



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลการบริโภคสัปดาห์ต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและ
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาในอาสาสมัครสุขภาพดี

โดย

ดร.จุฑามาศ นิวัฒน์ และคณะวิจัย

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลการบริโภคสับปะรดสดต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและ
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาในอาสาสมัครสุขภาพดี

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. ดร.จุฑามาศ นิวัฒน์

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2. นางมณฑนา เตจาคำ

โรงพยาบาลแม่ลาว

ชุดโครงการ Thai Fruits –Functional Fruits (ครั้งที่ 4)

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย เรื่อง ผลของการบริโภคสับปะรดสดต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาในอาสาสมัครสุขภาพดี เป็นหนึ่งในชุดโครงการ Thai Fruits –Functional Fruits (ครั้งที่ 4) ขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่านที่ให้ข้อเสนอแนะและคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการ

ขอขอบคุณโรงพยาบาลอำเภอแม่ลาว จังหวัดเชียงราย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการเก็บตัวอย่าง ขอขอบคุณกลุ่มอาสาสมัครทุกคนที่เข้าร่วมโครงการ เจ้าหน้าที่โรงพยาบาลแม่ลาว อำเภอแม่ลาว จังหวัดเชียงราย และมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่มีส่วนช่วยทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

พฤษภาคม 2559

บทสรุปผู้บริหาร

จากการศึกษาวิจัยถึงคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพที่ส่งผลต่อสุขภาพของผลไม้ไทยพบว่าผลไม้ไทยหลายชนิด รวมทั้งสับปะรด ประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น วิตามินซี เบต้าแคโรทีน โพลีฟีนอล เอนไซม์โบรมีเลนและเอนไซม์เปอร็อกซิเดสที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ช่วยในการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรัง โดยวิตามินซีและเบต้าแคโรทีนจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ อย่างไรก็ตามจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าการศึกษาในผลไม้ไทยยังจำกัดในด้านการศึกษาผลการบริโภคผลไม้ไทยในคนเพื่อประโยชน์ต่อสุขภาพ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของการศึกษาผลของการบริโภคสับปะรดนางแลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาในอาสาสมัครสุขภาพดี ซึ่งเป็นผู้ที่รับประทานผักผลไม้ปริมาณต่ำเฉลี่ย ≤ 2 ส่วนต่อวัน จำนวน 15 คน โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ 1) กลุ่ม low intake ซึ่งไม่ได้รับประทานสับปะรด 2) กลุ่ม medium intake รับประทานสับปะรดวันละ 400 กรัม หรือเท่ากับ 5 ส่วน และ 3) กลุ่ม high intake ซึ่งรับประทานสับปะรดวันละ 640 กรัมหรือเท่ากับ 8 ส่วน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ปริมาณเบต้าแคโรทีนและปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาของอาสาสมัครกลุ่ม high intake มีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากการรับประทานสับปะรดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับคำแนะนำขององค์การอนามัยโลกว่าควรรับประทานผักผลไม้อย่างน้อยวันละ 400 กรัม (5 ส่วน) ขึ้นไป ผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อยืนยันคุณค่าของสับปะรดต่อสุขภาพ เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดี เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกรับประทานผลไม้ไทย อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาในเชิงลึกต่อไปถึงผลการบริโภคสับปะรดที่มีต่อสุขภาพของประชาชนโดยเพิ่มจำนวนอาสาสมัครที่ใช้ในการศึกษา หรือศึกษาในอาสาสมัครกลุ่มอื่น หรือศึกษาในผลไม้ไทยชนิดอื่น เพื่อส่งเสริมให้มีการบริโภคผลไม้ไทยให้มากขึ้น อันจะส่งผลต่อการมีสุขภาพที่ดี ช่วยป้องกันการเกิดโรคเรื้อรัง และสามารถลดค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพของประชาชน

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการบริโภคสับปะรดสดพื้นฐานงแลที่มีต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างพลาสมา และตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องในอาสาสมัครสุขภาพดี อายุ 18-45 ปี ซึ่งเป็นผู้ที่รับประทานผักผลไม้ปริมาณต่ำเฉลี่ย ≤ 2 ส่วนต่อวัน จำนวน 15 คน ดำเนินการทดลองโดยแบ่งอาสาสมัครออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 1) กลุ่ม low intake ซึ่งไม่ได้รับประทานสับปะรด 2) กลุ่ม medium intake รับประทานสับปะรดวันละ 400 กรัมหรือเท่ากับ 5 ส่วน และ 3) กลุ่ม high intake ซึ่งรับประทานสับปะรดวันละ 640 กรัมหรือเท่ากับ 8 ส่วน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำตัวอย่างพลาสมามาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (เบต้าแคโรทีนและวิตามินอี) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Ferric Reducing Antioxidant Power assay, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity assay, glutathione peroxidase และ superoxide dismutase enzyme) ปริมาณไนเตรทไนไตรท์เปรียบเทียบกับอาสาสมัครกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับประทานสับปะรด (กลุ่ม low intake) ผลการศึกษาพบว่าปริมาณเบต้าแคโรทีนและปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาของอาสาสมัครกลุ่ม high intake มีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากการรับประทานสับปะรดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณวิตามินอี ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ค่า FRAP และ TEAC) กิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ (GPx และ SOD) ปริมาณไนเตรทไนไตรท์ ปริมาณน้ำตาลในเลือด ปริมาณไขมันรวม และการทำงานของตับและไตในพลาสมาของอาสาสมัครภายหลังการรับประทานสับปะรดเปรียบเทียบกับก่อนรับประทานในอาสาสมัครในกลุ่ม medium และ high intake เทียบกับกลุ่ม low intake โดยตัวอย่างสับปะรดที่ใช้ในการศึกษามีปริมาณเบต้าแคโรทีน 8.13 ± 0.54 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด วิตามินซี 5.95 ± 0.39 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด และเส้นใยอาหาร 2.42 ± 0.14 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด

