลาที่หนูไต่บนแกนหมุนไม่เปลี่ยนแปลง โดยก่อนป้อนวัดได้  $60.6 \pm 12.5$  วินาที และหลังป้อนน้ำมะพร้าวอ่อน 3 เดือนวัดได้  $51.7 \pm 8.9$  วินาที ซึ่งลดลง 15% แต่เมื่อนำข้อมูลของทั้งสองกลุ่มนี้มาเปรียบเทียบ พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.20$ ; Student's paired t-test)

กล่าวโดยสรุปสำหรับผลการป้อนผลไม้ชนิดใดชนิดหนึ่งใน 3 ชนิด ติดต่อกันทุกวันๆ ละครั้ง นาน 3 เดือน ไม่มีผลต่อการเสริมสมรรถภาพทางร่างกายในด้านการประสานงานของกล้ามเนื้อและการควบคุมทรงตัวในหนูแก่ทั้งสองเพศ ดังแสดงผลสรุปในตารางที่ 6

**ตารางที่ 6** ผลของมะม่วงสุก (+Mango) มะละกอสุก (+Papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (+YCJ) ต่อสมรรถภาพการทรงตัวบนแกนหมุนในหนูแก้มในช่วงก่อนป้อน (Pre Feeding) และหลังป้อนนาน 3 เดือน (3 mth post feeding)

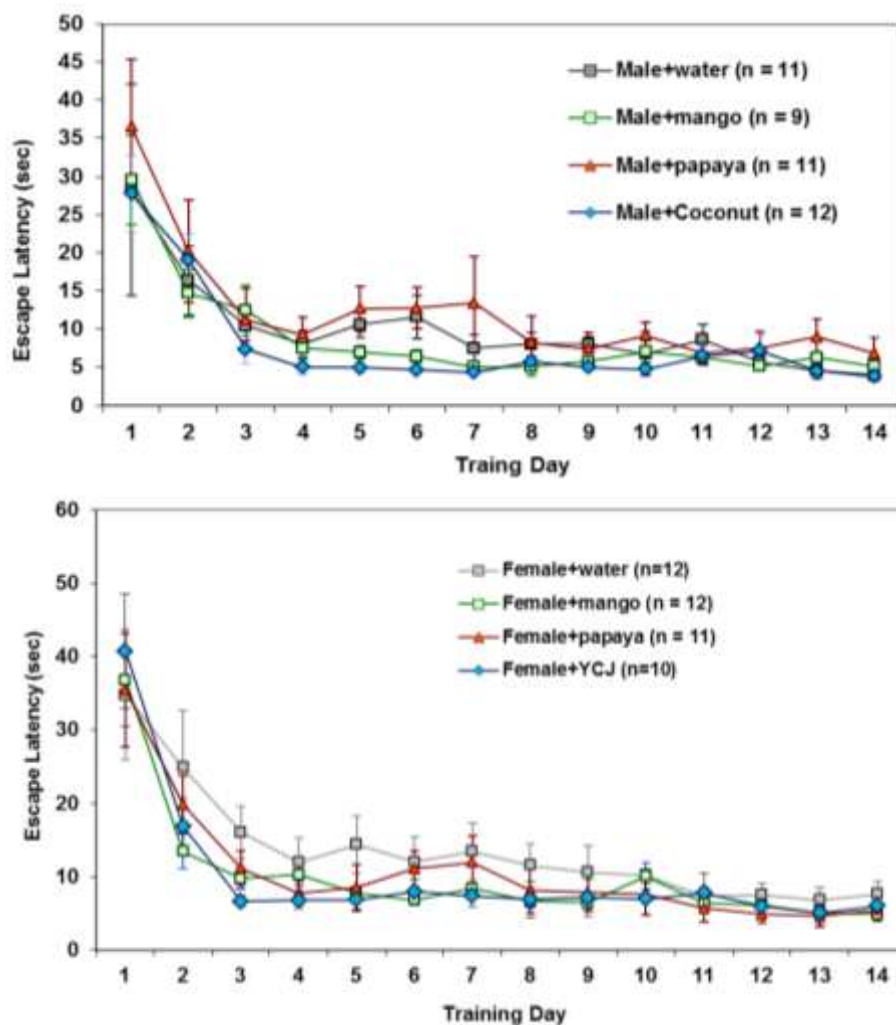
|                        | Latency to fall (s) |                    |
|------------------------|---------------------|--------------------|
|                        | Pre feeding         | 3 mth post feeding |
| Male control (n = 9)   | 35.8 ± 11.4         | 26.1 ± 6.6*        |
| Male+mango (n = 12)    | 47.5 ± 8.5          | 29.1 ± 3.8*        |
| Male+papaya (n = 10)   | 44.2 ± 9.0          | 32.9 ± 4.8*        |
| Male+YCJ (n = 11)      | 50.1 ± 10.7         | 52.7 ± 12.2        |
| Female control (n = 6) | 97.7 ± 19.0         | 86.8 ± 23.2        |
| Female+mango (n = 12)  | 60.3 ± 13.3         | 46.0 ± 14.8        |
| Female+papaya (n = 9)  | 80.4 ± 18.4         | 53.9 ± 16.4        |
| Female+YCJ (n = 9)     | 60.6 ± 12.5         | 51.7 ± 8.9         |

(หมายเหตุ \* =  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบค่าช่วงก่อนป้อน; Student's paired t-test)

#### 4.2.2 Cognitive function tests

##### 1) Morris Water Maze Test

เป็นวิธีที่ใช้ทดสอบความจำเกี่ยวกับสถานที่ (spatial reference memory) โดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า Morris water maze ซึ่งมีแท่นอยู่ใต้น้ำให้หนูว่ายน้ำหาและไปเกาะ ระยะเวลาที่หนูใช้ในการหาแท่นใต้น้ำพบเรียกว่า escape latency การทดสอบนี้จะกระทำในช่วงสัปดาห์ที่ 13-14 โดยผลการทดสอบในหนูแก่เพศผู้แต่ละกลุ่ม ฝึกวันละครั้งทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าหนูแก่แต่ละกลุ่มมี profile ของการเรียนรู้และความจำด้านสถานที่ใกล้เคียงกัน ดังค่าเฉลี่ยของ escape latency ในวันที่ 14 ของการทดสอบซึ่งแสดงในรูปที่ 19

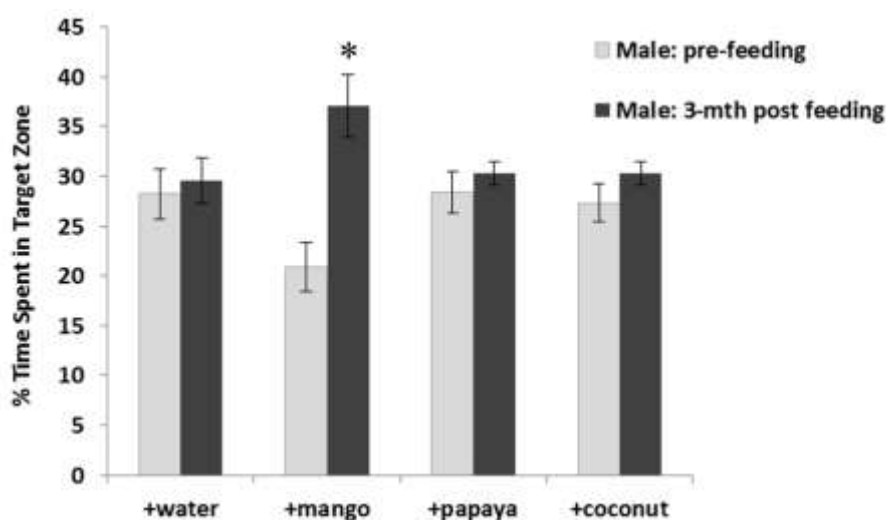


รูปที่ 19 เปรียบเทียบค่าเวลาเฉลี่ย (mean  $\pm$  S.E.M.) ที่หนูแก่เพศผู้ (รูปบน) และเพศเมีย (รูปล่าง) ใช้ในการหาแท่นได้น้ำ (Escape latency) สำหรับการทดสอบด้วย Morris Water Maze โดยฝึกวันละครั้งทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ในกลุ่มควบคุมที่ได้รับเฉพาะน้ำกลั่น (+water) กับกลุ่มที่ได้รับมะม่วง (+mango) มะละกอ (+papaya) และน้ำมะพร้าว (+YJC) ซึ่งพบว่าหนูแก่ทั้งสองเพศในทุกกลุ่มมี profile ของการเรียนรู้และความจำด้านสถานที่ใกล้เคียงกันก่อนนำมาทดสอบ

หลังจากฝึกหนูให้ว่ายน้ำใน Morris water maze เป็นเวลา 14 วันแล้ว นำหนูมาทดสอบด้วยวิธีการเรียกว่า “probe trial test” ซึ่งทำโดยการเอาแท่นได้น้ำออก และแบ่งบริเวณบนผิวน้ำออกเป็น 4 โซน ซึ่งหนูทดลองจะต้องมอง visual cue ที่ติดบนม่านเหนือโซนแต่ละโซน แล้วจับเวลาที่หนูว่ายน้ำภายในเวลา 90 วินาที สำหรับผลการทดลองจะรายงานเฉพาะผลการทดสอบ

ความจำแบบ probe trial โดยการทดสอบนี้ได้จับเวลาที่หนูว่ายอยู่ในแต่ละโซน โดยเฉพาะโซนที่ 2 ซึ่งเคยเป็นโซนที่มีแท่นได้น้ำ (หรือ target zone) แล้วนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของระยะเวลา

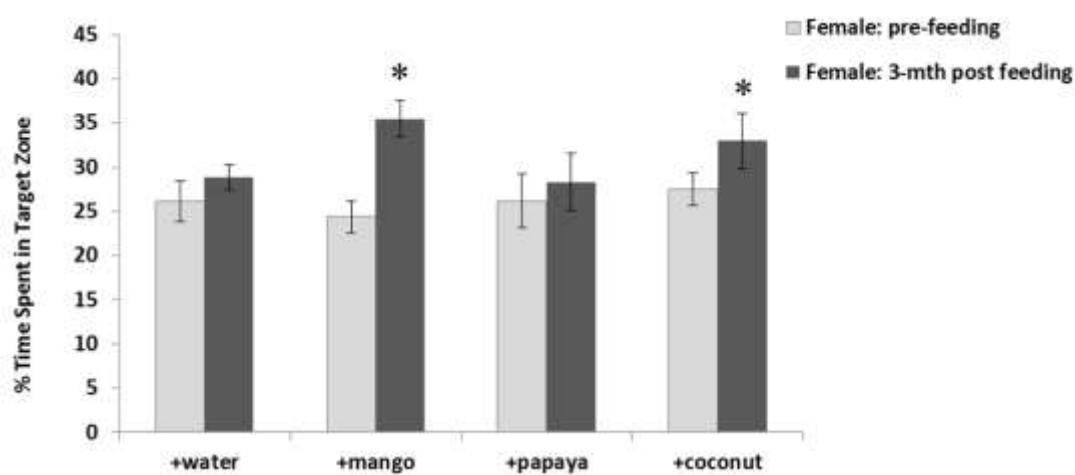
ผลการทดสอบ probe trial ของหนูแก่เพศผู้ได้สรุปไว้ในรูปที่ 20 กล่าวคือในช่วงก่อนป้อนผลไม้พบว่า หนูแก่กลุ่มควบคุม (Male+Water) มีค่าระยะเวลาที่ว่ายในโซนที่เคยมีแท่นได้น้ำเฉลี่ยเท่ากับ  $28.2 \pm 2.5\%$  และภายหลังการป้อนน้ำกลั่นหนูกลุ่มนี้ มีค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่ว่ายเท่ากับ  $29.6 \pm 2.6\%$  ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าในช่วงก่อนป้อน ( $p = 0.380$ ; Student's paired t-test) สำหรับหนูแก่กลุ่มที่ได้รับมะม่วง (Male+Mango) ก่อนป้อนผลไม้มีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ว่ายเท่ากับ  $20.9 \pm 2.5\%$  และหลังได้รับมะม่วงนาน 3 เดือน มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น  $37.1 \pm 5.1\%$  ซึ่งเพิ่มมากกว่าผลก่อนป้อนผลไม้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.006$ ; Student's paired t-test) แต่หนูที่ได้รับมะละกอ (Male+Papaya) ก่อนป้อนมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ว่ายเท่ากับ  $28.4 \pm 2.1\%$  และหลังได้รับผลไม้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $30.3 \pm 1.2\%$  ซึ่งแม้ว่ามีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น แต่ก็ยังไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าในช่วงก่อนป้อน ( $p = 0.177$ ; Student's paired t-test) สำหรับหนูที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (Male +YCJ) ก่อนป้อนมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ว่ายเท่ากับ  $27.3 \pm 1.9\%$  และหลังได้รับผลไม้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $30.3 \pm 1.8\%$  ซึ่งเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าในช่วงก่อนป้อน ( $p = 0.027$ ; Student's paired t-test)



รูปที่ 20 ผลการทดสอบความจำด้านสถานที่ ในหนูแก่เพศผู้ด้วย Morris Water Maze แบบ probe trial test (โดยเอาแท่นได้น้ำออก) เปรียบเทียบระหว่างช่วงก่อนป้อน (pre-feeding) และ หลังป้อนผลไม้ 3 เดือน (3-mth post feeding)

หมายเหตุ : \* =  $p < 0.05$  Student's paired t-test เมื่อเปรียบเทียบกับ pre feeding

สำหรับผลการทดสอบ probe trials ของหนูแก่เพศเมียได้สรุปไว้ในรูปที่ 21 กล่าวคือ ในช่วงก่อนป้อนผลไม้พบว่า หนูแก่กลุ่มควบคุม (Female+Water) มีระยะเวลาที่ว่ายในโซนที่เคยมีแท่นได้น้ำเฉลี่ยเท่ากับ  $26.1 \pm 2.3\%$  และภายหลังการป้อนน้ำกลั่นหนูกลุ่มนี้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $28.9 \pm 1.4\%$  ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าในช่วงก่อนป้อน ( $p = 0.109$ ; Student's paired t-test) ตรงกันข้ามกับหนูแก่กลุ่มที่ได้รับมะม่วง (Female+Mango) ซึ่งก่อนป้อนผลไม้มีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ว่ายเท่ากับ  $24.4 \pm 1.8\%$  และหลังได้รับมะม่วงนาน 3 เดือน มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น  $35.5 \pm 2.1\%$  ซึ่งเพิ่มมากกว่าผลก่อนป้อนผลไม้ อย่างชัดเจนและมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.0001$ ; Student's paired t-test) แต่หนูแก่เพศเมียที่ได้รับมะละกอ (Female+Papaya) ก่อนป้อนมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ว่ายเท่ากับ  $26.2 \pm 3.1\%$  และหลังได้รับผลไม้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $28.3 \pm 3.3\%$  ซึ่งแม้ว่ามีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น แต่ก็ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าในช่วงก่อนป้อน ( $p = 0.198$ ; Student's paired t-test) อย่างไรก็ตาม สำหรับหนูแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (Female+YCJ) กลับได้ผลดีกว่าหนูแก่เพศผู้ กล่าวคือ ก่อนป้อนมีค่าเฉลี่ยของระยะเวลาที่ว่ายเท่ากับ  $27.5 \pm 1.9\%$  และหลังได้รับผลไม้มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น  $33.0 \pm 3.1\%$  ซึ่งมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยในช่วงก่อนป้อน ( $p = 0.026$ ; Student's paired t-test)



รูปที่ 21 ผลการทดสอบความจำด้านสถานที่ ในหนูแก่เพศเมียด้วย Morris Water Maze แบบ probe trial test (โดยเอาแท่นได้น้ำออก) เปรียบเทียบระหว่างช่วงก่อนป้อน (pre-feeding) และ หลังป้อนผลไม้ 3 เดือน (3-mth post feeding)

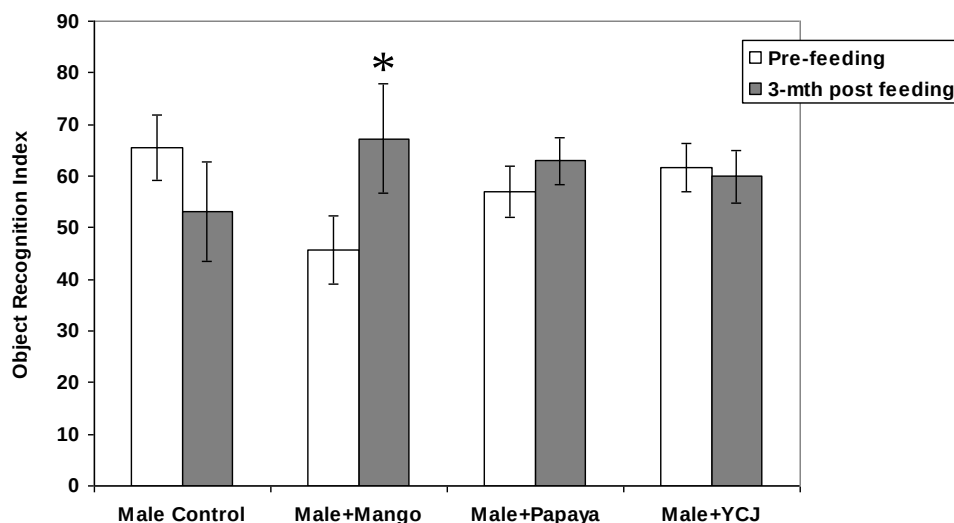
หมายเหตุ : \* =  $p < 0.05$  Student's paired t-test เมื่อเปรียบเทียบกับ pre-feeding

## 2) Novel object recognition (NOR) Test

การทดสอบการจดจำวัตถุสิ่งของด้วยวิธี NOR test เป็นการทดสอบความคุ้นเคยต่อวัตถุที่เคยสำรวจมาแล้วก่อนหน้านี้ในเวลาผ่านไปเพียง 10 นาที เพื่อดูว่าหนูทดลองสามารถจดจำวัตถุที่เคยได้สำรวจผ่านตามาแล้ว (familial object ในที่นี้คือ object A) ในช่วง training phase ได้หรือไม่ และสังเกตว่าหนูสนใจวัตถุชิ้นใหม่ (novel object ในที่นี้คือ object C) นานกว่าวัตถุที่เคยสำรวจมาแล้วหรือไม่ โดยพิจารณาจากค่าดัชนีความจำ หรือ recognition index ซึ่งคำนวณได้จากสูตร Object Recognition Index =  $[TC / (TA + TC)] \times 100$