คำสำคัญ สับปะรด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สารพฤกษเคมี การบริโภคผลไม้

Abstract

This study aimed to investigate the effect of fresh pineapple (Nanglae cultivar) on antioxidant compounds, antioxidant activity and biological indicator in plasma of fifteen healthy subjects, 18–45 year old, with low consumption of fruits and vegetables (≤ 2 portions per day). The subjects were randomly divided into three groups: 1) low intake group (no fresh pineapple consumption) 2) medium intake group (400 g or 5 portions per day) and 3) high intake group (640 g or 8 portions per day) for four weeks. The plasma samples were investigated for antioxidant compounds (β -carotene and vitamin E), antioxidant activity (Ferric Reducing Antioxidant Power assay, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity assay, glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzyme) and total nitrate/nitrite content compared to low intake (control group), which did not consume fresh pineapple. The results showed that β -carotene and hippuric acid concentration in plasma of high intake group significantly increased after fresh pineapple consumption ($P < 0.05$). However, there were no apparent changes in vitamin E, antioxidant activity (FRAP and TEAC), total nitrate/nitrite, total sugar, total lipids, as well as liver and kidney function tests in plasma samples before and after pineapple consumption in medium and high intake group compared to low intake group. In addition, fresh pineapple used in this study contained 8.13 ± 0.54 μg of β -carotene, 5.95 ± 0.39 mg of vitamin C and 2.42 ± 0.14 g of dietary fiber per 100 g fresh pineapple.

Keyword Pineapple, antioxidant activity, phytochemical, fruit consumption

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทสรุปผู้บริหาร	ข
บทคัดย่อ	ค
Abstract	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	1
1.3 ขอบเขตการวิจัย	1
1.4 ทฤษฎี สมมติฐานและกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่จะได้รับการวิจัย	2
1.6 คำสำคัญ	2
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 สืบประวัติ	3
2.2 ประโยชน์ของสืบประวัติกับสุขภาพ	3
2.3 การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับผลการบริโภคผักผลไม้ในอาสาสมัคร	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 การคัดเลือกอาสาสมัคร	7
3.2 การวางแผนการทดลอง	7
3.3 การติดตามผล	8
3.4 การเตรียมตัวอย่างสืบประวัติ	9
3.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างสืบประวัติ	9
3.6 การเก็บตัวอย่างในเลือด	9
3.7 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในเลือด	9
3.8 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันรวมในเลือด	9
3.9 การวิเคราะห์การทำงานของตับและไต	9
3.10 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมา	10
3.11 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	10
3.12 การวิเคราะห์ปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาและปัสสาวะ	13
3.13 การวิเคราะห์ปริมาณ nitrate/nitrite ในพลาสมา	13

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	15
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง	
4.1 การคัดเลือกอาสาสมัคร	16
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีน วิตามินซีและเส้นใยอาหารของสับปะรดสด	16
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในเลือด	17
4.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันรวมในเลือด	17
4.5 การวิเคราะห์การทำงานของตับและไต	18
4.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมา	20
4.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	21
4.8 การวิเคราะห์กิจกรรมของ antioxidant enzyme ในพลาสมา	22
4.9 การวิเคราะห์ปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาและปัสสาวะ	23
4.10 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรท/ไนไตรท์ในพลาสมา	24
4.11 การติดตามผลประจำเดือน	25
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย	27
5.2 ข้อเสนอแนะ	27
เอกสารอ้างอิง	28

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 3.1 การเตรียมตัวอย่างและสารละลายสำหรับวิเคราะห์ SOD	12
ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Nitrate	14
ตารางที่ 3.3 ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Nitrite	14
ตารางที่ 4.1 ข้อมูลพื้นฐาน (baseline) ของอาสาสมัคร	16
ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลในเลือดของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 2) และหลังการรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 6)	17
ตารางที่ 4.3 ปริมาณไขมันรวมของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 2) และหลังการรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 6)	18
ตารางที่ 4.4 ปริมาณ AST, ALT, ALP และ creatinine ของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 2) และหลังการรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 6)	19
ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด(สัปดาห์ที่2) และหลังการรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่6)	20
ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 2) และหลังการรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 6)	22
ตารางที่ 4.7 กิจกรรมของ antioxidant enzyme ในพลาสมาของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 2) และหลังการรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 6)	23
ตารางที่ 4.8 ปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาและปัสสาวะของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 2) และหลังการรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 6)	24
ตารางที่ 4.9 ปริมาณไนโตรเจน/ไนไตรท์ในพลาสมาของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 2) และหลังการรับประทานสับปะรด (สัปดาห์ที่ 6)	25