จากสมการ TA เป็นเวลาที่หนูทดลองสำรวจ object A ในช่วง training phase และ TC เป็นเวลาที่หนูทดลองสำรวจ object C ในช่วง testing phase โดยเปรียบเทียบผลการทดลองในหนูแก่กลุ่มควบคุม (control) กลุ่มที่ได้รับมะม่วง (+Mango) กลุ่มที่ได้รับมะละกอ (+Papaya) และกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (+YJC) โดยแต่ละชุดของกลุ่มทดสอบจะประกอบด้วยหนูแก่เพศผู้และหนูแก่เพศเมีย

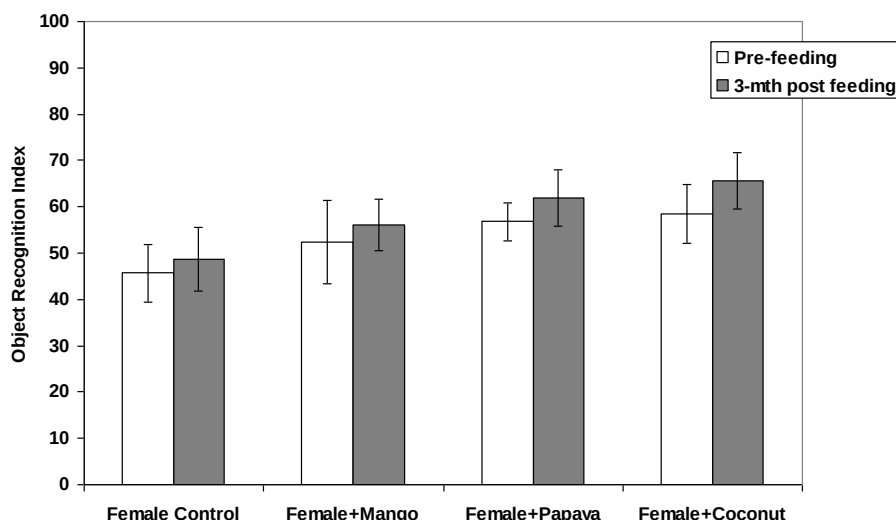
ผลการทดสอบความสามารถในการจดจำวัตถุสิ่งของในหนูแก่เพศผู้กลุ่มควบคุม ได้สรุปในรูปที่ 22 จะเห็นว่าก่อนป้อนน้ำกลั่น (Pre-feeding) หนูแก่เพศผู้กลุ่มควบคุมมีดัชนีการจดจำวัตถุ (object recognition index) 65.4% และหลังป้อนน้ำกลั่นติดต่อกันนาน 3 เดือนกลับมีค่าดัชนีการจดจำวัตถุลดลงเป็น 53.2% อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบในหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงมีความสามารถในการจดจำเพิ่มขึ้น โดยก่อนป้อนมะม่วงมีดัชนีการจดจำวัตถุ 45.7% และหลังป้อนมะม่วงติดต่อกันนาน 3 เดือนกลับมีค่าดัชนีการจดจำวัตถุเพิ่มขึ้นเป็น 67.3% ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงก่อนป้อน ( $p = 0.044$ ; Student's paired t-test) แต่สำหรับหนูแก่เพศผู้กลุ่มที่ได้รับมะละกอหรือน้ำมะพร้าวอ่อน เมื่อได้รับผลไม่ติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน ไม่ได้ช่วยบำรุงความจำ โดยก่อนได้รับผลไม้หนูแก่กลุ่มมะละกอและกลุ่มมะพร้าวมีดัชนีการจดจำวัตถุ 56.9% และ 61.6% ตามลำดับ หลังป้อนมะละกอสุกและน้ำมะพร้าวอ่อนติดต่อกันนาน 3 เดือน มีค่าดัชนีการจดจำวัตถุเท่ากับ 62.9% และ 59.9% ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงก่อนป้อน ( $p > 0.05$ ; Student's paired t-test)



**รูปที่ 22** เปรียบเทียบผลการทดสอบความสามารถในการจดจำวัตถุสิ่งของ โดยพิจารณาจากค่าดัชนีการจดจำวัตถุ (object recognition index) ในหนูแก่เพศผู้ ในช่วงก่อนป้อน (Pre-feeding) และหลังป้อนน้ำกลั่น 3 เดือน (3-mth post feeding) (\* =  $p < 0.05$ ; Student's paired t-test เมื่อเปรียบเทียบกับช่วงก่อนป้อน)

สำหรับผลการทดสอบความสามารถในการจดจำวัตถุในหนูแก่เพศเมียแสดงในรูปที่ 23 พบว่าการป้อนผลไม้ทั้งสามชนิดติดต่อกันนาน 3 เดือนไม่ได้ช่วยบำรุงความจำในหนูแก่แต่ละกลุ่ม โดยหนูกลุ่มควบคุมมีดัชนีการจดจำวัตถุเท่ากับ 45.7% และ 48.7% หนูกลุ่มมะม่วงมีดัชนีการจดจำวัตถุเท่ากับ 52.5% และ 56.1% หนูกลุ่มมะละกอมีดัชนีการจดจำวัตถุเท่ากับ 56.8% และ 61.9% และหนูกลุ่มมะพร้าวมีดัชนีการจดจำวัตถุเท่ากับ 58.4% และ 65.6% ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลก่อนและหลังการป้อนของผลไม้แต่ละชนิดแม้ว่าจะมีแนวโน้มว่ามีการจดจำดีขึ้นเล็กน้อย แต่เมื่อได้ทำการทดสอบทางสถิติแล้วไม่พบว่ามีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงก่อนป้อน ( $p > 0.05$ ; Student's paired t-test)





**รูปที่ 23** เปรียบเทียบผลการทดสอบความสามารถในการจดจำวัตถุสิ่ง โดยพิจารณาจากค่าดัชนีการจดจำวัตถุ (object recognition index) ของหนูแม่เพศเมีย ในช่วงก่อนป้อน (Pre-feeding) และหลังป้อนมะม่วง 3 เดือน (3-mth post feeding)

#### 4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

สำหรับผลการทดลองในส่วนนี้ เนื่องจากผู้วิจัยไม่สามารถทำการวัดค่าสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาได้ เนื่องจากในพลาสมาของหนูมีระดับวิตามินซีและสารโพลีฟีนอลอยู่น้อยมาก ซึ่งต่ำกว่า detection limit ที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่อง HPLC ของศูนย์ปฏิบัติการกลาง คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ ม.นเรศวร ดังนั้นผู้วิจัยจึงขอรายงานเฉพาะผลการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินซี เบต้าแคโรทีน และสารกลุ่มโพลีฟีนอลในผลไม้แต่ละชนิด

ซึ่งจากผลการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC และ UV detector เพื่อหาพื้นที่ใต้กราฟจากโครมาโตแกรมที่ได้จากตัวอย่างผลไม้แต่ละชนิด นำมาเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐาน (รูปที่ 24) เพื่อแปลงพื้นที่ใต้กราฟเป็นค่าความเข้มข้น (แสดงในภาคผนวก) นอกจากนี้ทีมผู้วิจัยได้ทำการยืนยันความเที่ยงตรงของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยการตรวจสอบแบบ intraday precesion และ interday precesion ดังแสดงในภาคผนวก

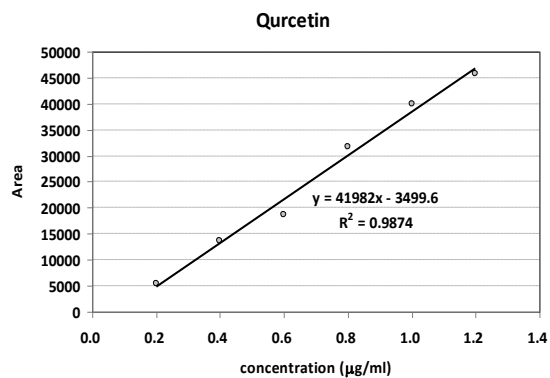
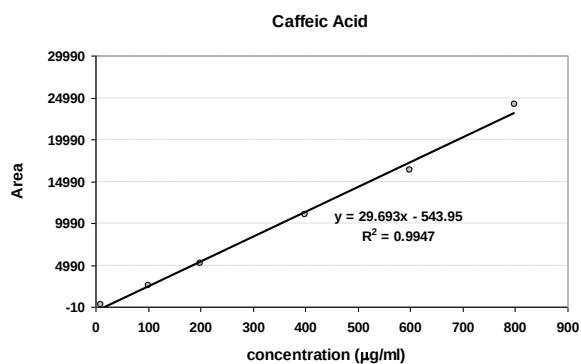
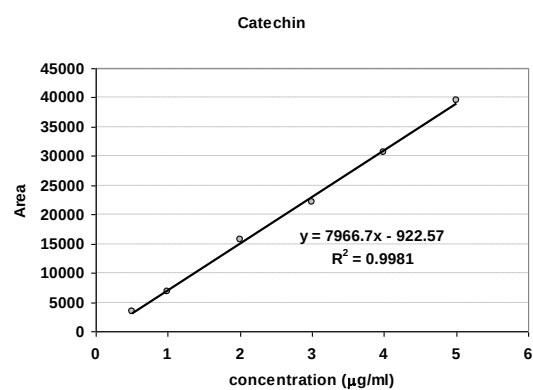
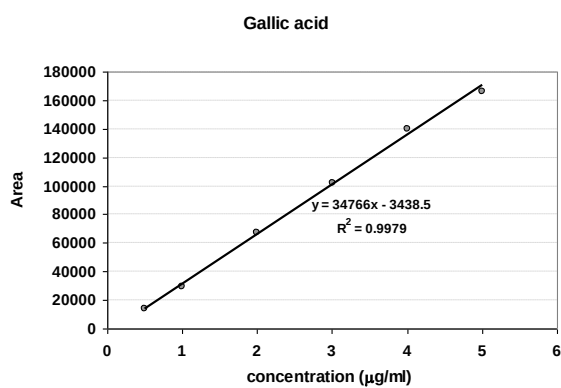
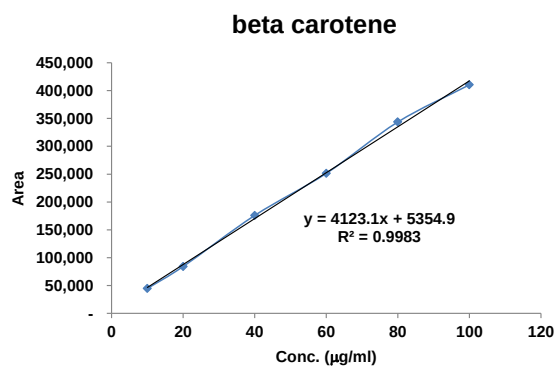
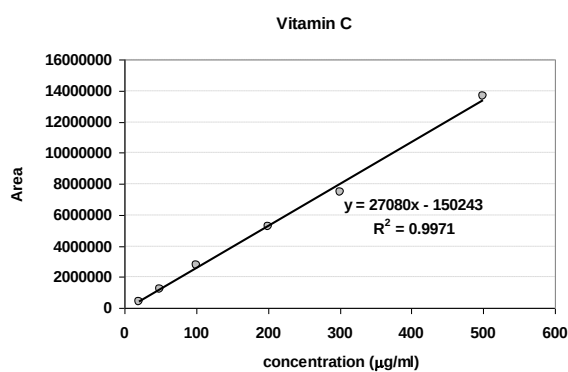
##### 4.3.1 ผลการวัดระดับวิตามินซีและปริมาณโพลีฟีนอลในผลไม้

ผลการวิเคราะห์ระดับวิตามินซี ในเนื้อมะม่วง มะละกอบ้าน หรือน้ำมะพร้าว แสดงในตารางที่ 7 ซึ่งสรุปได้ว่า ในตัวอย่างผลไม้ทั้งสามชนิดที่ทดสอบ เมื่อคิดต่อปริมาณ 100 ก. ของเนื้อผลไม้หรือน้ำผลไม้ พบว่าผลไม้ที่มีวิตามินซีมากที่สุดคือมะละกอบ้านสุลลันด์สุก ผลไม้ที่มี

วิตามินเบต้าแคโรทีนมากที่สุดคือมะม่วงน้ำดอกไม้สุก และผลไม้ที่มีสารโพลีฟีนอลจำพวก catechin และ caffeic acid มากที่สุดคือน้ำมะพร้าวอ่อน และสำหรับสารโพลีฟีนอลจำพวก gallic acid พบได้เฉพาะในมะม่วงน้ำดอกไม้สุกเท่านั้น

**ตารางที่ 7** แสดงผลการวิเคราะห์สาร Vitamin C ในผลไม้ทั้ง 3 ชนิด

|                                | Concentration (mg/100 g fruit pulp or juice) |               |             |          |              |          |
|--------------------------------|----------------------------------------------|---------------|-------------|----------|--------------|----------|
|                                | Vitamin C                                    | Beta Carotene | Gallic acid | Catechin | Caffeic acid | Qurcetin |
| Ripe Mango (Namdokmai variety) | 8.57                                         | 7.23          | 0.27        | 0.18     | 0            | 0        |
| Ripe Papaya (Holland variety)  | 35.37                                        | 1.16          | 0           | 0        | 0            | 0        |
| Young Coconut Juice            | 4.29                                         | 0             | 0           | 0.56     | 5.5          | 0        |



รูปที่ 24 standard curve ของวิตามินซีและสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ ที่ได้จากการฉีดสารละลายมาตรฐานด้วยความเข้มข้น 6 ระดับ

#### 4.3.2 ผลการวัดระดับวิตามินซีและปริมาณโพลีฟีนอลในเลือด

สำหรับผลการทดลองในส่วนนี้ผู้วิจัยไม่สามารถทำการวิเคราะห์หาระดับวิตามินซีและปริมาณโพลีฟีนอลในเลือดได้ ถึงแม้ว่าได้ทดลองซ้ำหลายครั้งตามวิธีของ Ross และคณะ (Ross et al., 1994) แล้วก็ตาม ทั้งนี้อาจสืบเนื่องจากในพลาสมาของหนูมีระดับวิตามินซีและสารโพลีฟีนอลอยู่น้อยมาก ซึ่งอาจต่ำกว่าระดับที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่อง HPLC ด้วย method ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

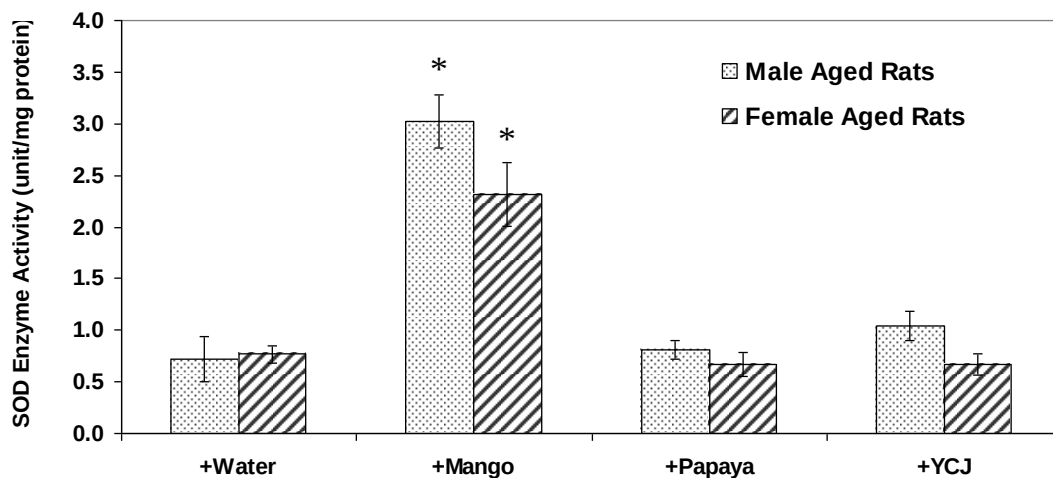
#### 4.4 ผลของผลไม้ต่อระดับเอนไซม์ Super oxide dismutase และ Glutathione peroxidase ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส

ในวันที่ terminate สัตว์ทดลอง ผู้วิจัยได้แยกส่วนสมองโดยเฉพาะส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูทดลองจำนวนหนึ่ง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในสมอง

##### 4.4.1 เอนไซม์ Super oxide dismutase (SOD)

ผลการวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ SOD สรุปในรูปที่ 25 ในหนูแก่เพศผู้กลุ่มควบคุม (Male+Water) พบว่ามีค่าเฉลี่ย  $0.72 \pm 0.22$  ยูนิท/มก.โปรตีน เมื่อเปรียบเทียบกับระดับเอนไซม์ SOD ของหนูกลุ่มที่ได้รับผลไม้ พบว่ามีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับมะม่วง (Male+Mango) ที่มีค่าเฉลี่ย  $3.03 \pm 0.26$  ยูนิท/มก.โปรตีน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ; one-way ANOVA) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับมะละกอ (Male+Papaya) ที่มีค่าเฉลี่ย  $0.82 \pm 0.09$  ยูนิท/มก.โปรตีน และหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (Male+YJC) ที่มีค่าเฉลี่ย  $1.04 \pm 0.14$  ยูนิท/มก.โปรตีน แล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ; one-way ANOVA)

สำหรับผลการวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ SOD ในหนูแก่เพศเมียได้ (รูปที่ 25) ซึ่งพบว่ากลุ่มควบคุม (Female+Water) มีค่าเฉลี่ย  $0.77 \pm 0.09$  ยูนิท/มก.โปรตีน เมื่อเปรียบเทียบกับระดับเอนไซม์ SOD ของหนูกลุ่มที่ได้รับผลไม้ พบว่ามีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับมะม่วง (Female+Mango) ซึ่งมีค่าเฉลี่ย  $2.32 \pm 0.31$  ยูนิท/มก.โปรตีน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ; one-way ANOVA) เช่นเดียวกันกับหนูแก่เพศผู้ และสำหรับหนูกลุ่มที่ได้รับมะละกอ (Female+Papaya) มีค่าเฉลี่ย  $0.67 \pm 0.11$  ยูนิท/มก.โปรตีน และหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (Female+YJC) มีค่าเฉลี่ย  $0.67 \pm 0.10$  ยูนิท/มก.โปรตีน เมื่อเปรียบเทียบกับแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ; one-way ANOVA)