สารบัญภาพ

ภาพที่ 3.1 การออกแบบการทดลอง

หน้า

8

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการ

ปัจจุบันแนวคิดการบริโภคอาหารเพื่อใช้ประโยชน์ในเรื่องผลต่อสุขภาพมากกว่าการรับประทานเพื่อเป็นพลังงาน หรือที่เรียกว่า “กินอาหารให้เป็นยา” ได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากวิถีชีวิตของผู้บริโภคในปัจจุบันเป็นไปด้วยความเร่งรีบ ทำให้ไม่มีโอกาสที่จะบริโภคอาหารครบตามความต้องการของร่างกายได้ รวมทั้งมีเวลาในการออกกำลังกายน้อยลง การพึ่งพาอาหารเพื่อสุขภาพจึงเพิ่มบทบาทความสำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ มีการศึกษาวิจัยถึงคุณประโยชน์ของการรับประทานผักผลไม้ต่อการลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรัง เช่น โรคหลอดเลือดอุดตัน โรคเมรังและโรคอ้วน อย่างไรก็ตามจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าการศึกษาในผลไม้ไทยยังจำกัดในด้านการศึกษาผลการบริโภคผลไม้ไทยในคนเพื่อประโยชน์ต่อสุขภาพ ประกอบกับมีข้อมูลเบื้องต้นที่รายงานถึงคุณประโยชน์ของสับปะรด ซึ่งประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น วิตามินซี เบต้าแคโรทีน และเอนไซม์โบรมีเลน ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ช่วยในการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรัง อีกทั้งมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงตั้งอยู่ใกล้พื้นที่ตำบลนางแล ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสับปะรดนางแล โดยพันธุ์นางแลมีจำหน่ายตลอดปีและราคาถูกกว่าพันธุ์ภูแล ด้วยเหตุผลดังกล่าวผู้วิจัยจึงเล็งเห็นความสำคัญของการศึกษาผลของการบริโภคสับปะรดนางแลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาในอาสาสมัครสุขภาพดีทั้งหญิงและชาย โดยกลุ่มอาสาสมัครจะเป็นประชากรที่อาศัยในจังหวัดเชียงราย ทั้งนี้เพื่อให้สามารถยืนยันคุณค่าของสับปะรดต่อสุขภาพ เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกรับประทานผลไม้ และส่งเสริมให้มีการบริโภคผลไม้ไทยให้มากขึ้น อันจะส่งผลต่อการมีสุขภาพที่ดี ช่วยป้องกันการเกิดโรคเรื้อรัง และสามารถลดค่าใช้จ่ายในการดูแลสุขภาพของประชาชน

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อศึกษาผลของการบริโภคสับปะรดสดในอาสาสมัครสุขภาพดี
- 1.2.2 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างพลาสมา และตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้อง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ดำเนินการทดลองโดยแบ่งอาสาสมัครสุขภาพดีในเขตจังหวัดเชียงราย อายุระหว่าง 18-45 ปี ซึ่งเป็นผู้ที่รับประทานผักผลไม้ปริมาณต่ำ เฉลี่ย ≤ 2 ส่วนต่อวัน จำนวน 15 คน ออกเป็น 3 กลุ่ม โดยให้อาสาสมัครรับประทานตัวอย่างสับปะรดพันธุ์นางแลในปริมาณที่ต่างกันคือรับประทานสับปะรดวันละ 400 กรัม (เท่ากับ 5 ส่วน) หรือรับประทานสับปะรดวันละ 640 กรัม (เท่ากับ 8 ส่วน) เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำตัวอย่างพลาสมามาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (เบต้าแคโรทีนและวิตามินอี) และ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Ferric Reducing Antioxidant Power assay, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity assay, glutathione peroxidase และ superoxide dismutase enzyme) ปริมาณไนโตรทเปรียบเทียบกับการต้านอนุมูลอิสระที่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับประทานสับปะรด

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และ/หรือกรอบแนวคิดในการวิจัย

สับปะรดประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น วิตามินซี เบต้าแคโรทีน โพลีฟีนอล เอนไซม์โบรมีเลนและเอนไซม์เปปเปอร์ออกซิเดสที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ช่วยในการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรัง ดังนั้นการรับประทานสับปะรดสดน่าจะช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดี

1.5 ประโยชน์ที่จะได้รับ

1.5.1 ได้องค์ความรู้ใหม่ที่รายงานผลของการบริโภคสับปะรดสดนางแลในอาสาสมัครสุขภาพดี

1.5.2 ส่งเสริมให้มีการบริโภคสับปะรดซึ่งเป็นผลไม้ไทยมากขึ้น

1.6 คำสำคัญ

สับปะรด (Pineapple) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant capacity) สารพฤกษเคมี (phytochemicals) การบริโภคผลไม้ (fruit consumption)

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สับปะรด

จังหวัดเชียงรายเป็นแหล่งเพาะปลูกที่สำคัญของสับปะรด (*Ananas comosus* L. Merr) ซึ่งหลักๆ จะมี 2 สายพันธุ์ คือพันธุ์นางแล (พันธุ์น้ำผึ้ง) กับพันธุ์ภูแล โดยสับปะรดทั้งสองสายพันธุ์มีเนื้อสัมผัส รสชาติ และองค์ประกอบทางเคมีที่ต่างกัน กล่าวคือสับปะรดนางแลมีเนื้อสัมผัสที่ชุ่มฉ่ำน้ำมากกว่าพันธุ์ภูแลที่มีเนื้อสัมผัสกรอบแข็ง เมื่อเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีพบว่าสับปะรดทั้งสองสายพันธุ์มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid) และปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม สับปะรดพันธุ์นางแลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งวิเคราะห์โดย ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay และ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) assay สูงกว่าสับปะรดภูแล ในขณะที่ปริมาณวิตามินซี ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดและเบต้าแคโรทีน ของสับปะรดภูแลสูงกว่าพันธุ์นางแล (Kongsuwan et al., 2009)

กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2553) รายงานคุณค่าทางโภชนาการของสับปะรด ดังนี้ สับปะรด 100 กรัม ประกอบด้วยพลังงาน 52 กิโลแคลอรี น้ำ 87 กรัม น้ำตาล 13 กรัม โปรตีน 0.5 กรัม ไขมัน 0.1 กรัมใยอาหาร 1.4 กรัม วิตามินซี 12 มิลลิกรัม เบต้าแคโรทีน 24 ไมโครกรัม และโปแตสเซียม 106 มิลลิกรัม