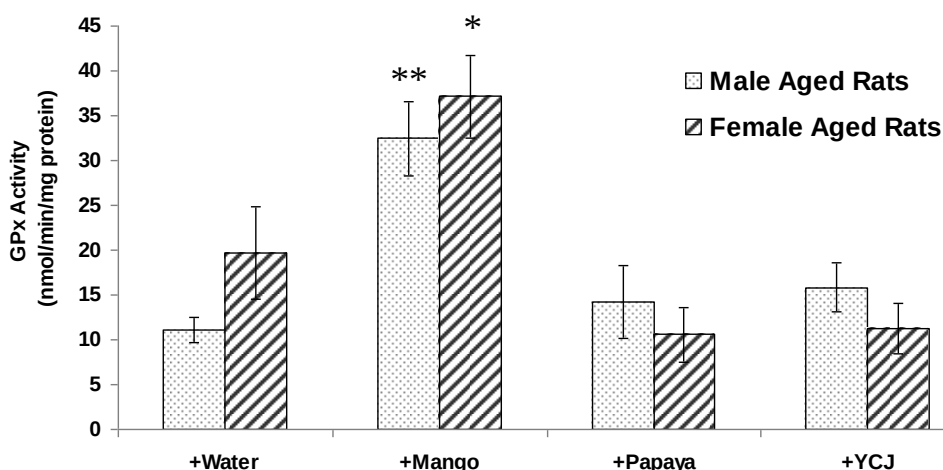
รูปที่ 25 เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ Super oxide dismutase ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูแก่ทั้งสองเพศ ที่ได้รับน้ำกลั่น (+Water) มะม่วง (+Mango) มะละกอ (+Papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (+YJC) ติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน (\* =  $p < 0.001$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้น้ำกลั่น; one-way ANOVA ตามด้วย Dunnette's post hoc test)

#### 4.4.2 เอนไซม์ Glutathione peroxidase (GPx)

ผลการวิเคราะห์ระดับเอนไซม์ GPx สรุปในรูปที่ 26 โดยในหนูแก่เพศผู้กลุ่มควบคุม (+Water) พบว่ามีค่าเฉลี่ย  $11.11 \pm 1.43$  ยูนิต/มก.โปรตีน แต่หนูกลุ่มที่ได้รับมะม่วง (+Mango) มีค่าเฉลี่ย  $32.45 \pm 4.12$  นาโนโมล/นาที/มก.โปรตีน ซึ่งพบมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเห็นได้ชัดและความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ; one-way ANOVA) แต่หนูกลุ่มที่ได้รับมะละกอ (+Papaya) มีค่าเฉลี่ย  $3.21 \pm 0.82$  นาโนโมล/นาที/มก.โปรตีน และหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (+YJC) มีค่าเฉลี่ย  $1.32 \pm 0.27$  นาโนโมล/นาที/มก.โปรตีน ไม่พบว่ามี ความแตกต่างของระดับเอนไซม์ GPx อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ( $p > 0.05$ ; one-way ANOVA ตามด้วย Dunnette's post hoc test)

สำหรับผลของหนูแก่เพศเมีย พบว่ากลุ่มควบคุม (+Water) มีค่าเฉลี่ยระดับเอนไซม์ GPx เท่ากับ  $11.63 \pm 3.93$  นาโนโมล/นาที/มก.โปรตีน ซึ่งน้อยกว่าระดับเอนไซม์ GPx ของหนูกลุ่มที่ได้รับมะม่วง (+Mango) ที่มีค่าเฉลี่ย  $30.53 \pm 3.55$  นาโนโมล/นาที/มก.โปรตีน และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ; one-way ANOVA) อย่างไรก็ตาม หนูกลุ่มที่ได้รับมะละกอ (+Papaya) ซึ่งมีค่าเฉลี่ย  $6.60 \pm 1.17$  นาโนโมล/นาที/มก.โปรตีน และหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (+YJC) มีค่าเฉลี่ย  $3.50 \pm 1.64$  นาโนโมล/นาที/มก.โปรตีน ไม่พบว่ามี

ความแตกต่างของระดับเอนไซม์ GPx อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม ( $p > 0.05$ ; one-way ANOVA ตามด้วย Dunnett's post hoc test)



รูปที่ 26 เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ Glutathione peroxidase (GPx) ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูแก่ทั้งสองเพศ ที่ได้รับน้ำกลั่น (+Water) มะม่วง (+Mango) มะละกอ (+Papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (+YCJ) ติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน (\* =  $p < 0.01$ , \*\* =  $p < 0.001$ ; one-way ANOVA ตามด้วย Dunnett's post hoc test)

#### 4.5 ผลต่อระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนในสมอง

สมองของหนูทดลองอีกส่วนหนึ่งได้ถูกแบ่งไปทำการวิเคราะห์ทางชีวเคมีด้วยเครื่อง HPLC โดยนำแยกสมองส่วนฮิปโปแคมปัสทั้ง 2 ข้างออกจากซีรีบรัมโดยเร็ว ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก แล้วนำมาปั่นละเอียด (homogenized) และนำไป centrifuge เพื่อแยก supernatant ไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC จากนั้นนำค่าพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโตแกรมของกรดอะมิโนไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนแต่ละชนิด (ดังรูปที่ 27) เพื่อแปลงเป็นค่าความเข้มข้นของกรดอะมิโนชนิดนั้นๆ

ผลการทดลองในกลุ่มหนูแก่เพศผู้ได้สรุปในรูปที่ 28 ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ได้รับมะม่วงไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนส่วนใหญ่ ได้แก่ aspartate, serine, glycine และ glutamate เป็นต้น และพบว่าในหนูแก่กลุ่มนี้มี glutamine และ GABA ลดต่ำกว่าปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าของหนูแก่กลุ่มควบคุม ( $p < 0.001$ , Student's unpaired t-test)

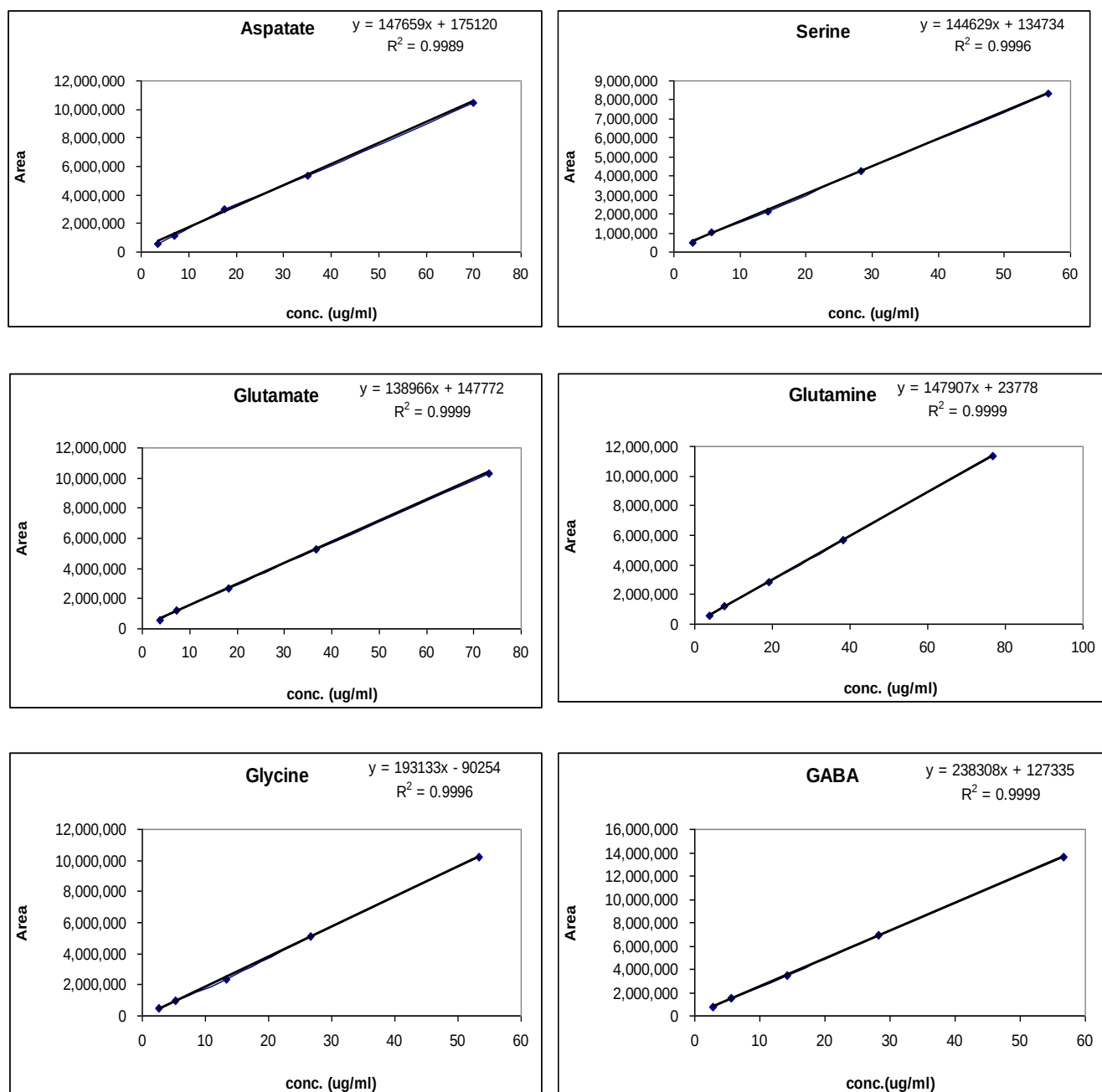
ในกลุ่มหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะละกอก็พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับสารสื่อประสาทชนิด กรดอะมิโนทุกชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าของหนูแก่กลุ่มควบคุม ( $p > 0.05$ , Student's unpaired t-test)

ในทางตรงกันข้ามกับผลของผลไม้ทั้งสองชนิดข้างต้น หนูแก่เพศผู้ที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน พบว่ามีระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนบางชนิดที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าของหนูแก่กลุ่มควบคุม เช่น glutamine\*\*, glutamate\* และ GABA\*\* เป็นต้น ( $* = p < 0.05$ ,  $** = p < 0.001$ , Student's unpaired t-test)

สำหรับผลการทดลองในกลุ่มหนูแก่เพศเมียได้สรุปในรูปที่ 29 ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ได้รับมะม่วง มีระดับ aspartate, serine, glycine และ GABA ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่มีระดับ glutamine ที่เพิ่มขึ้น และระดับของ glutamate ที่ต่ำกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ , Student's unpaired t-test)

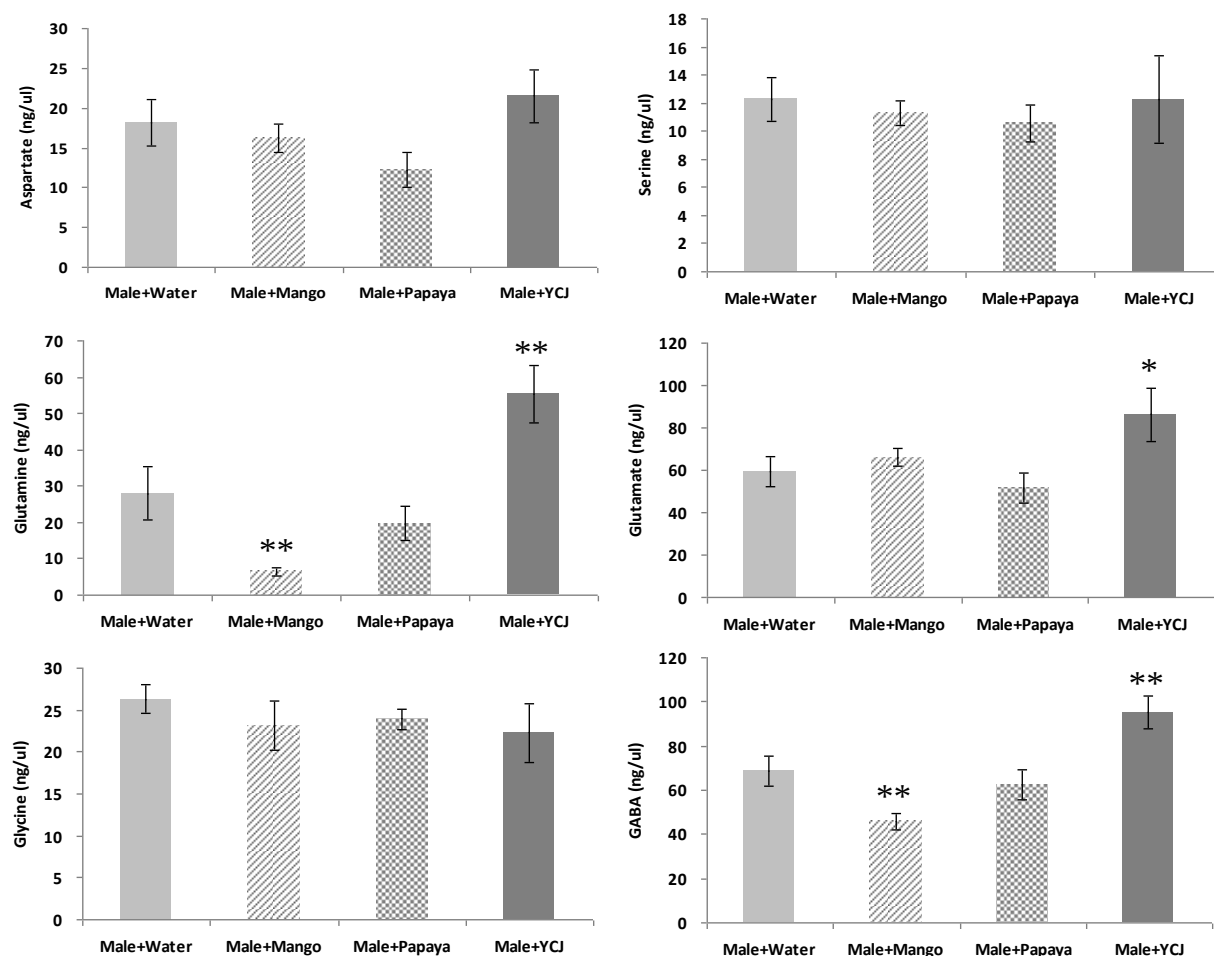
ในกลุ่มหนูแก่เพศเมียที่ได้รับมะละกอมีระดับ aspartate และ glycine ที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่มีระดับ serine และ glutamate ที่ลดต่ำกว่า และระดับ glutamine\* และ GABA\*\* ที่สูงกว่าควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $* = p < 0.05$ ,  $** = p < 0.005$ ; Student's unpaired t-test)

ที่น่าสนใจคือในหนูแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน มีระดับ aspartate\*\*, glutamine\*\*, glutamate\* และ GABA\*\* ที่เพิ่มขึ้นมากกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $* = p < 0.05$ ,  $** = p < 0.005$ ; Student's unpaired t-test) ในขณะที่ระดับของ serine และ glycine ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ

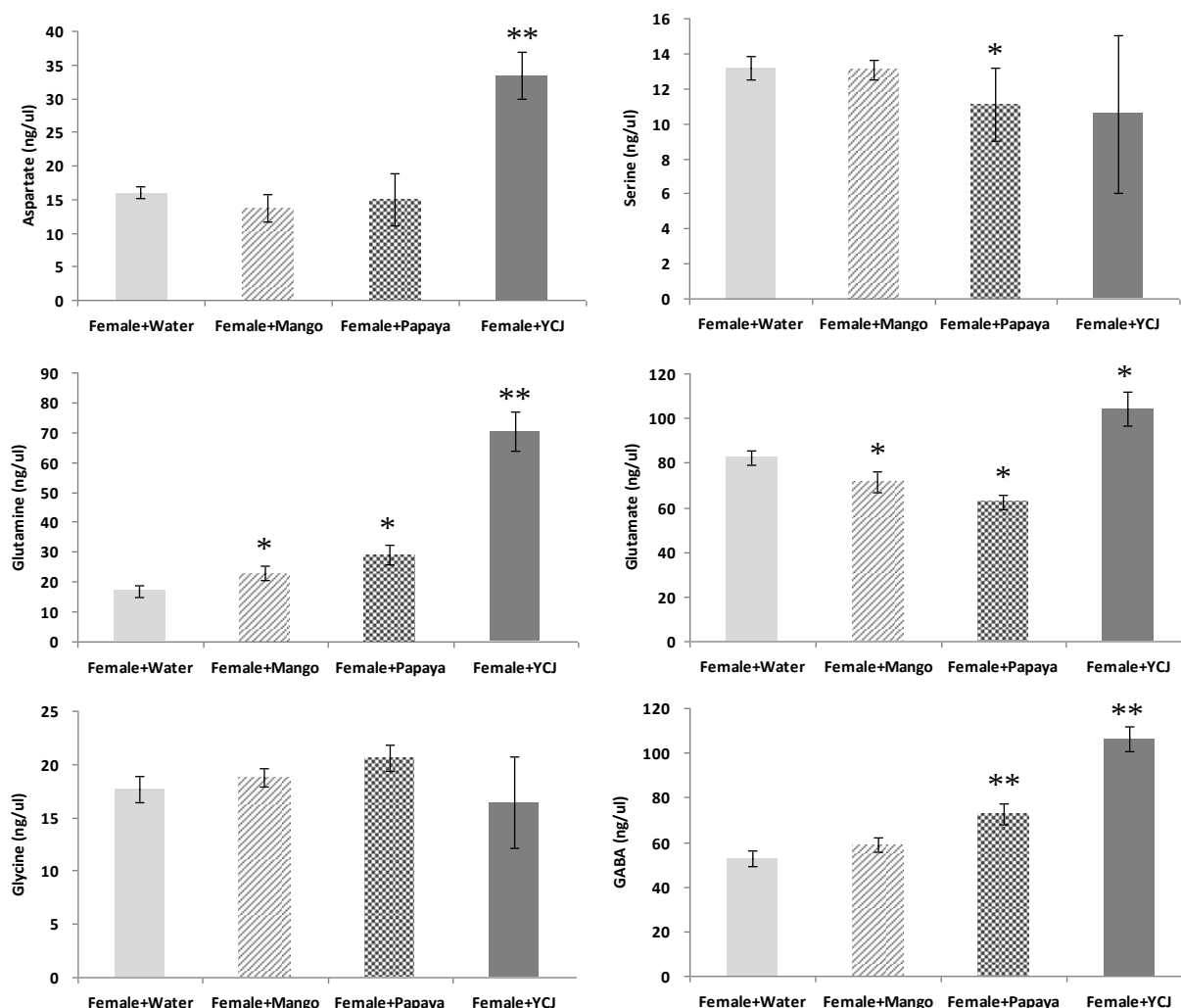


รูปที่ 27 กราฟมาตรฐานสำหรับใช้เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของกรดอะมิโนแต่ละชนิดจากพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโตแกรม





รูปที่ 28 เปรียบเทียบระดับของสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโน ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนู แก่เพศผู้ ที่ได้รับน้ำกลั่น (Male+Water) มะม่วง (Male+Mango) มะละกอ (Male+Papaya) และ น้ำมะพร้าวอ่อน (Male+YCJ) ติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน (\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ ; Student's unpaired t-test เมื่อเปรียบเทียบกับ Male+Water)

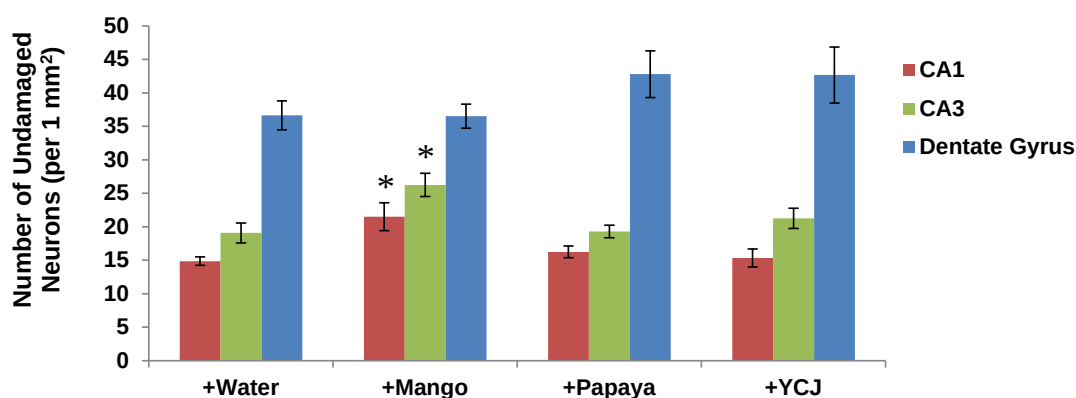


รูปที่ 29 เปรียบเทียบระดับของสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโน ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนู แก่เพศเมีย ที่ได้รับน้ำกลั่น (Female+Water) มะม่วง (Female+Mango) มะละกอ (Female+Papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (Female+YCJ) ติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน (\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.005$ ; Student's unpaired t-test เมื่อเปรียบเทียบกับ Female+Water)

#### 4.6 ผลต่อจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส

สมองของหนูทดลองอีกจำนวนหนึ่งได้ถูกแบ่งไปทำการศึกษาทาง histology โดยนำสมองไป fix ด้วยน้ำยา 10% formalin นาน 2 สัปดาห์ แล้วนำมาผ่านให้เป็นแผ่นเนื้อเยื่อที่มีความหนา 5 ไมครอนด้วยเครื่องมือโครโตม แผ่นผ่านสมองที่แสดงส่วนฮิปโปแคมปัสอย่างสมบูรณ์ได้นำไปย้อมด้วย H&E และทำเป็นแผ่นสไลด์ จากนั้นนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์และใช้โปรแกรม Image-Pro เพื่อวิเคราะห์จำนวนเซลล์ประสาท

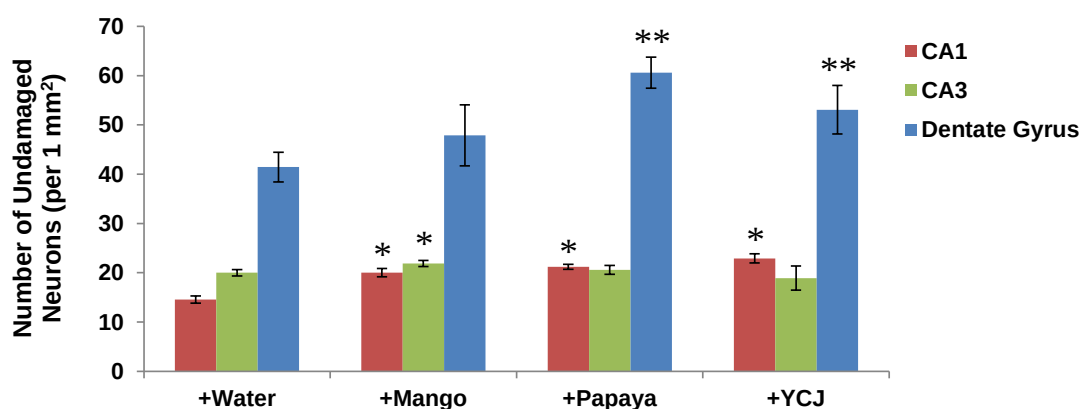
ผลการทดลองในหนูแก่เพศผู้แสดงในรูปที่ 30 กล่าวคือ ในสมองของหนูแก่กลุ่มควบคุมมีความหนาแน่นของเซลล์ประสาท ณ บริเวณ CA1, CA3 และ dentate gyrus ของฮิปโปแคมปัสเฉลี่ยเท่ากับ  $14.9 \pm 0.6$ ,  $19.1 \pm 1.5$  และ  $36.6 \pm 2.1$  เซลล์/ตร.มม. ตามลำดับ เฉพาะหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือนเท่านั้นที่มีความหนาแน่นของเซลล์ประสาท ณ บริเวณดังกล่าวมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $21.5 \pm 2.1^*$ ,  $26.3 \pm 1.7^*$  และ  $36.5 \pm 1.8$  เซลล์/ตร.มม. (\* =  $p < 0.05$ ; unpaired t-test) อย่างไรก็ตาม หนูแก่ที่ได้รับมะละกอหรือน้ำมะพร้าวอ่อน ไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของเซลล์ประสาท ณ บริเวณ CA1, CA3 และ dentate gyrus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ; unpaired t-test)



รูปที่ 30 เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับน้ำกลั่น (+Water) มะม่วง (+Mango) มะละกอ (+Papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (+YJC) ติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน (\* =  $p < 0.05$ ; Student's unpaired t-test เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม)

สำหรับผลการทดลองในหนูแก่เพศเมียแสดงในรูปที่ 31 พบว่า ในสมองของหนูแก่กลุ่มควบคุมมีความหนาแน่นของเซลล์ประสาท ณ บริเวณ CA1, CA3 และ dentate gyrus ของฮิปโปแคมปัสเฉลี่ยเท่ากับ  $14.6 \pm 0.7$ ,  $20.0 \pm 0.7$  และ  $41.5 \pm 3.0$  เซลล์/ตร.มม. ตามลำดับ แต่ของหนูแก่กลุ่มที่ได้รับมะม่วงมีความหนาแน่นของเซลล์ประสาทเฉลี่ยเท่ากับ  $20.0 \pm 0.1^*$ ,  $21.9 \pm 0.1^*$  และ  $47.9 \pm 6.2$  เซลล์/ตร.มม. โดยเฉพาะที่บริเวณ CA1 และ CA3 พบว่ามีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ; Student's unpaired t-test) สำหรับหนูแก่กลุ่มที่ได้รับมะละกอและน้ำมะพร้าวอ่อนจะมีแนวโน้มของการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ประสาทที่คล้ายกัน กล่าวคือ หนูแก่กลุ่มที่ได้รับมะละกอมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ  $21.2 \pm 0.03^*$ ,  $20.6 \pm 0.03$  และ  $60.6 \pm 3.2^{**}$  เซลล์/ตร.มม. และหนูแก่กลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ

$22.9 \pm 0.06^*$ ,  $18.9 \pm 0.07$  และ  $53.1 \pm 4.9^{**}$  เซลล์/ตร.มม. โดยเฉพาะที่บริเวณ CA1 และ dentate gyrus ของหนูทั้งสองกลุ่มนี้ พบว่ามีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.001$ ; Student's unpaired t-test)



รูปที่ 31 เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูแก่เพศเมีย ที่ได้รับน้ำกลั่น (+Water) มะม่วง (+Mango) มะละกอ (+Papaya) และน้ำมะพร้าวอ่อน (+YCJ) ติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน (\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.001$ ; Student's unpaired t-test เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม)

## บทที่ 5

### อภิปรายผล/บทสรุป

ในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สุก มะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์สุก และน้ำมะพร้าวอ่อน นอกจากจะอุดมแร่ธาตุและสารอาหารที่ร่างกายต้องการแล้ว ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่มากมายหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อการทำงานของสมอง ซึ่งจากผลการทดลองเบื้องต้นของโครงการนี้พอสรุปและอภิปรายผลได้เป็นข้อๆ ดังต่อไปนี้

#### 5.1 สารต้านอนุมูลอิสระในผลไม้

มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้และมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ จัดเป็นผลไม้ประเภทรับประทานสุก และเป็นผลไม้เศรษฐกิจที่นิยมปลูกเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก สำหรับมะพร้าวพันธุ์น้ำหอมนิยมปลูกเพื่อรับประทานน้ำ เนื่องจากมีรสหวานและหอม นอกจากการรับประทานผลไม้เหล่านี้เพื่อเป็นอาหารแล้ว ยังเชื่อว่ามีประโยชน์ต่อร่างกาย เนื่องจากมีส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด (Sies and Stahl, 1995; Brat et al., 2006) โดยอาจช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และช่วยบำรุงสมอง (Heo and Lee, 2004; Radenahmadet al., 2011; Preedapirom et al., 2009) มีรายงานวิจัยหลายเรื่องที่จะระบุว่าสารต้านอนุมูลอิสระในผลไม้ เช่น polyphenols, vitamin C และ beta carotene ที่มีส่วนช่วยบำรุงสมองเกี่ยวกับการเรียนรู้และความจำ (Andres-Lacueva et al., 2005, Joseph et al., 2009, Martin et al., 2002, Willis et al., 2009) จากผลการวิจัยนี้พบว่า มะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์มี vitamin C สูงมากที่สุด รองลงมาคือ มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ และน้ำมะพร้าวอ่อน ตามลำดับ แต่สำหรับผลไม้ที่มี beta carotene มากที่สุดคือ มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ ตามด้วยมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์ ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานจากกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข โดย นันทยา จงใจเทศ (2008) และ Charoensiri และคณะ (2009)

สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมะพร้าวอ่อนนอกจากพบว่า vitamin C มากถึง 4.29 มก./100 ก. ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่พบในรายงานที่ผ่านมา (Akhter et al., 2010; Paniappan, 2002; Yong et al., 2009) นอกจาก vitamin C แล้วยังพบว่ามีส่วนประกอบของสารฟีนอลิกชนิดอื่นๆ อีก เช่น catechin (0.56 มก./100 ก.) และ caffeic acid (5.5 มก./100 ก.) ถึงแม้ว่าสารฟีนอลิกดังกล่าวจะมีไม่มากเท่ากับที่มีอยู่ในชาหรือชาเขียว (Kuo et al., 2005) แต่ก็เป็นไปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมะพร้าวอ่อน มีส่วนช่วยปกป้องความเสียหายของเซลล์

ประสาท (lee et al., 2009) หรืออาจเป็นผล oestrogenic effect ของน้ำมะพร้าวอ่อน (Radenahmad et al., 2009)

## 5.2 ผลของผลไม้ต่อน้ำหนักตัวของหนูแก่

ในหนูแก่กลุ่มควบคุมที่ถูกป้อนด้วยน้ำกลั่นและมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์สุก ทุกวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือนมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างจาก ค่าเฉลี่ยในช่วงก่อนป้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์เฉลี่ยปกติของหนูแก่ที่มี น้ำหนักตัวค่อนข้างจะคงที่ สอดคล้องกับข้อมูลรายงานวิจัยเกี่ยวกับน้ำหนักตัวของหนูสายพันธุ์ Sprage-Dawley โดย Altun และคณะ ที่ระบุว่าหนูแก่ในกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ได้รับอาหารเม็ดและน้ำโดยปกติจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับหนู หนูแม่ (Altun et al., 2007)

ในงานวิจัยครั้งนี้ หนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับมะม่วงน้ำดอกไม้มสุก ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าหนูเพศเมียมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยคงที่ แต่ในหนูเพศผู้กลับ มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวลดลงประมาณ 7% หรือเมื่อเปรียบเทียบกับหนูแก่กลุ่มที่ได้รับมะละกอสุกหรือน้ำมะพร้าวอ่อน หนูแก่ที่ได้รับมะม่วงสุกกลับมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยต่ำที่สุด ทั้งๆ ที่ผลการเปรียบเทียบ คุณค่าทางโภชนาการของผลไม้ทั้งสามชนิดแล้วพบว่า มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มไม่มีส่วนประกอบที่เป็น คาร์โบไฮเดรตและให้พลังงานแคลลอรี่ที่สูงที่สุด และมีส่วนประกอบที่เป็นใยไฟเบอร์ในปริมาณ ใกล้เคียงกับมะละกอที่สุด (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, พ.ศ. 2554) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าผล มะม่วงสุกสามารถช่วยในเรื่องของระบบขับถ่าย (Mango: Medicinal Fruit, 2012) มีรายงานวิจัย พบว่าผลมะม่วงสุกบางสายพันธุ์ เช่น สายพันธุ์จากทวีปแอฟริกา เป็นผลไม้ที่เหมาะสมสำหรับการ รับประทานเพื่อการควบคุมน้ำหนักตัว (Lucas et al., 2011; Noor Aziah et al., 2011)

หนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์สุก ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าไม่มีน้ำหนักตัวเปลี่ยนแปลงจากค่าน้ำหนักตัวตอนก่อนป้อนอย่างมีนัยสำคัญ ถึงแม้ว่าผล มะละกอสุกจะมีคาร์โบไฮเดรตที่น้อยกว่ามะม่วงสุก ให้พลังงานแคลลอรี่ต่ำกว่ามะม่วงสุก และมี เส้นใยไฟเบอร์ในปริมาณใกล้เคียงกับมะม่วงสุกก็ตาม (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, พ.ศ. 2554) อย่างไรก็ตาม การรับประทานมะละกอสุกจัดว่าเป็นสิ่งที่ดีต่อสุขภาพของผู้สูงอายุ ที่นอกจากจะให้ สารอาหารได้ครบหมู่ (USDA National Nutrient data base, 2010; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, พ.ศ. 2554) เนื้อมะละกอสุกจะนิ่มทำให้ผู้สูงอายุสามารถรับประทานได้ง่ายเช่นเดียวกับผลมะม่วง สุก และสามารถหาซื้อมารับประทานได้ตลอดทั้งปี

สำหรับผลของการป้อนด้วยน้ำมันมะพร้าวอ่อนด้วยขนาด 1 มล./100 ก. นน.ตัว ทุกวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน ในหนูแก่เพศเมียมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (4.5%) แต่หนู แก่เพศผู้มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นประมาณ 7% ซึ่งอาจเป็นเพราะน้ำมันมะพร้าวอุดมสมบูรณ์ด้วย สารอาหารที่บำรุงร่างกายโดยเฉพาะพวกลำไย (0.4 ก./ น้ำมันมะพร้าว 100 ก.) คาร์โบไฮเดรต และ น้ำตาล (2.6 ก./ น้ำมันมะพร้าว 100 ก.) (Condé Nast., 2012) อย่างไรก็ตาม การเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก ตัวหนูทดลองทั้งสองเพศยังถือว่าอยู่ในช่วงเกณฑ์เฉลี่ยที่ปกติ มีรายงานวิจัยที่ผ่านมาระบุว่า น้ำ มะพร้าวมีประโยชน์ในการช่วยลดปริมาณไขมันในเลือดและในเนื้อเยื่อ ในหนูทดลองที่ได้รับการ ป้อนอาหารที่มี cholesterol สูง (Sandhya and Rajamohan, 2006)

### 5.3 ผลของผลไม้ต่อสมรรถภาพทางกายของหนูแก่

โดยปกติหนูที่มีอายุมากจะมีความแข็งแรงของกล้ามเนื้อต่ำกว่าหนูหนุ่ม ทั้งนี้อาจเกิดจาก การลดลงอย่างมีนัยสำคัญของอัตราเมตาบอลิซึมของโปรตีนในเส้นใยกล้ามเนื้อลาย (Nair, 1995; Fruhbeck et al., 1996) สำหรับผลวิจัยของงานวิจัยนี้พบว่า การป้อนมะม่วงน้ำดอกไม้สุก มะละกอสลดแลนด์สุก หรือน้ำมันมะพร้าวอ่อน ให้กับหนูแก่ตามธรรมชาติที่มีอายุประมาณ 20-22 เดือนขึ้นไป ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน ไม่ได้ช่วยเพิ่มกำลังของกล้ามเนื้อ นอกจากนี้ การป้อน ผลไม้ดังกล่าวไม่ได้มีส่วนช่วยในเรื่องของการบำรุงระบบประสาท ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุม เคลื่อนไหว ดังเห็นได้จากผลการทดสอบด้วยการไต่บนราวไม้และผลการวัดแรงยึดเหนี่ยวของอุ้ง เท้าคู้หน้า ไม่มีผลดีขึ้นหลังจากหนูแก่ได้รับผลไม้ทั้งสองชนิดเปรียบเทียบกับหนูแก่กลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจสืบเนื่องจากหนูแก่ที่เริ่มป้อนมีอายุค่อนข้างมากจนทำให้การได้รับผลไม้ทั้งสองชนิดในช่วง อายุมากขนาดนี้ เช่นเดียวกับกับรายงานการศึกษาในหนูแก่เพศเมียโดย Altun และคณะ ซึ่งพบว่า หนูที่มีอายุตั้งแต่ 18 เดือนขึ้นไปพบว่ามีระยะเวลาที่ไต่บนราวและจำนวนครั้งในการใช้กล้ามเนื้อ ขาในการขึ้นลง (Altun et al., 2007) และสารสำคัญในผลไม้ทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ป้อนในแต่ละวันอาจ มีปริมาณไม่มากเพียงพอ ที่สามารถช่วยฟื้นฟูหรือปกป้องความเสื่อมสมรรถภาพของร่างกายได้ เหมือนกับสารสำคัญในผักหรือผลไม้บางชนิด ตามที่กล่าวในรายงานวิจัย (Joseph et al., 1999, Shukitt-Hale et al., 2009, Willis et al., 2009)

### 5.4 ผลของผลไม้ต่อการเรียนรู้และความจำ

ผลของการทดสอบความจำในหนูแก่ที่ป้อนมะม่วงน้ำดอกไม้สุกและมะละกอสลดแลนด์สุก ได้ผลตรงกันข้ามกับผลต่อสมรรถภาพทางกาย (หัวข้อ 5.2) กล่าวคือ หนูแก่ที่ได้รับผลไม้ทั้งสอง ชนิด (ยกเว้นหนูเพศเมียที่ได้รับมะม่วง) มีแนวโน้มว่ามีความจำดีขึ้น โดยผลการทดสอบความจำ ด้านสถานที่ด้วยวิธี Morris Water Maze test ทั้งหนูแก่ที่ได้รับผลไม้ทั้งสองชนิด ส่วนใหญ่จดจำได้

ว่าโซนที่เคยมีแท่นได้นำสำหรับยื่น (target zone) อยู่ที่ไหน สำหรับการทดสอบแบบ probe trial ที่นำมาประยุกต์ใช้ในการทดลองนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดความทรงจำของหนูทดลองแต่ละกลุ่มที่มี profile การเรียนรู้ใกล้เคียงกันในช่วงการฝึกให้ว่ายน้ำหาแท่นใน 2 สัปดาห์แรก (Preedapirom et al., 2009; Taepavarapruk et al., 2010) ผลอันนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Socci และคณะ ที่พบว่าหนูแก่ (อายุ 24 เดือน) เพศผู้ที่ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ phenyl-  $\alpha$ -*tert*-butylnitron (PBN) 32 mg/kg (i.p.),  $\alpha$ -tocopherol (วิตามินอี) 200 mg/kg (i.p.) ร่วมกับ วิตามินซี 300 mg ให้ทางน้ำดื่ม ทุกวันนาน 2 เดือนจะมีความจำเกี่ยวกับสถานที่ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมที่ได้รับเฉพาะตัวทำละลายชนิดเข้าช่องท้องและหนูแก่ที่ไม่ได้รับสารใดๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทดสอบด้วย Morris Water Maze และ probe trial test แต่ผลการทดสอบสมรรถภาพทางกายกลับพบว่าไม่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับหนูแก่กลุ่มควบคุม (Socci et al., 1995)

สำหรับผลการทดสอบการจดจำวัตถุสิ่งของด้วยวิธี Novel Object Recognition test พบว่าหนูแก่เพศผู้กลุ่มที่ได้รับผลไม้เท่านั้นที่สามารถแยกวัตถุที่เคยสำรวจมาก่อนหน้ากับวัตถุใหม่ได้ค่อนข้างดี ภายหลังจากได้รับการป้อนผลไม้ติดต่อกันทุกวันนาน 3 เดือน ทั้งนี้อาจเป็นผลของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีมากในผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สุก และผลมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์สุก (สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2549) ที่ออกฤทธิ์ต่อสมองและช่วยให้หนูกลุ่มนี้มีการเรียนรู้และความจำไม่บกพร่องมากเหมือนกับในหนูแก่กลุ่มควบคุม ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์นี้อาจเกิดจากสารต้านอนุมูลอิสระในผลไม้เหล่านี้ที่กระตุ้นกลไก cell signaling และ gene expression ในเซลล์ประสาท ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของซินแนปส์ (synaptic plasticity) หรือเพิ่มการไหลเวียนเฉพาะที่ (Spencer, 2009, 2010a, 2010b)

ในทางตรงกันข้ามกับผลของหนูแก่เพศเมียที่ไม่สามารถแสดงการแยกแยะวัตถุเก่าและวัตถุใหม่ได้อย่างชัดเจนและมีความบกพร่องเกี่ยวกับความจำด้านสถานที่ ทั้งนี้อาจสืบเนื่องจากภาวะบกพร่องทางฮอร์โมนเพศของหนูแก่เพศเมีย (Simpkins et al., 1997, Youdim and Joseph, 2001) ซึ่งงานวิจัยขั้นต่อไปอาจช่วยตอบข้อสงสัยนี้ได้ ถ้าการป้อนน้ำมะพร้าวอ่อนทุกวันนาน 3 เดือนสามารถช่วยเรื่องการเรียนรู้และความจำในหนูแก่เพศเมียได้ ก็จะสอดคล้องกับผลการวิจัยในหนูเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ของนิซาคูตะห์ ระเด่นอาหมัด และคณะ (Radenahmad et al., 2009) ที่ระบุว่าฮอร์โมนเพศ (estrogen) มีส่วนสำคัญต่อการเสื่อมของสมองและความจำของหนูแก่เพศเมีย จากผลการทดลองหนูแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับมะม่วงสุกและน้ำมะพร้าวอ่อนทุกวัน ติดต่อกันนาน 3 เดือน สามารถปกป้องการบกพร่องของความจำเกี่ยวกับสถานที่อันเนื่องมาจากความชรา ซึ่งอาจเป็นฤทธิ์ปกป้องการเสื่อมของเซลล์ประสาทของสารต้านอนุมูลอิสระในผลไม้ (Spencer, 2009,



2010a, 2010b) และการได้รับฮอร์โมน estrogen ทดแทนจากสารพวก phytoestrogens ในน้ำมะพร้าวอ่อน (Punghmatharith, 1988)

อย่างไรก็ตาม กลไกการออกฤทธิ์ของผลไม้แต่ละชนิดยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สุก มะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์สุก และน้ำมะพร้าวอ่อน มีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ไทยชนิดอื่นๆ (สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2549) สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้อาจเป็นสิ่งที่ช่วยปกป้องและฟื้นฟูให้เซลล์สมองมีการทำงานที่ปกติโดยการกำจัดอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของกลุ่มโรคจากความเสื่อมของระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับความชรา (Lau et al., 2005; Shukitt-Hale et al., 2007)

## 5.5 ผลของผลไม้ต่อสารสื่อประสาทในฮิปโปแคมปัส

จากผลการวิจัยนี้ เมื่อพิจารณาเฉพาะระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้นพบว่า หนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงสุกหรือมะละกอสุกไม่ได้ช่วยเพิ่มระดับของสารสื่อประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส สำหรับผลในหนูแก่เพศเมียกลับพบว่ามี的增加ของระดับ glutamine แต่ผลในหนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนพบว่ามีระดับกลูตามีน กลูตาเมต และ กาบา เพิ่มขึ้น และในหนูเพศเมียยังพบว่ามีระดับแอสปาร์เทตที่เพิ่มขึ้น

กลูตามีนจัดเป็นกรดอะมิโนที่ไม่มีฤทธิ์เป็นสารสื่อประสาทโดยตรง แต่เป็นสารตั้งต้น (precursor) ที่สำคัญต่อการสร้างกลูตาเมต และ กาบา (Bradford et al., 1978; Tapia and Gonzalez, 1978) สำหรับกลูตาเมตและแอสปาร์เทตจัดเป็นสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อระบบประสาทส่วนกลาง รวมทั้งที่สมองส่วนฮิปโปแคมปัสซึ่งเป็นสมองที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำ เนื่องจากการถ่ายทอดสัญญาณประสาทจากใยประสาทขาเข้า (Schaffer collateral fiber) เซลล์พิวมาติดอาศัยกลูตาเมตเป็นสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้นที่สำคัญ (excitatory neurotransmitter) เมื่อสารสื่อประสาทดังกล่าวหลั่งจากปลายประสาท จะไปจับกับตัวรับที่ postsynaptic membrane ซึ่งอาจเป็นชนิด ionotropic receptors ได้แก่ NMDA receptor, AMPA receptor และ kainate receptor เป็นต้น หรืออาจจับกับตัวรับชนิด metabotropic receptors ได้แก่ตัวรับในกลุ่ม mGluRs โดยถ้าสารสื่อประสาทจับกับตัวรับชนิด NMDA receptor จะสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของตัวรับ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของซินแนปส์ให้ใหญ่ขึ้น หรือการเพิ่มจำนวนของ postsynaptic spine ณ บริเวณเดนไดรต์ของเซลล์ประสาทพิวมาติด ส่งผลให้ประสิทธิภาพการถ่ายทอดสัญญาณประสาทเกิดได้ดีมากขึ้นและคงอยู่ได้อย่างยาวนาน หรือที่รู้จักกันดีว่าเป็นปรากฏการณ์ long-term potentiation (Kandel et al., 2013)

สำหรับกาบ้ำเป็นสารสื่อประสาทชนิดยับยั้งที่พบได้ทั่วไปในระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้การทำงานของระบบประสาทเกิดความสมดุล โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเกิดภาวะที่เซลล์ประสาทถูกกระตุ้นมากเกินไปจากสารสื่อประสาทชนิดกระตุ้น ผลของการรับประทานผลไม้บางชนิดทำให้ระดับของกาบ้ำในสมองเพิ่มมากขึ้นอาจเป็นผลทางอ้อมจากการเพิ่มระดับของสารตั้งต้น หรือการเพิ่มกระบวนการสร้างสารสื่อประสาทชนิดนี้ในเซลล์ประสาท ทั้งนี้เนื่องจากกาบ้ำไม่สามารถผ่านโครงสร้าง blood-brain barrier เข้าสู่เซลล์สมองได้ (Kuriyama and Sze, 1971)

## 5.6 ผลของผลไม้ต่อจำนวนเซลล์ประสาทในฮิปโปแคมปัส

ฮิปโปแคมปัสมีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการเรียนรู้และความจำ ความเสื่อมของสมองส่วนนี้ส่งผลให้ไม่สามารถเรียนรู้สิ่งใหม่ๆ ได้ (anterograde amnesia) ซึ่งเป็นอาการที่พบในผู้สูงอายุที่กำลังมีการเสื่อมของสมอง และในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Stoub et al., 2006) ที่มีการลดลงของเซลล์ประสาทพिरามิดในสมองส่วนนี้ (West et al., 2004)

จากผลการทดลองเมื่อนับจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสในหนูแก่ทั้งสองเพศ ที่ได้รับมะม่วงสุกและมะละกอสุก พบว่ามีจำนวนเซลล์พिरามิดที่มากกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุม ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิด เช่น วิตามินซี และเบต้าแคโรทีน ที่มีมากในมะม่วงสุกและมะละกอสุก มีส่วนช่วยในการปกป้องกระบวนการทำให้เซลล์ประสาทตาย (apoptotic process) หรือการลดความเครียดอันเกิดจากสารอนุมูลอิสระ (oxidative stress) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ตามธรรมชาติที่พบในสมองของหนูแก่ (Bhoopat et al., 2011; Lau et al., 2007; Nakagawa et al., 2011) ซึ่งเมื่อหนูแก่ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากผลไม้ติดต่อกันทุก เป็นเวลานาน 3 เดือน อาจทำให้มีการสะสมในร่างกายจนถึงระดับที่สามารถช่วยปกป้องการตายของเซลล์ประสาทพिरามิด และช่วยฟื้นฟูการเรียนรู้และความจำในหนูแก่ (Socci et al., 1995) หรืออาจเกิดจากฤทธิ์ของสารจำพวก phytoestrogen ในน้ำมะพร้าวอ่อนที่สามารถช่วยปกป้องการตายของเซลล์ประสาทได้เช่นกัน (Radenahmad et al., 2009)

## 5.7 บทสรุป

ผลต่อน้ำหนักตัวอาจสรุปได้ว่า เมื่อป้อนมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้สุกหรือมะละกอพันธุ์ฮอลแลนด์สุก ให้หนูแก่ทุกวันๆ ละครั้ง ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 3 เดือน ไม่ทำให้หนูแก่ส่วนใหญ่น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง แต่หนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

ผลการทดสอบสมรรถภาพทางกาย เช่น การไต่บันไดขั้นไม้ และการทรงตัวบนแกนหมุน สรุปว่าหลังจากหนูแก่ได้รับผลไม้ทั้ง 3 ชนิด ทุกวันติดต่อกันนาน 3 เดือน สรุปว่าไม่ได้มีผลช่วยเสริมสมรรถภาพทางกายให้ดีขึ้นกว่าในช่วงก่อนป้อน

ผลการทดสอบความสามารถในการเรียนรู้และจดจำ สรุปได้ว่าหนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับมะม่วงสุกและหนูแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน มีความสามารถในการจดจำด้านสถานที่ที่ดีขึ้น และเฉพาะหนูแก่เพศผู้ที่ได้รับมะม่วงสุก วัตถุสิ่งของได้ดีกว่าหนูแก่กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

ผลของการป้อนผลไม้ต่อระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในสมอง สรุปว่าในหนูแก่ทั้งสองเพศที่ได้รับมะม่วงสุกมีการเพิ่มการทำงานของระดับเอนไซม์ดังกล่าวสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูแก่กลุ่มควบคุม

ผลต่อการเพิ่มระดับสารสื่อประสาทชนิดกรดอะมิโนและจำนวนเซลล์ประสาทในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส สรุปได้ว่าน้ำมะพร้าวอ่อนทำให้ระดับของกลูตาามิน กลูตาเมต และกาบ้าในสมองหนูแก่ทั้งสองเพศเพิ่มขึ้น และทำให้ระดับของแอสปาเตทในสมองหนูแก่เพศเมียเพิ่มขึ้น มะม่วงสุกทำให้เพิ่มระดับของกลูตาามินในสมองหนูแก่เพศเมีย และมะละกอสุกทำให้เพิ่มระดับของกลูตาามินและกาบ้าในสมองหนูแก่เพศเมีย

ผลการตรวจวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดในผลไม้ทั้งสามชนิดสรุปได้ว่า มะละกอฟันธุ์ฮอลแลนด์สุกมีวิตามินซีมากที่สุด มะม่วงน้ำดอกไม้สุกมีวิตามินบีต้าแคโรทีนมากที่สุด และเป็นผลไม้ชนิดเดียวที่มี gallic acid สำหรับน้ำมะพร้าวอ่อนมี catechin และ caffeic acid มากที่สุด

สำหรับประโยชน์ที่ได้จากผลวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลทางโภชนาการในการเลือกบริโภคผลไม้แต่ละชนิดได้ และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาผลของการบริโภคผลไม้นี้ดังกล่าวต่อสุขภาพในเชิงลึกต่อไป

### บรรณานุกรม

- Abdalla AEM, Darwish SM, Ayad EHE and El-Hamahmy RM (2007). Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. Food Chem. 103: 1141-1152.
- Ajila CM, Aalami M, Leelavathi K and Prasada Rao UJS (2009). Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. Innovative Food Science and Emerging Technologies. doi:10.1016/j.ifset.2009.10.004.
- Altun M, Bergman E, Edström E, Johnson H, Ulfhake B (2007) Behavioral impairments of the aging rat. Physiology & Behavior 92:911-923.
- Andres-Lacueva C, Shukitt-Hale B, Galli RL, Jauregui O, Lamuela-Raventos RM, Joseph JA (2005) Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory. Nutritional neuroscience 8:111-120.
- Anilakumar KR, Khanum f, Krishna KRS, Santhanam K (2003) Reduction of dimethylhydrazine-induced cytotoxicity by mango fruit bar: changes in antioxidant enzymes in rats. Plant Foods Hum Nutr 58: 1–11.
- Berardini N, Fezer R, Conrad J, Beifuss U, Carle R and Schieber A (2005). Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol Oand xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin. J. Agr. Food Chem., 53: 1563-1570.
- Bhoopat L, Srichairatanakool S, Kanjanapothi D, Taesotikul T, Thananchai H, Bhoopat T (2011) Hepatoprotective effects of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.): a combination of antioxidant and anti-apoptotic activities. J Ethnopharmacol 136:55-66.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Ann Bot 91 Spec No:179-194.
- Bradford HF, Ward HK, Thomas AJ (1978) Glutamine--a major substrate for nerve endings. Journal of neurochemistry 30:1453-1459.
- Brat P, George S, Bellamy A, Du Chaffaut L, Scalbert A, Mennen L, Arnault N, Amiot MJ (2006) Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. The Journal of nutrition 136:2368-2373.

- Bravo L (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56: 317–333.
- Burns J, Fraser PD, Bramley PM (2003) Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. *Phytochemistry* 62: 939–947.
- Calhoun ME, Kurth D, Phinney AL, Long JM, Hengemihle J, Mouton PR, et al. (1998) Hippocampal neuron and synaptophysin-positive bouton number in aging C57BL/6 mice. *Neurobiol Aging* 19(6):599–606.
- Charoensiri R, Kongkachuichai R, Suknicom S, Sungpuag P (2009) Beta-carotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. *Food Chemistry* 113:202-207.
- Chen CF, Chen SM, Chow SY, Han PW (1981) Protective effects of *Carica papaya* Linn on the exogenous gastric ulcer in rats. *The American journal of Chinese medicine* 9:205-212.
- Chytil F (1999) Vitamin A: Not for vision only. *Br J Nutr* 82: 161–162.
- Condé Nast. (2012) Nutrition Facts. สืบค้นจาก <http://nutritiondata.self.com/facts/nut-and-seed-products/3115/2> เมื่อ ต.ค. 2555.
- DebMandal M, Mandal S (2011) Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): in health promotion and disease prevention. *Asian Pac J Trop Med* 4:241-247.
- Diplock AT, Charleux JI, Crozier-Willi G, Kok Fj, Rice-Evans C, Roberfroid M et al. (1998) Functional food science and defense against reactive oxidative species. *Br J Nutr* 80: s77–s112.
- Duerr C. (2010) Conocut water: Nature's sweet, low-cal hangover relief. *The Time Magazine U.S.* Date of issue: Moday May 31, 2010.
- Engels C, Knödler M, Zhao YY, Carle R, Gänzle MG and Schieber A (2009). Antimicrobial activity of gallotannins isolated from mango (*Mangifera indica* L.) kernels. *J. Agr. Food Chem.*, 57: 7712-7718.

- Eno AE, Owo OI, Itam EH, Konya RS (2000) Blood pressure depression by the fruit juice of *Carica papaya* (L.) in renal and DOCA-induced hypertension in the rat. *Phytother Res* 14:235-239.
- FAO STAT (2005) FAO Statistical Database – Agriculture. <http://apps.fao.org>. Accessed: February, 2005.
- Floyd RA (1999) Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Exp. Biol. Med.*, 222, 236-245.
- Fruhbeck G, Muguerza B, Castilla-Cortazar I, Santidrian S (1996) Effect of aging on the rate of muscle protein turnover in rat. *Rev Esp Fisiol* 52:207-214.
- USDA National Nutrient data base 2010. Fruit nutrition facts. สืบค้นจาก <http://www.nutrition-and-you.com> เมื่อ ต.ค. 2555
- Fu T, Liang J, Han G, Lv L, Li N (2008) Simultaneous determination of the major active components of tea polyphenols in rat plasma by a simple and specific HPLC assay. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 875:363-367.
- Galli RL, Shukitt-Hale B, Youdim KA, Joseph JA (2002) Fruit polyphenolics and brain aging: nutritional interventions targeting age-related neuronal and behavioral deficits. *Ann N Y Acad Sci* 959:128-132.
- Godoy TH, Rodriguez-Amaya DB (1989) Carotenoid composition of commercial mangoes from Brazil. *Libensm-Wissu-Techonol* 22: 100–103.
- Guralnik JM, Ferrucci L. Demography and epidemiology. In: Hazzard WR, Blass JP, Halter JB, Ouslander JG, Tinetti ME, editors. *Principles of Geriatric Medicine and Gerontology*. 5th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2003. pp. 53–75.
- Gurung S, Skalko-Basnet N (2009) Wound healing properties of *Carica papaya* latex: in vivo evaluation in mice burn model. *Journal of ethnopharmacology* 121:338-341.
- Heo HJ, Lee CY (2004) Protective effects of quercetin and vitamin C against oxidative stress-induced neurodegeneration. *J Agric Food Chem* 52:7514-7517.
- Herraiz T, Galisteo J (2002) Identification and occurrence of the novel alkaloid pentahydroxypentyl-tetrahydro-beta-carboline-3-carboxylic acid as a tryptophan glycoconjugate in fruit juices and jams. *J Agric Food Chem* 50:4690-4695.