2.2 ประโยชน์ของสับปะรดกับสุขภาพ

จากการศึกษาวิจัยถึงคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพที่ส่งผลต่อสุขภาพของผลไม้ไทย เพื่อเผยแพร่คุณประโยชน์ของผลไม้ที่มีมากกว่าพลังงาน ซึ่งผลการวิจัยพบว่าผลไม้ไทยหลายชนิด รวมทั้งสับปะรด ประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น วิตามินซี เบต้าแคโรทีน โพลีฟีนอล เอนไซม์โบรมีเลน (bromelain) และเอนไซม์เปอร็อกซิเดสที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ช่วยในการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรัง (Kongsuwan et al., 2009) โดยวิตามินซีและเบต้าแคโรทีนจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันและช่วยป้องกันการจับตัวของเกล็ดเลือด (Taussig and Batkin 1988)

โบรมีเลนเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยโปรตีน หรือเรียกว่า protein-digesting enzymes พบในผลและลำต้นของสับปะรด ในทางอุตสาหกรรมอาหารมีการนำโบรมีเลนไปช่วยทำให้เนื้อนุ่มขึ้น ป้องกันความขุ่นของเบียร์ขณะเก็บรักษาและเร่งกระบวนการหมักน้ำปลา นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมยามีการใช้โบรมีเลนในการบำบัดรักษาโรค ได้แก่ การยับยั้งการเกิดเนื้องอก (Maurer, 2001) การเป็นภูมิแพ้ (Hale, 2004) ช่วยรักษาแผลให้หายเร็วขึ้น (Grabovac และ Schnurch, 2006) ช่วยในการหมุนเวียนโลหิตของหลอดเลือดและหัวใจให้ดีขึ้นและจากคุณสมบัติของการลดการอักเสบและเพิ่มการหมุนเวียนของโลหิตในสมองจึงมีการนำไปใช้ในผู้ป่วยอัลไซเมอร์อีกด้วย (Valles และคณะ, 2007) นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มการดูดซึมของยาบางชนิด และช่วย

ป้องกันการจับตัวของเกล็ดเลือด (Taussig and Batkin 1988) จากการศึกษาในสัตว์ พบว่า เมื่อรับประทานโบรมิเลน 1-2.4 กรัมต่อวันมีประสิทธิภาพในการรักษามะเร็งเต้านมและมะเร็งมดลูกได้ (Maurer, 2001) และยังมีรายงานว่าร่างกายของคนเราสามารถดูดซึมโบรมิเลนโดยปราศจากการสูญเสียความสามารถในการทำงานในระบบทางเดินอาหาร โดยสามารถรับประทานในปริมาณสูง (3 กรัมต่อวัน) ติดต่อกันเป็นเวลานานหลายปี (Castell และคณะ 1997)

เอนไซม์เปอร็อกซิเดสเป็นหนึ่งในโบรมิเลนเอนไซม์ โดยปกติพบมากในผักและผลไม้ เอนไซม์เปอร็อกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่มีการใช้ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง ทั้งในการ วินิจฉัยทางการแพทย์ การใช้ประโยชน์ทางด้าน อาหาร เครื่องดื่ม เกษกรรม ใช้ในการกำจัดสารพิษและสารก่อมะเร็งบางชนิด (น้อมจิตต์, 2555) อีกทั้งมีรายงานว่าเปอร็อกซิเดสกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์และเป็นทางเลือกหนึ่งของการป้องกันและรักษามะเร็ง

2.3 การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับผลการบริโภคผักผลไม้ในอาสาสมัคร

ผลไม้จัดเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เพราะในผลไม้อุดมไปด้วยเส้นใยอาหาร วิตามิน แร่ธาตุ และสารพฤกษเคมี (phytochemicals) ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด จากการศึกษาทางระบาดวิทยาที่ศึกษาผลของการบริโภคผักผลไม้ที่มีต่อการลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรัง (chronic disease) พบว่าการบริโภคผักผลไม้เป็นประจำในปริมาณที่เหมาะสมสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (He et al., 2007) โรคอ้วน (Moreira and Padrao, 2006) และโรคมะเร็งบางชนิด (Sauvaget et al., 2003; Benetou et al., 2008) ทั้งนี้เนื่องจากเส้นใยอาหารในผลไม้ช่วยชะลอการดูดซึมของน้ำตาล ลดคอเลสเตอรอล ช่วยในการขับถ่ายของเสียออกจากร่างกาย จึงช่วยลดน้ำหนัก ป้องกันโรคอ้วน และโรคมะเร็งบางชนิด เช่น มะเร็งลำไส้ นอกจากนี้สารพฤกษเคมีชนิดต่างๆ ที่มีในผักผลไม้ เช่นวิตามินซี คาโรทีนอยด์ สารโพลีฟีนอล ยังเป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถป้องกันและลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่นกัน

องค์การอนามัยโลกแนะนำว่าควรรับประทานผักผลไม้อย่างน้อยวันละ 400 กรัม (5 ส่วน) ขึ้นไป โดย 1 ส่วนของผักผลไม้เท่ากับ 80 กรัม (ป๊ายันท์ เผ่ามวง, ม.ป.ป.) เพื่อสุขภาพที่ดี นอกจากนี้องค์การอนามัยโลกแนะนำว่าการรับประทานผักผลไม้มากกว่า 600 กรัมต่อวัน สามารถลดจำนวนของเครื่องชี้วัดภาระโรค (Burden of disease) ซึ่งเป็นจัดเป็นการวัดสถานะสุขภาพของประชากรแบบองค์รวมที่วัดภาวะการสูญเสียด้านสุขภาพ ลงได้ร้อยละ 1.8 (Lock et al., 2005) ส่วนการศึกษาของ World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (2007) แนะนำว่าควรบริโภคผักผลไม้ระหว่าง 400-600 กรัมต่อวัน เพื่อช่วยป้องกันการเกิดโรคเรื้อรัง