- Hickey S, Roberts H (2005) Misleading information on the properties of vitamin C. *PLoS Med* 2:e307.
- Imao K, Wang H, Komatsu M, Hiramatsu M (1998) Free radical scavenging activity of fermented papaya preparation and its effect on lipid peroxide level and superoxide dismutase activity in iron-induced epileptic foci of rats. *Biochemistry and molecular biology international* 45:11-23.
- Ingram DK (1985) Analysis of age-related impairments in learning and memory in rodent models. *Ann N Y Acad Sci* 444:312-331.
- IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. National Academy Press, Washington, DC., 2000, 506p.
- Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA, Bielinski D, Martin A, McEwen JJ, Bickford PC (1999) Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. *J Neurosci* 19:8114-8121.
- Joseph JA, Shukitt-Hale B, Lau FC (2007) Fruit polyphenols and their effects on neuronal signaling and behavior in senescence. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1100:470-485.
- Joseph JA, Shukitt-Hale B, Willis LM (2009) Grape juice, berries, and walnuts affect brain aging and behavior. *The Journal of nutrition* 139:1813S-1817S.
- Kandel ER., Schwartz JH., Jessell TM., Siegelbaum SA, Hudspeth AJ. (2013) *Principles of Neural Science*, Fifth Edition, The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Kauer C, Kapoor HC (2001) Antioxidants in fruits and vegetables—the millenium's health. *Int J Food Sci Technol* 36: 703–725.
- Komatsu M, and Hiramatsu M. (2000). The efficacy of an antioxidant cocktail on lipid peroxide level and superoxide dismutase activity in aged rat brain and DNA damage in iron-induced epileptogenic foci. *Toxicology*, 148, 143-8.

- Kongkachuichai R, Charoensiri R, Sungpuag P (2010) Carotenoid, flavonoid profiles and dietary fiber contents of fruits commonly consumed in Thailand. *Int J Food Sci Nutr* 61:536-548.
- Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonamone A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD (2002) Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 113: 71S–81S.
- Krishna, K L, Paridhavi, M Patel, Jagruti A, Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.), Natural product radiance, Volume 7 (4), 2008, pp- 364-373
- Kuo KL, Weng MS, Chiang CT, Tsai YJ, Lin-Shiau SY, Lin JK (2005) Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong, black, pu-erh, and green tea leaves in rats. *Journal of agricultural and food chemistry* 53:480-489.
- Kuriyama K, Sze PY (1971) Blood–brain barrier to H<sup>3</sup>-gamma-aminobutyric acid in normal and amino oxyacetic acid-treated animals. *Neuropharmacology* 10 (1): 103–108.
- Lau FC, Shukitt-Hale B, Joseph JA (2005) The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. *Neurobiol Aging* 26 Suppl 1:128-132.
- Lee, Y. K., Yuk, D. Y., Lee, J. W., Lee, S. Y., Ha, T. Y., Oh, K. W., et al. (2009). (-)-Epigallocatechin-3-gallate prevents lipopolysaccharide-induced elevation of beta-amyloid generation and memory deficiency. *Brain Research*, 1250(1), 164-174.
- Leontowicz H, Leontowicz M, Haruenkit R, Poovarodom S, Jastrzebski Z, Drzewiecki J, Ayala AL, Jesion I, Trakhtenberg S, Gorinstein S (2008) Durian (*Durio zibethinus* Murr.) cultivars as nutritional supplementation to rat's diets. *Food Chem Toxicol* 46:581-589.
- Lindroth, P. & Mopper, K. (1979). High Performance Liquid Chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with O-Phthaldialdehyde. *Analytical Chemistry*, 51, 1667-1674.



- Lucas EA, Li W, Peterson SK, Brown A, Kuvibidila S, Perkins-Veazie P, Clarke SL, Smith BJ (2011) Mango modulates body fat and plasma glucose and lipids in mice fed a high-fat diet. *Br J Nutr* 106:1495-1505.
- Mahshid Dehghan (2007) Is plasma vitamin C an appropriate biomarker of vitamin C intake? A systematic review and meta-analysis.
- Mango: Medicinal Fruit (2012) Vedic Heritage Inc. สืบค้นจาก <http://www.vedicheritageinc.com/healthmedicine/46-mangomedicine> เมื่อ ต.ค. 2555
- Martínez Sa´nchez G, Candelario Jalil E, Giuliani A, Leo´n Ferna´ndez OS, Ram S, Delgado Herna´ndez R, Nu´ñez Selle´s AJ. (2001) *Mangifera indica* L. Extract (Vimang) reduces ischaemia-induced neuronal loss and oxidative damage in gerbil brain. *Free Radic Res* 35:465–473.
- Martin A, Cherubini A, Andres-Lacueva C, Paniagua M, Joseph J (2002) Effects of fruits and vegetables on levels of vitamins E and C in the brain and their association with cognitive performance. *The journal of nutrition, health & aging* 6:392-404.
- McEwen BS (1999) Stress and the aging hippocampus. *Front Neuroendocrinol* 20:49-70.
- Morris, R. G. (1984) Development of a Water-Maze Procedure for Studying Spatial Learning in Rat,” *J. Neurosci Methods*, Vol. 11, No. 1, pp. 47-60.
- Multhaup, G.; Ruppert, T.; Schlicksupp, A.; Hesse, L.; Beher, D.; Masters, C. L.; Beyreuther, K. (1997) Reactive oxygen species and Alzheimer’s disease. *Biochem Pharmacol*, 54, 533-539.
- Mumby DG. (2001) Perspectives on Object-Recognition Memory Following Hippocampal Damage: Lessons from Studies in Rats. *Behav Brain Res*, Vol. 127, No. 1, pp. 159-181.
- Nagy S (1980) Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. *J Agric Food Chem* 28: 8–18.

- Nakagawa K, Kiko T, Miyazawa T, Sookwong P, Tsuduki T, Satoh A (2011) Amyloid beta-induced erythrocytic damage and its attenuation by carotenoids. *FEBS Lett* 585:1249-1254.
- Nair KS (1995) Muscle protein turnover: methodological issues and the effect of aging. *The journals of gerontology* 50 Spec No:107-112.
- Noda Y, Murakami S, Mankura M, Mori A (2008) Inhibitory effect of fermented papaya preparation on hydroxyl radical generation from methylguanidine. *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 43:185-190.
- Noor Aziah AA, Lee Min W, Bhat R (2011) Nutritional and sensory quality evaluation of sponge cake prepared by incorporation of high dietary fiber containing mango (*Mangifera indica* var. Chokanan) pulp and peel flours. *International journal of food sciences and nutrition*.
- Oliveira Dda S, Lobato AL, Ribeiro SM, Santana AM, Chaves JB, Pinheiro-Sant'Ana HM (2010) Carotenoids and Vitamin C during Handling and Distribution of Guava (*Psidium guajava* L.), Mango (*Mangifera indica* L.), and Papaya (*Carica papaya* L.) at Commercial Restaurants. *J Agric Food Chem* 58:6166-6172.
- Otsuki N, Dang NH, Kumagai E, Kondo A, Iwata S, Morimoto C (2011) Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. *Journal of ethnopharmacology* 127:760-767.
- Packer L, Traber MG, Kraemer K, Frei B (2002) The antioxidant vitamins C and E: vitamins C and E for health. *J Am Oil Chem Soc*.
- Paniappan S (2002). "The Mystery Behind Coconut Water". *The Hindu*. Issued on December 12, 2002.
- Pappolla, M A; Chyan, YJ; Omar, R A; Hsiao, K; Perry, G.; Smith, M. A.; Bozner, P. (1998) Evidence of oxidative stress and in ViVo neurotoxicity of beta-amyloid in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: a chronic oxidative paradigm for testing anti-oxidant therapies in vivo. *Am. J. Pathol.*, 152, 871-877.

- Pardo-Andreu GL, Philip SJ, Riano A, Sanchez C, Viada C, Nunez-Selles AJ, Delgado R (2006) *Mangifera indica* L. (Vimang) protection against serum oxidative stress in elderly humans. *Arch Med Res* 37:158-164.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S.E. & Briley, M. (1985) Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 14, 149–167.
- Perron N, Brumaghim J (2009) A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochemistry and Biophysics* 53:75-100.
- Prasad S, Kalra N, Singh M, Shukla Y (2008) Protective effects of lupeol and mango extract against androgen induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Asian journal of andrology* 10:313-318.
- Preedapirom W, Sombutthaweeikul R, Lerdtragool S, Taepavarapruk N, Taepavarapruk P (2009) Neuroprotective effects of green tea by-product in amyloid beta peptide-induced amnesic rats. The 38th Physiological Society of Thailand's Annual Conference, P-16: 84.
- Punghmatharith B (1988) Sex hormone-like substances in young coconut juice and their effects on uterine growth in rats. *Songklanakarin J Sci Tech* 10, 221–226.
- Quinn R (2005) Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? *Nutrition* 21:775-777.
- Radenahmad N, Saleh F, Sawangjaroen K, Rundorn W, Withyachumnarnkul B, Connor JR (2009) Young coconut juice significantly reduces histopathological changes in the brain that are induced by hormonal imbalance: a possible implication to postmenopausal women. *Histol Histopathol* 24:667-674.
- Radenahmad N, Saleh F, Sawangjaroen K, Vongvatcharanon U, Subhathirasakul P, Rundorn W, Withyachumnarnkul B, Connor RJ. (2011) Young coconut juice, a potential therapeutic agent that could significantly reverse some pathologies associated with Alzheimer's disease: Novel findings. *Br J Nutr.* 105(5): 738-46.
- Rapp PR, Gallagher M. Preserved neuron number in the hippocampus of aged rats with spatial learning deficits. (1996) *Proc Natl Acad Sci USA* 93(18):9926–30.

- Rasmussen T, Schliemann T, Sorensen JC, Zimmer J, West MJ. (1996) Memory impaired aged rats: no loss of principal hippocampal and subicular neurons. *Neurobiol Aging* 17(1):143–7.
- Rice-Evans C, Miller N, Paganga G (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2:152-159.
- Riddle and Lichtenwalner. *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*. Riddle DR, editor. Chapter 6 Neurogenesis in the Adult and Aging Brain. Boca Raton (FL): CRC Press; 2007.
- Rocha Ribeiro SM, Queiroz JH, Lopes Ribeiro de Queiroz ME, Campos FM, Pinheiro Sant'ana HM (2007) Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *Plant Foods Hum Nutr* 62:13-17.
- Rodefer JS and Baxter MG (2007) Chapter 3: Neuropsychology of Cognitive Aging in Rodents. in *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*. Riddle DR, editor. Boca Raton (FL): CRC Press.
- Ross MA (1994) Determination of ascorbic acid and uric acid in plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl* 657:197-200.
- Sala AV (2005) *Carica papaya*. In: *Indian Medicinal Plants & Compendium of 500 species*. 1<sup>st</sup> edition. Vol I. Orient Longman Pvt Ltd. Hyderabad. p. 383-384.
- Sandhya VG, Rajamohan T (2006) Beneficial effects of coconut water feeding on lipid metabolism in cholesterol-fed rats. *J Med Food* 9:400-407.
- Scalbert A, Williamson G (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 130:2073S-2085S.
- Shieber A, Ulrich W, Carle R (2000) Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innov Food Sci Emerg Technol* 1: 161–166.
- Shukitt-Hale B, Carey AN, Jenkins D, Rabin BM, Joseph JA (2007) Beneficial effects of fruit extracts on neuronal function and behavior in a rodent model of accelerated aging. *Neurobiol Aging* 28:1187-1194.

- Shukitt-Hale B, Cheng V, Joseph JA (2009) Effects of blackberries on motor and cognitive function in aged rats. *Nutr Neurosci* 12:135-140.
- Sies H, Stahl W (1995) Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *The American journal of clinical nutrition* 62:1315S-1321S.
- Simpkins JW, Green PS, Gridley KE, Singh M, de Fiebre NC, Rajakumar G (Role of estrogen replacement therapy in memory enhancement and the prevention of neuronal loss associated with Alzheimer's disease. *Am J Med* 103:19S-25S.1997).
- Simpkins JW, Green PS, Gridley KE, Singh M, de Fiebre NC, Rajakumar G (1997) Role of estrogen replacement therapy in memory enhancement and the prevention of neuronal loss associated with Alzheimer's disease. *Am J Med* 103:19S-25S.
- Socci DJ, Crandall BM, Arendash GW (1995) Chronic antioxidant treatment improves the cognitive performance of aged rats. *Brain Res* 693:88-94.
- Sombuthaweeikul R, Preedapirom W, Nakdook W, Lerdtragool S, Taepavarapruk P, and Taepavarapruk N (2009) Screening of the nootropic effect of green tea byproduct in old rats. *The 38th Physiological Society of Thailand's Annual Conference*, O-06: 56.
- Spencer JP (2009) Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms. *Genes Nutr* 4: 243-250.
- Spencer JP (2010a) The impact of fruit flavonoids on memory and cognition. *Br J Nutr* 104 Suppl 3: S40-47.
- Spencer JP (2010b) Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. *Proc Nutr Soc* 69: 244-260.
- Spencer JP, Vauzour D, Rendeiro C (2009) Flavonoids and cognition: the molecular mechanisms underlying their behavioural effects. *Arch Biochem Biophys* 492: 1-9.
- Sripanidkulchai B, Wongpanich V, Laupattarakasem P, Suwansaksri J, Jirakulsomchok D (2001) Diuretic effects of selected Thai indigenous medicinal plants in rats. *Journal of ethnopharmacology* 75:185-190.

- Stoub, T.R., DeToledo, M.L., Stebbins, G.T., Leurgans, S., Bennett, D.A., and Shan, R.C. (2006). Hippocampal disconnection contributes to memory dysfunction in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(1), 10041-10045.
- Taepavarapruk P, Taepavarapruk N. and Lerdtrakul S. (2010) Screening of the effects of extracts from green tea byproduct on learning and memory. Thailand Research Fund (TRF).
- Tapia R, Gonzalez RM (1978) Glutamine and glutamate as precursors of the releasable pool of gaba in brain cortex slices. *Neuroscience Letters* 10:165-169.
- กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2011) Thaifruits-Online.com สืบค้นจาก [www.thaifruits-online.com](http://www.thaifruits-online.com) เมื่อ ต.ค. 2555
- USDA dietary guidelines for Americans 2010. Chapter 4 Foods and Nutrients to Increase. <http://www.cnpp.usda.gov/DGAs2010-PolicyDocument.htm> (October 2012)
- West, M. J., Kawas, C. H., Stewart, W. F., Rudow, G. L., and Troncoso, J. C. (2004). Hippocampal neurons in pre-clinical Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 25(1), 1205-1212.
- Williams CM, El Mohsen MA, Vauzour D, Rendeiro C, Butler LT, Ellis JA, Whiteman M, Spencer JP (2008) Blueberry-induced changes in spatial working memory correlate with changes in hippocampal CREB phosphorylation and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels. *Free Radic Biol Med* 45: 295-305.
- Willis LM, Shukitt-Hale B, Cheng V, Joseph JA (2009) Dose-dependent effects of walnuts on motor and cognitive function in aged rats. *Br J Nutr* 101: 1140-1144.
- Willis LM, Shukitt-Hale B, Joseph JA (2009) Recent advances in berry supplementation and age-related cognitive decline. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 12:91-94.
- Wilson IA, Ikonen S, Gureviciene I, McMahan RW, Gallagher M, Eichenbaum H, Tanila H (2004) Cognitive aging and the hippocampus: how old rats represent new environments. *J Neurosci* 24: 3870-3878.

- Yatin SM, Aksenov M, Butterfiel DA (1999). The antioxidant vitamin E modulates amyloid  $\beta$ -peptide-induced creatine kinase activity inhibition and increased protein oxidation: implications for the free radical hypothesis of Alzheimer's disease. *Neurochem Res* 24: 427-35.
- Yong JW, Ge L, Ng YF, Tan SN (2009) The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water. *Molecules* 14:5144-5164.
- Youdim KA, Joseph JA (2001) A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: a multiplicity of effects. *Free Radic Biol Med* 30:583-594.
- Youdim KA, Joseph JA (A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: a multiplicity of effects. *Free Radic Biol Med* 30:583-594.2001).
- Zhang J, Mori A, Chen Q, Zhao B (2006) Fermented papaya preparation attenuates beta-amyloid precursor protein: beta-amyloid-mediated copper neurotoxicity in beta-amyloid precursor protein and beta-amyloid precursor protein Swedish mutation overexpressing SH-SY5Y cells. *Neuroscience* 143:63-72.
- นันทยา จงใจเทศ (2008) “องค์ความรู้เรื่องปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในผลไม้เพื่อส่งเสริมสุขภาพ (วิตามินซี วิตามินอี และ เบต้าแคโรทีน) ในผลไม้”. กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (สธ.)

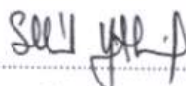
## ภาคผนวก ก.



**เอกสารรับรองโครงการ**  
**คณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยนเรศวร**

|                               |                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ชื่อโครงการ                   | ผลบำรุงระบบประสาทของมะม่วง มะละกอ และน้ำมะพร้าวอ่อนต่อ<br>ความจำและสมรรถภาพทางกายให้แก่นู<br>Neurotonic effects of mango, papaya, and young coconut juice<br>on memory and psychomotor activity in aging rats. |
| เลขที่โครงการ                 | NU-AE540109                                                                                                                                                                                                    |
| เลขที่เอกสารรับรอง            | 54 04 0003                                                                                                                                                                                                     |
| ประเภทการรับรอง               | เต็มรูปแบบ                                                                                                                                                                                                     |
| ชื่อหัวหน้าโครงการ/ผู้ยื่นขอฯ | ผศ.ดร.นิวัติ เทพวราพฤกษ์                                                                                                                                                                                       |
| สังกัดหน่วยงาน /คณะ           | วิทยาศาสตร์การแพทย์                                                                                                                                                                                            |
| วันที่รับรอง                  | วันที่ 21 มิถุนายน 2554                                                                                                                                                                                        |

ขอรับรองว่าโครงการวิจัยนี้ ได้รับการรับรองด้านจรรยาบรรณการใช้สัตว์  
จากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยนเรศวร



(รองศาสตราจารย์ ดร.สุกกิจ โยะโสธรศรีกุล)

ประธานคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

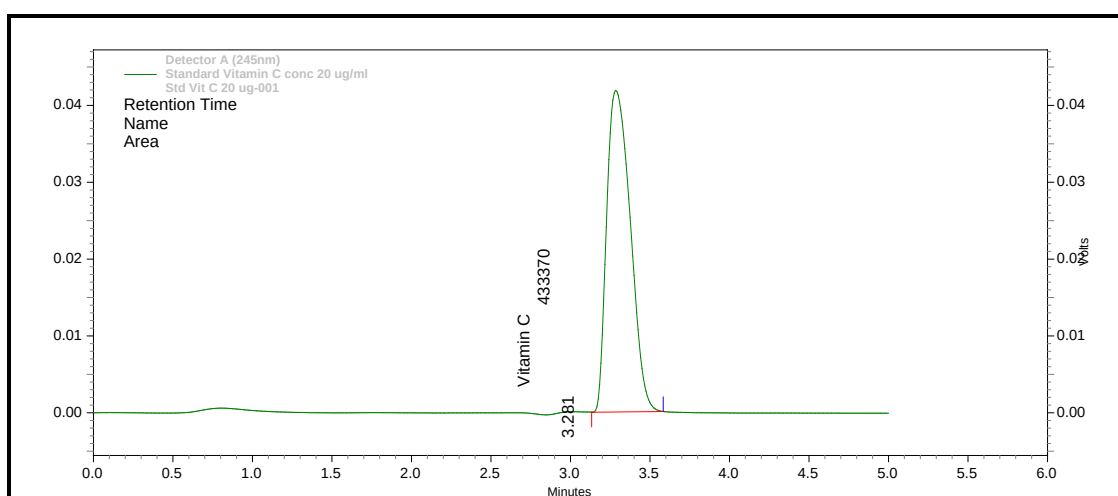


## ภาคผนวก ข.

### ผลวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานด้วยเทคนิค HPLC

#### 1. การตรวจสอบวิธีวิเคราะห์วิตามินซีด้วยเทคนิค HPLC

ผลการวิเคราะห์ระดับวิตามินซีด้วยเทคนิค HPLC เมื่อเตรียมจากสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 20, 50, 100, 200, 300, 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ได้จากการเจือจางของสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลายเมทานอล ซึ่งเมื่อฉีดเข้าเครื่อง HPLC แล้วได้โครมาโตแกรมดังตัวอย่างแสดงในรูป 32 และเมื่อทำการฉีดสารละลายมาตรฐานในวันเดียวกัน 6 ตัวอย่าง (intraday precision) แล้ววัดค่าพื้นที่ใต้กราฟของวิตามินซีจากโครมาโตแกรมทั้ง 6 ตัวอย่าง จะได้ค่าข้อมูลดิบดังแสดงในตารางที่ 8 และเมื่อทำการฉีดสารละลายมาตรฐาน 3 ความเข้มข้น วันละ 2 ครั้ง รวม 3 วัน (interday precision) จะได้ค่าข้อมูลดิบดังแสดงในตารางที่ 9



รูปที่ 32 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน L-Ascorbic acid (Vitamin C) แสดงพีคของสารที่ระยะเวลาประมาณ 3.2 นาที

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรมวิตามินซีในสารละลายมาตรฐาน ที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 6 ครั้งในวันเดียวกัน (intraday precision)

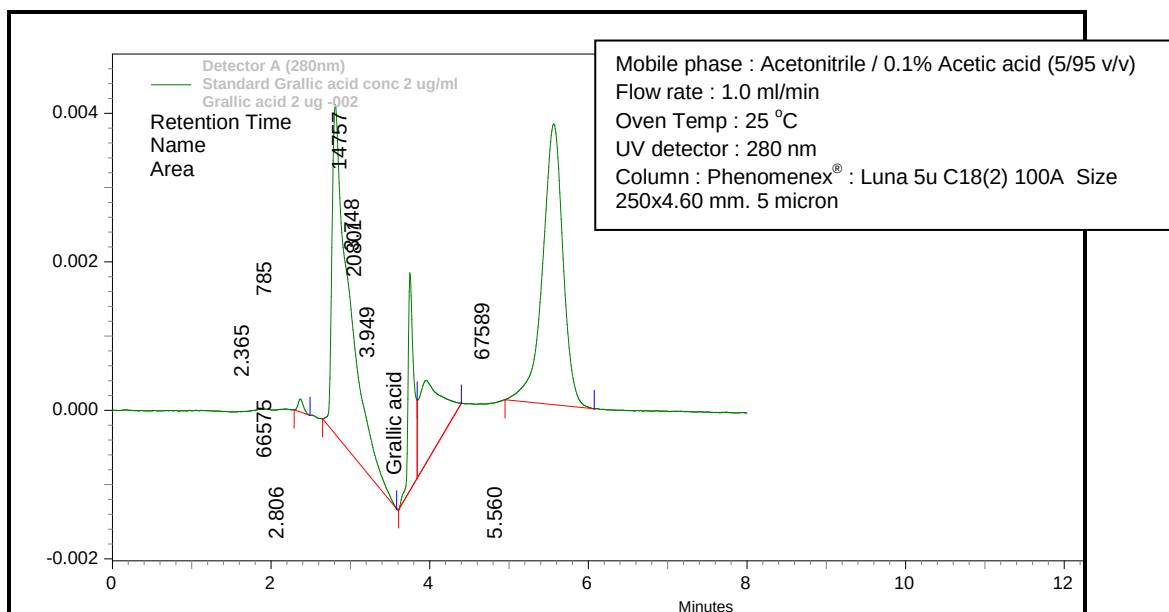
| conc. (µg/ml) | Intraday |          |          |          |          |          | Mean        | SD        | %RSDr |
|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------|-----------|-------|
|               | Area 1   | Area 2   | Area 3   | Area 4   | Area 5   | Area 6   |             |           |       |
| 50            | 1217071  | 1206173  | 1206173  | 1186091  | 1157307  | 1148253  | 1186844.67  | 28366.03  | 2.39  |
| 200           | 5561224  | 5042435  | 5170335  | 5492926  | 5361464  | 5420594  | 5341496.33  | 198292.83 | 3.71  |
| 500           | 13607432 | 14063403 | 13994862 | 13918590 | 14239002 | 14738295 | 14093597.33 | 378000.60 | 2.68  |

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรมวิตามินซีในสารละลายมาตรฐานในที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 2 ครั้งต่อวัน รวม 3 วัน (interday precision)

| Interday      | Day 1    |          | Day 2    |          | Day 3    |          | Mean        | SD        | %RSDi |
|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------|-----------|-------|
| conc. (ug/ml) | Area 1   | Area 2   | Area 3   | Area4    | Area 5   | Area 6   |             |           |       |
| 50            | 1109023  | 1143981  | 1101336  | 1116798  | 1162692  | 1135726  | 1128259.33  | 23301.48  | 2.07  |
| 200           | 5094348  | 5088123  | 4910905  | 4830085  | 4940940  | 4700502  | 4927483.83  | 151731.21 | 3.08  |
| 500           | 13373833 | 13593797 | 13702610 | 13547375 | 12542303 | 13402018 | 13360322.67 | 418983.69 | 3.14  |

## 2. การตรวจสอบวิธีวิเคราะห์สารโพลีฟีนอลด้วยวิธี HPLC

เทคนิคการ validate วิธีการวิเคราะห์โพลีฟีนอลด้วยวิธี HPLC ได้กระทำ 2 รูปแบบ คือ intraday precision โดยเมื่อทำการฉีดสารละลายมาตรฐานในวันเดียวกัน 6 ตัวอย่าง แล้ววัดค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานจากโครมาโตแกรมทั้ง 6 ตัวอย่าง และ interday precision โดยทำการฉีดสารละลายมาตรฐาน 3 ความเข้มข้น วันละ 2 ครั้ง รวม 3 วัน สารมาตรฐานที่ใช้ตรวจสอบ ได้แก่ Gallic acid (รูปที่ 33) ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, Catechin (รูปที่ 34) ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, Caffeic acid (รูปที่ 35) ที่ความเข้มข้น 10, 100, 200, 400, 600 และ 800 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ Quercetin (รูปที่ 36) ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



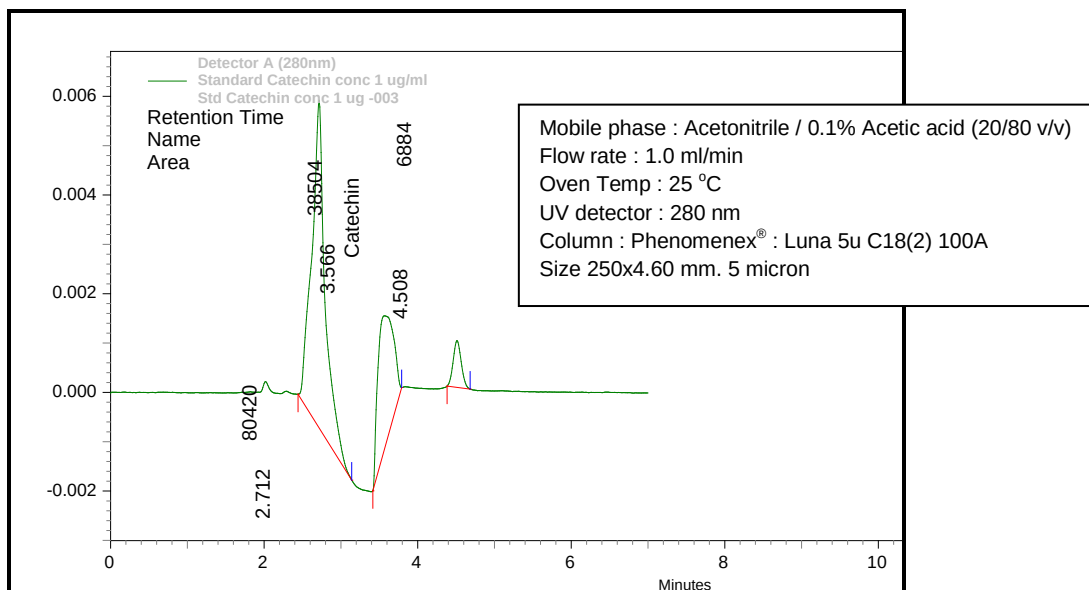
รูปที่ 33 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน Gallic acid monohydrate แสดงพีคของสารที่ระยะเวลาประมาณ 5.5 นาที

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรม Gallic acid ในสารละลายมาตรฐาน ที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 6 ครั้งในวันเดียวกัน (intraday precision)

| conc. (µg/ml) | Intraday |         |         |         |         |         | Mean       | SD       | %RSDr |
|---------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|----------|-------|
|               | Area 1   | Area 2  | Area 3  | Area 4  | Area 5  | Area 6  |            |          |       |
| 1             | 32,891   | 29,730  | 30,116  | 32,917  | 33,004  | 30,765  | 31,570.50  | 1,533.85 | 4.86  |
| 3             | 103,798  | 108,071 | 104,251 | 102,484 | 103,277 | 108,212 | 105,015.50 | 2,492.04 | 2.37  |
| 5             | 177,090  | 188,718 | 191,814 | 198,059 | 196,804 | 186,826 | 189,885.17 | 7,652.96 | 4.03  |

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรม Gallic acid ในสารละลายมาตรฐานในที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 2 ครั้งต่อวัน รวม 3 วัน (interday precision)

| Interday      | Day 1   |         | Day 2   |         | Day 3   |         | Mean       | SD        | %RSDi |
|---------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|-----------|-------|
| conc. (µg/ml) | Area 1  | Area 2  | Area 3  | Area 4  | Area 5  | Area 6  |            |           |       |
| 1             | 31,655  | 32,359  | 27,057  | 26,745  | 31,827  | 33,958  | 30,600.17  | 2,980.02  | 9.74  |
| 3             | 83,709  | 96,327  | 110,257 | 106,224 | 105,774 | 121,089 | 103,896.67 | 12,726.45 | 12.25 |
| 5             | 171,831 | 175,187 | 170,771 | 183,459 | 180,024 | 170,735 | 175,334.50 | 5,334.34  | 3.04  |



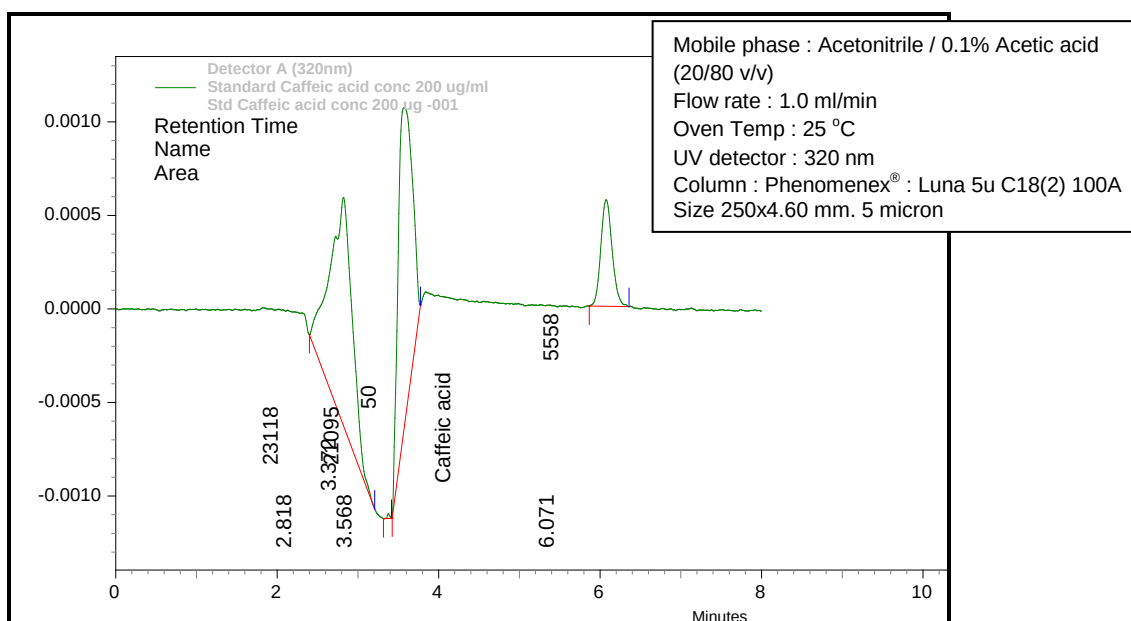
รูปที่ 34 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน catechin แสดงพีคของสารที่ระยะเวลาประมาณ 4.5 นาที

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรม Catechin ในสารละลายมาตรฐาน ที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 6 ครั้งในวันเดียวกัน (intraday precision)

| conc. (µg/ml) | Intraday |        |        |        |        |        | Mean     | SD      | %RSDr |
|---------------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|---------|-------|
|               | Area 1   | Area 2 | Area 3 | Area 4 | Area 5 | Area 6 |          |         |       |
| 1             | 7056     | 6929   | 6879   | 7262   | 7017   | 7426   | 7094.83  | 209.41  | 2.95  |
| 3             | 20765    | 22741  | 22480  | 22934  | 22914  | 23752  | 22597.67 | 993.85  | 4.40  |
| 5             | 39784    | 41127  | 40753  | 42620  | 42699  | 42427  | 41568.33 | 1197.09 | 2.88  |

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรม Catechin ในสารละลายมาตรฐานในที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 2 ครั้งต่อวัน รวม 3 วัน (interday precision)

| Interday      | Day 1  |        | Day 2  |        | Day 3  |        | Mean     | SD      | %RSDi |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|---------|-------|
| conc. (µg/ml) | Area 1 | Area 2 | Area 3 | Area 4 | Area 5 | Area 6 |          |         |       |
| 1             | 6760   | 7063   | 7049   | 6951   | 7270   | 7541   | 7105.67  | 270.17  | 3.80  |
| 3             | 22225  | 23047  | 23645  | 23992  | 24653  | 24951  | 23752.17 | 1014.61 | 4.27  |
| 5             | 42390  | 43725  | 45288  | 44448  | 45428  | 45234  | 44418.83 | 1186.32 | 2.67  |



รูปที่ 35 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน caffeic acid แสดงพีคของสารที่ระยะเวลาประมาณ 6.0 นาที

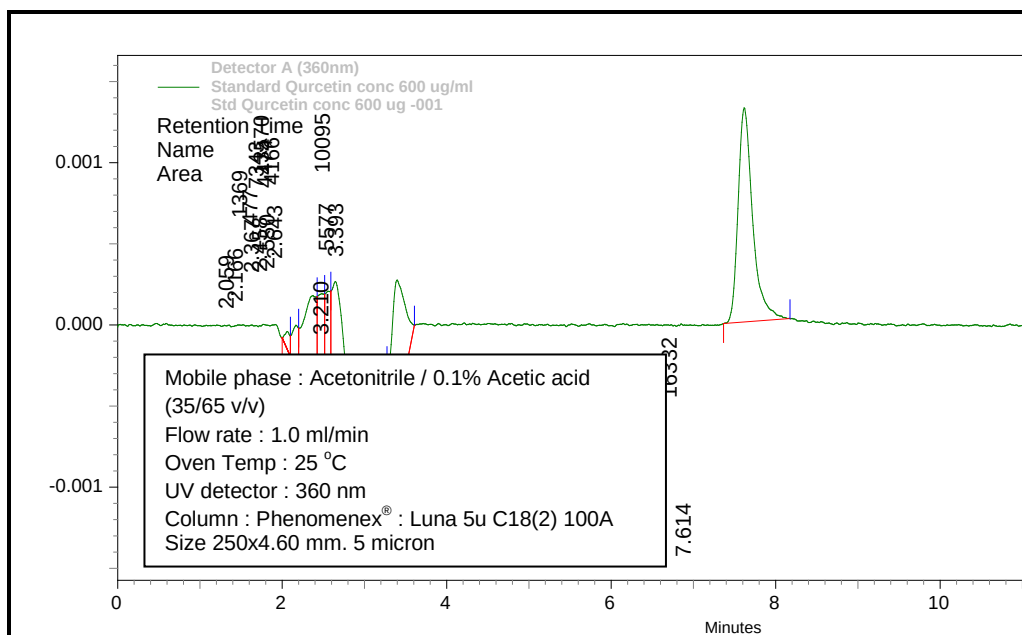
ตารางที่ 14 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรม Caffeic acid ในสารละลายมาตรฐาน ที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 6 ครั้งในวันเดียวกัน (intraday precision)

| conc. (µg/ml) | Intraday |        |        |        |        |        | Mean     | SD      | %RSDr |
|---------------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|---------|-------|
|               | Area 1   | Area 2 | Area 3 | Area 4 | Area 5 | Area 6 |          |         |       |
| 100           | 3296     | 2964   | 2725   | 2408   | 2911   | 2352   | 2776.00  | 358.27  | 12.91 |
| 400           | 9565     | 11875  | 11536  | 10529  | 10756  | 13654  | 11319.17 | 1401.86 | 12.38 |
| 800           | 27691    | 26874  | 27052  | 30980  | 30987  | 29438  | 28837.00 | 1893.62 | 6.57  |