Watzl et al. (2005) ได้ศึกษาผลของการรับประทานผักผลไม้ที่มีสารแคโรทีนอยด์สูง เปรียบเทียบระหว่างอาสาสมัครสุขภาพดี เพศชายและไม่สูบบุหรี่ 3 กลุ่มๆ ละ 21 คน โดยให้รับประทานผักผลไม้ในปริมาณต่ำ (2 ส่วนต่อวัน) ปานกลาง (5 ส่วนต่อวัน) และสูง (8 ส่วนต่อวัน) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการรับประทานผักผลไม้ในปริมาณ 8 ส่วนต่อวัน เป็นผลให้ปริมาณคาโรทีนอยด์ในพลาสมาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่บริโภคผักผลไม้ 2 ส่วนต่อวัน แต่ไม่พบความแตกต่างในปริมาณวิตามินซี

และอีโนพลาสมาระหว่างกลุ่มทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่า C reactive protein ในพลาสมาของอาสาสมัครที่รับประทานผักผลไม้ 8 ส่วนต่อวันมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงว่าการรับประทานผักผลไม้ในปริมาณสูงช่วยลดการอักเสบของเซลล์ในร่างกาย

การศึกษาผลการบริโภคผักผลไม้ที่มีต่อดัชนีของการเกิดความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในอาสาสมัครสุขภาพดีและไม่สูบบุหรี่ จำนวน 43 คน โดยแบ่งอาสาสมัครออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 รับประทานยาหลอก (placebo) กลุ่มที่ 2 รับประทานผักผลไม้สดในปริมาณ 600 กรัมต่อวัน ในขณะที่กลุ่มที่ 3 รับประทานอาหารเสริม ซึ่งประกอบด้วยวิตามินและเกลือแร่ในปริมาณที่เทียบเท่ากับการรับประทานผักผลไม้ 600 กรัม นาน 25 วัน พบว่าความเข้มข้นของเบต้าแคโรทีนและไลโคปีนในพลาสมา และ glutathione peroxidase activity ของกลุ่มที่บริโภคผักผลไม้สดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก นอกจากนี้ยังพบว่า plasma lipid oxidation lag times และ plasma protein carbonyl formation at lysine residues ของอาสาสมัครกลุ่มที่บริโภคผักผลไม้สดและอาหารเสริม มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบกับวันที่ 0 (baseline) การศึกษานี้จึงสรุปว่าการรับประทานผักผลไม้สดจะให้ผลดีต่อสุขภาพมากกว่าการรับประทานอาหารเสริม (Dragsted et al., 2004)

นอกจากนี้ Gibson et al. (2012) ได้ศึกษาผลการบริโภคผักผลไม้ในผู้สูงอายุ สุขภาพดีจำนวน 82 คน ที่มีต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยออกแบบการทดลองแบบ randomized controlled trial แบ่งอาสาสมัครออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่บริโภคผักผลไม้ไม่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ส่วนต่อวัน และกลุ่มที่บริโภคมากกว่าหรือเท่ากับ 5 ส่วนต่อวัน เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ พบว่าการบริโภคผักผลไม้ในปริมาณที่สูงช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันในร่างกายของอาสาสมัคร

Alimbetov et al. (2011) ออกแบบการทดลองแบบ single-blind, dose-dependent, parallel, randomized controlled study เพื่อศึกษาผลการบริโภคผักผลไม้ที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ต่างกัน โดยแบ่งอาสาสมัคร 154 คน ออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มแรก (กลุ่มควบคุม) จะรับประทานอาหารตามปกติในชีวิตประจำวัน กลุ่มที่สองคือกลุ่มที่รับประทานผักผลไม้ที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ต่ำ และกลุ่มสุดท้ายคือกลุ่มที่รับประทานผักผลไม้ที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูง หลังจากช่วง run-in period เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ อาสาสมัครในกลุ่มที่สองและสามจะต้องรับประทานผักผลไม้ที่กำหนดในปริมาณ 2 ส่วนใน 6 สัปดาห์แรก และจะเพิ่มปริมาณผักผลไม้เป็น 4 ส่วนใน 6 สัปดาห์ที่สอง และเพิ่มเป็น 6 ส่วนใน 6 สัปดาห์ถัดไป รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 18 สัปดาห์ โดยตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บที่สัปดาห์ที่ 6, 12 และ 18 ตามลำดับ การศึกษานี้พบว่าความเข้มข้นของวิตามินซีและฟลาโวนอยด์ในพลาสมาของอาสาสมัครกลุ่มที่สองและสามเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและจำนวนของผักผลไม้ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากผลการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการบริโภคผักผลไม้สดในปริมาณที่เหมาะสม (มากกว่า 5 ส่วนขึ้นไป) ส่งผลดีต่อสุขภาพของอาสาสมัคร เพราะทำให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกายและลดการอักเสบของเซลล์ อย่างไรก็ตามการรับประทานผลไม้บางอย่างถูกวิธี หรือรับประทานในเวลาที่เหมาะสมในแต่ละวันควรเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงเพื่อให้ร่างกายจะใช้ประโยชน์จากผลไม้ได้สูงสุด เนื่องจากการวิจัยของคณะผู้ศึกษา