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรม Caffeic acid ในสารละลายมาตรฐานในที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 2 ครั้งต่อวัน รวม 3 วัน (interday precision)

| Interday      | Day 1  |        | Day 2  |       | Day 3  |        | Mean     | SD      | %RSDr |
|---------------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|----------|---------|-------|
| conc. (ug/ml) | Area 1 | Area 2 | Area 3 | Area4 | Area 5 | Area 6 |          |         |       |
| 100           | 3269   | 2483   | 2503   | 2204  | 2246   | 3644   | 2724.83  | 591.48  | 21.71 |
| 400           | 9141   | 10409  | 10862  | 12306 | 15056  | 15969  | 12290.50 | 2708.49 | 22.04 |
| 800           | 32087  | 30979  | 31708  | 35618 | 36942  | 30223  | 32926.17 | 2707.75 | 8.22  |





รูปที่ 36 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน Quercetin แสดงพีคของสารที่ระยะเวลาประมาณ 7.6 นาที

ตารางที่ 16 แสดงผลการวิเคราะห์สาร Vitamin C ในผลไม้ทั้ง 3 ชนิด

| Fruit                          | sample #1    | sample #2    | sample #3    | Mean         | Conc. (mg/100 g fruit pulp/juice) |
|--------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------------------------|
| Ripe Mango (Namdokmai variety) | 2,186,588.00 | 2,158,899.00 | 2,167,556.00 | 2,171,014.33 | 8.57                              |
| Ripe Papaya (Holland variety)  | 9,458,071.00 | 9,426,908.00 | 9,395,306.00 | 9,426,761.67 | 35.37                             |
| Young Coconut Juice            | 1,007,418.00 | 1,006,249.00 | 1,019,595.00 | 1,011,087.67 | 4.29                              |

**ตารางที่ 17** แสดงผลการวิเคราะห์สาร Gallic acid ในผลไม้

| Fruit                                | sample #1 | sample #2 | sample #3 | Mean      | Conc. (mg/<br>100 g fruit<br>pulp/juice) |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------------------------------------|
| Ripe Mango<br>(Namdokmai<br>variety) | 88,689.00 | 88,309.00 | 90,242.00 | 89,080.00 | 0.27                                     |
| Ripe Papaya<br>(Holland<br>variety)  | -         | -         | -         | -         | 0.00                                     |
| Young<br>Coconut<br>Juice            | -         | -         | -         | -         | 0.00                                     |

**ตารางที่ 18** แสดงผลการวิเคราะห์สาร Catechin ในผลไม้

| Fruit                                | sample #1 | sample #2 | sample #3 | Mean      | Conc. (mg/<br>100 g fruit<br>pulp/juice) |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------------------------------------|
| Ripe Mango<br>(Namdokmai<br>variety) | 13,826.00 | 13,065.00 | 12,804.00 | 13,231.67 | 0.18                                     |
| Ripe Papaya<br>(Holland<br>variety)  | -         | -         | -         | -         | 0.00                                     |
| Young<br>Coconut<br>Juice            | 44,580.00 | 42,965.00 | 43,623.00 | 43,722.67 | 0.56                                     |

ตารางที่ 19 แสดงผลการวิเคราะห์สาร Caffeic acid ในผลไม้

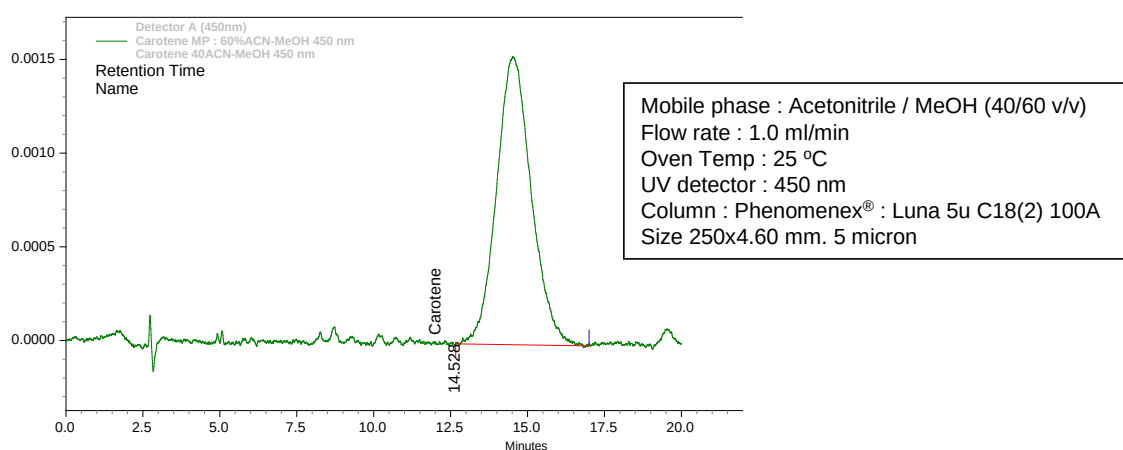
| Fruit                                | sample #1 | sample #2 | sample #3 | Mean     | Conc. (mg/<br>100 g fruit<br>pulp/juice) |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|------------------------------------------|
| Ripe Mango<br>(Namdokmai<br>variety) | -         | -         | -         | -        | 0.00                                     |
| Ripe Papaya<br>(Holland<br>variety)  | -         | -         | -         | -        | 0.00                                     |
| Young<br>Coconut<br>Juice            | 1,021.00  | 1,184.00  | 1,060.00  | 1,088.33 | 5.50                                     |

ตารางที่ 20 แสดงผลการวิเคราะห์สาร Quercetin ในผลไม้

| Fruit                                | sample #1 | sample #2 | sample #3 | Mean | Conc. (mg/<br>100 g fruit<br>pulp/juice) |
|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|------|------------------------------------------|
| Ripe Mango<br>(Namdokmai<br>variety) | -         | -         | -         | -    | 0.00                                     |
| Ripe Papaya<br>(Holland<br>variety)  | -         | -         | -         | -    | 0.00                                     |
| Young<br>Coconut<br>Juice            | -         | -         | -         | -    | 0.00                                     |

### 3. การตรวจสอบวิธีวิเคราะห์เบต้าแคโรทีนด้วยวิธี HPLC

เทคนิคการ validate วิธีการวิเคราะห์โพลีฟีนอลด้วยวิธี HPLC ได้กระทำ 2 รูปแบบ คือ intraday precision โดยเมื่อทำการฉีดสารละลายมาตรฐานในวันเดียวกัน 6 ตัวอย่าง แล้ววัดค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานจากโครมาโตแกรมทั้ง 6 ตัวอย่าง และ interday precision โดยทำการฉีดสารละลายมาตรฐาน 3 ความเข้มข้น วันละ 2 ครั้ง รวม 3 วัน สารมาตรฐานที่ใช้ตรวจสอบ ได้แก่  $\beta$ -Carotene ที่ความเข้มข้น 10, 20, 40, 60, 800 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากที่ได้เจือจางจากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลายเมทานอล แสดงเป็นโครมาโตแกรมดังตัวอย่างแสดงในรูป 37



รูปที่ 37 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน  $\beta$ -Carotene แสดงพีคของสารที่ระยะเวลาประมาณ 14.5 นาที

ตารางที่ 21 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรม  $\beta$ -Carotene ในสารละลายมาตรฐาน ที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 6 ครั้งในวันเดียวกัน (intraday precision)

| conc. ( $\mu\text{g/ml}$ ) | Intraday |         |         |         |         |         | Mean       | SD       | %RSDr |
|----------------------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|----------|-------|
|                            | Area 1   | Area 2  | Area 3  | Area 4  | Area 5  | Area 6  |            |          |       |
| 20                         | 88,672   | 86,289  | 86,498  | 86,130  | 85,517  | 87,511  | 86,769.50  | 1,135.93 | 1.31  |
| 60                         | 252,257  | 249,119 | 257,941 | 256,236 | 258,983 | 259,153 | 255,614.83 | 4,077.52 | 1.60  |
| 100                        | 425,232  | 428,297 | 427,613 | 427,304 | 429,259 | 425,245 | 427,158.33 | 1,631.50 | 0.38  |

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์โครมาโตแกรม  $\beta$ -Carotene ในสารละลายมาตรฐานในที่ฉีดเข้าเครื่อง HPLC 2 ครั้งต่อวัน รวม 3 วัน (interday precision)

| Interday                   | Day 1  |        | Day 2  |        | Day 3  |        | Mean     | SD      | %RSDr |
|----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|---------|-------|
| conc. ( $\mu\text{g/ml}$ ) | Area 1 | Area 2 | Area 3 | Area 4 | Area 5 | Area 6 |          |         |       |
| 0.4                        | 7186   | 9198   | 9626   | 11521  | 10796  | 9059   | 9564.33  | 1509.66 | 15.78 |
| 0.8                        | 21667  | 23816  | 26185  | 26549  | 22485  | 27838  | 24756.67 | 2463.27 | 9.95  |
| 1.2                        | 40968  | 29329  | 43069  | 40638  | 38517  | 35983  | 38084.00 | 4918.18 | 12.91 |

ตารางที่ 23 แสดงผลการวิเคราะห์สาร Beta Carotene ในผลไม้ทั้ง 3 ชนิด

| Fruit                                | sample #1  | sample #2  | sample #3  | Mean       | Conc. (mg/<br>100 g fruit<br>pulp/juice) |
|--------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------------------------------------|
| Ripe Mango<br>(Namdokmai<br>variety) | 309,257.00 | 301,910.00 | 299,008.00 | 303,391.67 | 7.23                                     |
| Ripe Papaya<br>(Holland<br>variety)  | 55,890.00  | 52,048.00  | 51,797.00  | 53,245.67  | 1.16                                     |
| Young<br>Coconut<br>Juice            | -          | -          | -          | -          | 0.00                                     |

## ภาคผนวก ค.

PU-62

การตรวจวิเคราะห์สารกลุ่ม Polyphenols, Vitamin C และ Beta carotene ในมะม่วง มะละกอ  
ทับทิม ส้มเขียวหวาน และน้ำมะพร้าวอ่อน ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี

ธีรยุทธ หัตถา<sup>1</sup>, สุภาพรณ เอกอุฬารพันธ์<sup>2</sup>, นิวัติ เทพวราพฤกษ์<sup>3</sup> และ พรนรินทร์ เทพวราพฤกษ์<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> นิสิตระดับปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

<sup>2</sup> สถานบริการวิชาการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

<sup>3</sup> ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

\*Corresponding author; \*E-mail: taepavap@yahoo.com

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในผลไม้ไทย 5 ชนิด ได้แก่ มะม่วงสุก มะละกอสุก ทับทิม ส้มเขียวหวาน และน้ำมะพร้าวอ่อน สารสำคัญที่ทำการวิเคราะห์ได้แก่ กลุ่ม Polyphenols (Gallic acid, Catechin, Caffeic acid), Vitamin C และ Beta carotene ทำการทดลองโดยนำผลไม้ทั้ง 5 ชนิด มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่น จากนั้นสกัดด้วยกรดอะซิติก 8% กรดเมตาฟอสฟอริก 3% และเมทานอล 60% ทำการปั่นเหวี่ยงและเก็บเฉพาะตัวอย่างสารละลายในชั้น supernatant มาวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี ซึ่งได้ทำการทดสอบหาชนิดและอัตราการใช้ของเฟสเคลื่อนที่ ความยาวคลื่น และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารสำคัญในผลไม้ดังกล่าวเทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นคือ Gallic acid : Catechin : Caffeic acid : Vitamin C : Beta carotene ต่อน้ำหนักผลไม้ 100 กรัม ผลการศึกษาพบว่า ในมะม่วงสุกมีค่าสารสำคัญเท่ากับ 0.27 : 0.18 : 0.0 : 8.57 : 7.23 mg ในมะละกอสุกมีเท่ากับ 0.0 : 0.0 : 0.0 : 35.37 : 1.16 mg ในทับทิมมีเท่ากับ 0.71 : 11.34 : 0.0 : 0.0 : 0.0 mg ในส้มมีเท่ากับ 0.0 : 7.17 : 0.0 : 23.84 : 0.0 mg และในน้ำมะพร้าวอ่อนมีเท่ากับ 0.0 : 0.56 : 5.50 : 4.29 : 0.0 mg ซึ่งจากการเปรียบเทียบพบว่ามะละกอและส้ม มี Vitamin C มาก มะม่วงสุกมี Beta carotene มากที่สุด ทับทิมมีค่า Catechin มากที่สุด น้ำมะพร้าวอ่อนมีค่า Caffeic acid มากที่สุด ผลที่ได้นี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาผลของการบริโภคผลไม้ดังกล่าวต่อสุขภาพในเชิงลึกต่อไป โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก สกว.

คำสำคัญ: เทคนิคโครมาโตกราฟี, ผลไม้, polyphenols, vitamin C, beta carotene

## Neurotonic Effects Of Mango And Papaya On Psychomotor And Cognitive Function In Aged Rats.

Niwat Taepavarapruk<sup>1\*</sup>, Rattiya Sombuthaweekul<sup>2</sup>, Watcharaporn Preedapirom<sup>2</sup>, Supapan Eak-u-ranpan<sup>3</sup>, Sopit Na-u-dom<sup>1</sup>, and Pornnarin Taepavarapruk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Amphur Muang, Phitsanulok, Thailand 65000

<sup>2</sup>Division of Medical Science, Health Science Institute, Phayao University, Amphur Muang, Payao, Thailand 56000

<sup>3</sup>Faculty of Medical Science, Naresuan University, Amphur Muang, Phitsanulok, Thailand 65000

Email: [taepavan@hotmail.com](mailto:taepavan@hotmail.com) (Dr. Niwat Taepavarapruk, Ph.D.)

Key words: Thai fruits, physical ability, cognition, aging

**Introduction.** Ripe mango (“Namdokmai” variety) and ripe papaya (“Holland” variety) are local Thai fruits which contain high antioxidant agents such as polyphenols, vitamin C and beta-carotene. So far, there is no health report concerning the long-term consumption of these fruits on body weight, psychomotor performance, and cognitive function in elderly people. We, therefore, investigate this issue by conducting a series of experiments in aging male and female rats.

**Methods.** Aging rats (16-18 mth old) of both sexes were randomly divided into 3 groups: a control group, mango-treated group, and papaya-treated group. Prior to and at the end of treatment session, each rat was subjected to psychomotor (beam walking, grip strength, and rotarod treadmill tests) and cognitive function (Novel Object Recognition and Morris Water Maze tests) evaluations. During treatment session, the treated group was orally administered with a single bout of blended ripe mango or papaya at a volume of 1 ml/100 g b.w. everyday for 90 consecutive days.

**Results.** After feeding ripe mango or ripe papaya for 90 days, both male and female rats showed a slight decrease in their body weights when compared to the old control group which showed no change. In addition, there is no improvement of the psychomotor performance in either mango- or papaya-treated group. Nevertheless, these treated groups showed better recognition and spatial memories when compared to the control group.

**Conclusion.** Long-term consumption of ripe mango or papaya can restore a memory deficit in aging rats. These preliminary data indicate a nootropic effect of ripe mango or papaya which may be beneficial for elderly people who are suffering from a dementia.

This research project was supported by The Thailand Research Fund (TRF).



## Neurotonic Effects Of Young Coconut Juice On Psychomotor And Cognitive Function In Aged Rats.

Pornnarin Taepavarapruk<sup>1\*</sup>, Rattiya Sombuthaweekul<sup>2</sup>, Watcharaporn Preedapirom<sup>2</sup>, Supapan Eak-u-ranpan<sup>3</sup>, Sopit Na-u-dom<sup>1</sup>, and Niwat Taepavarapruk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Amphur Muang, Phitsanulok, Thailand 65000

<sup>2</sup>Division of Medical Science, Health Science Institute, Phayao University, Amphur Muang, Payao, Thailand 56000

<sup>3</sup>Faculty of Medical Science, Naresuan University, Amphur Muang, Phitsanulok, Thailand 65000

Email: [taepavap@hotmail.com](mailto:taepavap@hotmail.com) (Dr. Pornnarin Taepavarapruk, Ph.D.)

Key words: coconut water, physical ability, cognition, aging

**Introduction.** Young coconut juice (Y CJ) has long been a popular natural drink as it enriches of health beneficial substances such as carbohydrate, fat, protein, vitamins, minerals and antioxidants. A recent study by Radenahmad et al. (2010) has demonstrated a neuroprotective action of 4-wk administration of Y CJ on ovariectomized rats which represent an animal model of Alzheimer's disease. Nevertheless, there is no information on the health benefit of drinking Y CJ on both physical and cognitive function in elderly people. Accordingly, we investigated a neurotropic effect of 3-mth administration of Y CJ on aged rats.

**Methods.** Aging rats (16-18 mth old) of both sexes were randomly divided into 2 groups: a control (water-treated) group and Y CJ-treated group. Prior to and at the end of treatment session, each rat was subjected to psychomotor (beam walking, grip strength, and rotarod treadmill tests) and cognitive function (Novel Object Recognition and Morris Water Maze tests) evaluations. During treatment session, the treated group was orally administered with a single bout (1 ml/100 g b.w.) of Y CJ or distill water in everyday for 90 consecutive days.

**Results.** After feeding Y CJ for 90 days, both male and female rats showed a slight increase in their body weights when compared to the control group. However, there is no improvement of the psychomotor performance in Y CJ-treated group. In addition, both sexes that received Y CJ showed better recognition memory, but only Y CJ-treated female rats showed an improvement of spatial memory.

**Conclusion.** Long-term consumption of Y CJ can help to improve the cognitive function especially in female aging rats. These preliminary data indicate a nootropic effect of coconut water which may beneficial for menopausal women who are suffering from Alzheimer's disease.

This research project was supported by The Thailand Research Fund (TRF).