ในทางโภชนาการและอาหารกลุ่มหนึ่งในโรงพยาบาล LOMALINDA รัฐแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา รายงานว่าเวลาที่เหมาะสมในการรับประทานผลไม้คือควรรับประทานในขณะที่ท้องว่างหรือระหว่างมื้ออาหาร ไม่ควรรับประทานผลไม้หลังอาหารทันที หากต้องการรับประทานควรรออย่างน้อย 1-2 ชั่วโมงหลังมื้ออาหาร เพราะน้ำย่อยในผลไม้จะไปย่อยอาหารหลักจนสภาพน้ำย่อยหมดความเป็นกรดและทำให้ผลไม้ถูกย่อยและดูดซึมในลำไส้เล็กได้ช้า หรือหากจะรับประทานผลไม้ก่อนมื้ออาหาร ควรรับประทานก่อนอย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้ผลไม้ที่รับประทานเข้าไปตกสู่ลำไส้เล็กและดูดซึมสารอาหารจากผลไม้เข้าสู่ร่างกาย เพื่อให้ประโยชน์แก่ร่างกายได้อย่างเต็มที่ (เอกนุช เชนสูงเนิน, 2557) นอกจากนี้ยังมีข้อแนะนำว่าการนำสับปะรดไปทาด้วยเกลือหรือแช่ในน้ำเกลืออ่อน ๆ ประมาณ 2-3 นาที จะทำให้รสชาติดีขึ้นแล้วยังเป็นการทำลายสารจำพวก Glycoalkaloid และเอนไซม์บางชนิด ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดอาการแพ้ได้หลังรับประทาน

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

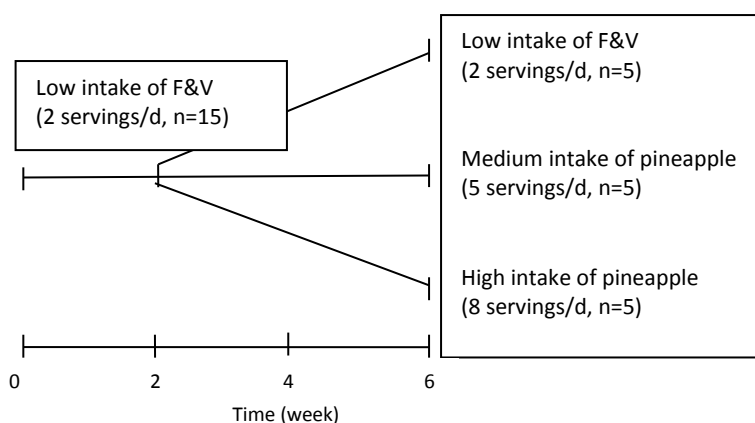
3.1 การคัดเลือกอาสาสมัคร

อาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการต้องมีสุขภาพดี อยู่ในพื้นที่จังหวัดเชียงราย มีอายุระหว่าง 18-45 ปี เป็นผู้รับประทานผักผลไม้ปริมาณต่ำ (เฉลี่ย ≤ 2 ส่วนต่อวัน) มีค่า BMI ระหว่าง 18.5-23.0 ไม่เป็นโรคเรื้อรัง เช่นโรคเบาหวาน มะเร็ง ไม่อยู่ในระหว่างการรับประทานยาเสริมหรือยาใดๆ ในระยะเวลา 2 เดือนที่ผ่านมา ไม่มีประวัติแพ้อาหาร ไม่เป็นโรคเกี่ยวกับการย่อยอาหาร ไม่มีความผิดปกติของการทำงานของตับและไต ไม่ตั้งครรภ์ ไม่สูบบุหรี่ ดื่มแอลกอฮอล์น้อยกว่า 30 กรัมต่อวัน มีค่าไขมันรวมในเลือด (lipid profile) อยู่ในเกณฑ์ปกติ กล่าวคือมีค่าเซรัมคอเลสเตอรอล น้อยกว่า 6.8 mmol/L เซรัมไตรกลีเซอไรด์ น้อยกว่า 2.3 mmol/L อัตราส่วนระหว่าง low-density lipoprotein (LDL) ต่อ high-density lipoprotein (HDL) น้อยกว่า 5.0 มีค่า complete blood count อยู่ในเกณฑ์ปกติ โดยอาสาสมัครต้องกรอกใบยินยอมเข้าร่วมการทดลอง บันทึกชนิดและปริมาณของอาหารที่รับประทานย้อนหลัง 7 วัน (7-d dietary history) บันทึกพฤติกรรมต่างๆ เช่นการออกกำลังกาย ประวัติการรับประทานยาหรือประวัติการดื่มแอลกอฮอล์ ชั่งน้ำหนัก ส่วนสูงและวัดความดันโลหิต

3.2 การวางแผนการทดลอง

การทดลองนี้เป็นการทดลองแบบ randomized longitudinal trial แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรก (run-in period) ใช้ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ช่วงที่สองใช้ระยะเวลา 4 สัปดาห์ (Watzl et al., 2005) อาสาสมัครที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกในข้อ 1 จำนวน 15 คน ถูกเก็บตัวอย่างเลือดในวันที่ 0 โดยอาสาสมัครต้องอดน้ำและอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมง จากนั้นอาสาสมัครถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 5 คน โดยวิธีการสุ่ม ซึ่งอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่มรับประทานอาหารในชีวิตประจำวันตามปกติ แต่ควบคุมให้รับประทานผักผลไม้ไม่เกิน 2 ส่วนต่อวัน (หนึ่งส่วนของผักผลไม้เท่ากับ 80 กรัม) เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (run-in period) หลังจากนั้นอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 ยังคงรับประทานอาหารตามปกติและควบคุมให้รับประทานผักผลไม้ในปริมาณเฉลี่ย ≤ 2 ส่วน (portions) ต่อวันเช่นเดิมตลอดการทดลอง โดยที่ไม่ต้องรับประทานสับปะรด ในขณะที่อาสาสมัครกลุ่มที่ 2 รับประทานสับปะรดวันละ 400 กรัม (เท่ากับ 5 ส่วน) เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ส่วนอาสาสมัครกลุ่มที่ 3 รับประทานสับปะรดวันละ 640 กรัม (เท่ากับ 8 ส่วน) เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ดังแสดงในภาพที่ 1 โดยกำหนดให้อาสาสมัครรับประทานสับปะรดเป็นอาหารว่างระหว่างมื้อ หรือรับประทานก่อนมื้ออาหาร 30 นาที หรือรับประทานหลังมื้ออาหารประมาณ 1 ชั่วโมง ซึ่งอาสาสมัครจะรับประทานสับปะรดให้หมดภายในครั้งเดียวหรือจะแบ่งทานหลายครั้งก็ได้ แต่ต้องครบตามจำนวนที่กำหนดในแต่ละวัน จากนั้นตัวอย่างเลือดของอาสาสมัครจะถูกเก็บก่อนเข้าร่วมโครงการหรือวันที่ 0 (baseline) ก่อนการ

รับประทานสับปะรดหรือสัปดาห์ที่ 2 (before) และหลังการรับประทานสับปะรดหรือสัปดาห์ที่ 6 (after) รวม 3 ครั้ง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมา ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณ nitrate และ nitrite กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD) และ glutathione peroxidase (GPx) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและไขมันรวม (lipid profile) ในเลือด นอกจากนี้ระหว่างการทดลองอาสาสมัครต้องจดบันทึกรายการอาหารที่รับประทานเป็นเวลาสามวันต่อสัปดาห์ (three day diet diaries) ซึ่งจดบันทึกรายการที่รับประทานในระหว่างวันธรรมดา จำนวน 2 วัน และวันหยุด (เสาร์หรืออาทิตย์) จำนวน 1 วัน เป็นเวลาทุกสัปดาห์ตลอดการทดลองด้วย



ภาพที่ 3.1 การออกแบบการทดลอง

ในระหว่างการทดลองอาสาสมัครทุกคนควรหลีกเลี่ยงการรับประทานผักผลไม้ที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง ดังนี้

- ผลไม้ ได้แก่ แอปเปิ้ล องุ่น ส้ม สตรอเบอร์รี่ ฝรั่ง
- ผัก ได้แก่ ผักใบสีเขียวเข้ม บลอคโคลี่ หน่อไม้ฝรั่ง ฟักทอง แครอท หอมหัวใหญ่ พริกหวาน มะเขือม่วง มะเขือเทศ

การวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง (REH-58093) มีคณะแพทย์และพยาบาลดูแลอาสาสมัครตลอดโครงการอย่างใกล้ชิด นอกจากนี้อาสาสมัครสามารถถอนตัวจากการวิจัยในระหว่างการวิจัยโดยไม่มีข้อผูกมัด

3.3 การติดตามผล

การติดตามผลประจำเดือน (Monthly follow-up) อาสาสมัครจะถูกชั่งน้ำหนักและวัดความดันโลหิต นอกจากนี้อาสาสมัครต้องส่งแบบบันทึกอาหารที่รับประทานดังที่กล่าวในข้อ 3.2 และถูกสัมภาษณ์เพื่อประเมิน compliance และอาการไม่พึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้น

3.4 การเตรียมตัวอย่างสับปะรด

นำสับปะรดนางแลที่สุกเต็มที่ มาล้างและปอกเปลือก หั่นเป็นชิ้นพอดีคำ แช่ในน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 1 นาน 2 นาที บรรจุในกล่องพลาสติกจำนวน 400 กรัม (สำหรับอาสาสมัครกลุ่มที่ 2) หรือ 640 กรัม (สำหรับอาสาสมัครกลุ่มที่ 3) แช่ในอุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) ก่อนนำไปส่งให้อาสาสมัครในแต่ละวัน ตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างสับปะรด

สุ่มตัวอย่างสับปะรดมาวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนด้วยเครื่อง HPLC (Niwat, 2009) วิตามินซีด้วยเครื่อง HPLC (Watzl et al, 2005) และเส้นใยอาหาร

3.6 การเก็บตัวอย่างเลือด

ตัวอย่างเลือดถูกนำมาปั่นแยกพลาสมาทันทีหลังจากเก็บจากอาสาสมัคร ด้วยเครื่อง Centrifuge ความเร็ว 3000 rpm นาน 5 นาที เก็บตัวอย่างพลาสมาที่ได้ใส่ในหลอด Eppendorf และนำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

3.7 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในเลือด

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในเลือดด้วยวิธี Glucose Oxidase Method ด้วยเครื่อง Selectra XL (บริษัท ยู.เอส.ซัมมิต จำกัด) ซึ่งเป็นเครื่องวิเคราะห์ทางเคมีแบบอัตโนมัติ (chemistry autoanalysis)

3.8 การวิเคราะห์ไขมันรวมในเลือด (lipid profile)

นำตัวอย่างเลือดมาปริมาณไขมันรวมในเลือดดังนี้

3.8.1 ปริมาณคอเลสเตอรอลด้วยวิธี Enzyme colorimetric ด้วยเครื่อง Selectra XL (บริษัท ยู.เอส.ซัมมิต จำกัด)

3.8.2 ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ด้วยวิธี Enzyme colorimetric ด้วยเครื่อง Selectra XL (บริษัท ยู.เอส.ซัมมิต จำกัด)

3.8.3 ปริมาณ HDL ด้วยวิธี Polyanion ด้วยเครื่อง Selectra XL (บริษัท ยู.เอส.ซัมมิต จำกัด)

3.8.4 ปริมาณ LDL ด้วยวิธี Direct LDL ด้วยเครื่อง Selectra XL (บริษัท ยู.เอส.ซัมมิต จำกัด)

3.9 การวิเคราะห์การทำงานของตับและไต

4.12.1 วิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ตับ ได้แก่ ค่า AST, ALT และ ALP ด้วยวิธี Kinetic enzyme 37c ด้วยเครื่อง Selectra XL (บริษัท ยู.เอส.ซัมมิต จำกัด)

4.1.2.2 วิเคราะห์การทำงานของไต โดยการตรวจ creatinine ด้วยวิธี Jaffe Kinetic ด้วยเครื่อง Selectra XL (บริษัท ยู.เอส.ซัมมิต จำกัด)

3.10 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมา

4.6.1 วิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีน ด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Niwat (2009)

4.6.2 วิเคราะห์ปริมาณวิตามินอี ในรูป α - และ γ -tocopherol ด้วยเครื่อง HPLC ที่ความยาวคลื่น 292 นาโนเมตรตามวิธีของ Thurnham et al. (1988)

3.11 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

3.11.1 วิเคราะห์ Ferric Reducing Antioxidant Power ในพลาสมา ตามวิธีของ Niwat (2009)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลาย 40 mM HCl โดยการผสม 5 M HCl จำนวน 1.6 มิลลิลิตร กับน้ำปราศจากอ็อกซิเจน (deionized water) แล้วปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร

- สารละลาย acetate buffer, pH 3.6 โดยละลาย sodium acetate trihydrate จำนวน 3.10 กรัม ในกรดอะซิติกจำนวน 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำปราศจากอ็อกซิเจน เก็บไว้ในตู้เย็น

- สารละลาย 10 mM TPTZ เตรียมโดยละลาย TPTZ จำนวน 0.6248 กรัมใน 40 mM HCl และปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร

- สารละลาย 20 mM FeCl₃ โดยละลาย FeCl₃ จำนวน 1.0812 กรัมในน้ำปราศจากอ็อกซิเจน และปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร

- สารละลาย FRAP working reagent จะถูกเตรียมใหม่ทุกวัน (วันละ 2 ครั้ง) โดยการผสมสารละลาย acetate buffer สารละลาย TPTZ และ สารละลาย FeCl₃ ในอัตราส่วน 10:1:1

- สารละลาย trolox จะถูกใช้เป็นกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 100, 250, 500 and 750 ไมโครโมลาร์ ซึ่งการเตรียม stock solution ความเข้มข้น 2000 ไมโครโมลาร์ ของ trolox ทำได้โดยชั่ง trolox 0.005 กรัม ละลายในเมทานอลจำนวน 2.5 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วย acetate buffer จากนั้นเก็บสารละลายนี้ใน Eppendorf tube เก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

นำ FRAP working reagent ไปอุ่นที่ 37 องศาเซลเซียส เจือจางตัวอย่างพลาสมาในอัตราส่วน 1:4 โดยการผสมพลาสมาจำนวน 100 ไมโครลิตรกับน้ำกลั่น จำนวน 300 ไมโครลิตร เตรียมไมโครเพลทชนิด 96 หลุมโดยการเติมน้ำกลั่นจำนวน 225 ไมโครลิตรลงในหลุมด้านนอกของไมโครเพลท จากนั้นเปิดตัวอย่างพลาสมาเจือจางหรือสารละลายมาตรฐานจำนวน 30 ไมโครลิตรลงในไมโครเพลทชนิด 96 หลุมที่ยังว่างอยู่ เติมสารละลาย FRAP reagent ที่อุ่นไว้จำนวน 225 ไมโครลิตร ลงไป ทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 8 นาที จากนั้นอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร

3.11.2 วิเคราะห์ Trolox Equivalent Antioxidant Capacity ในพลาสมา โดยดัดแปลงจากวิธีของ Re et al. (1999)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลาย 75 mM sodium phosphate buffer, pH 7.4 โดยการละลาย sodium phosphate dihydrate ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วย 1 M. NaOH แล้วนำไปเก็บในตู้เย็น

- สารละลาย ABTS stock solution โดยชั่ง ABTS และ potassium persulfate จำนวน 0.0384 และ 0.00662 กรัม ตามลำดับ นำไปละลายในน้ำกลั่นแยกกันเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายเป็น 7 mM และ 2.45 mM ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายทั้งสองมาผสมกันและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บสารนี้ไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องประมาณ 12-16 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้

- สารละลาย stock solution ของ trolox ความเข้มข้น 3000 ไมโครโมลาร์ โดยละลาย 0.0075 กรัมในเมทานอลจำนวน 2.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วย sodium phosphate buffer จากนั้นเก็บสารละลายนี้ใน Eppendorf tube เก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จากนั้นจะนำไปใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน trolox ที่ความเข้มข้น 0, 250, 500, 750, 1000, 1500 and 2000 ไมโครโมลาร์ต่อไป

เตรียมสารละลาย ABTS working solution ใหม่ทุกครั้ง โดยการเจือจางสารละลาย ABTS stock solution ด้วย PBS ในอัตราส่วนระหว่าง ABTS stock solution: PBS เท่ากับ 1:90 – 1:100 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งค่าที่อ่านได้ควรเท่ากับ 0.7000 ± 0.0200 ปิเปตสารละลาย ABTS working solution จำนวน 2000 ไมโครลิตร ลงในคิวเวทท์ เจือจางตัวอย่างพลาสมาลง 5 เท่า โดยผสมพลาสมา 50 ไมโครลิตรกับ PBS จำนวน 200 ไมโครลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างพลาสมาจำนวน 20 ไมโครลิตร ลงในคิวเวทท์ ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรทันที และวัดค่าการดูดกลืนแสงทุกๆ 1 นาที จนครบ 5 นาที ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดังสมการ

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibition} &= \% \text{ inhibition (sample)} - \% \text{ Inhibition (blank)} \\ &= \frac{At=0(\text{sample}) - At=5(\text{sample})}{At=0(\text{sample})} \times 100 - \frac{At=0(\text{blank}) - At=5(\text{blank})}{At=0(\text{blank})} \times 100 \end{aligned}$$

จากนั้นพล็อตกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (Y) และความเข้มข้นของ Trolox (X) เพื่อกำหนดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

3.11.3 วิเคราะห์กิจกรรมของ antioxidant enzymes ในพลาสมาและเม็ดเลือด

3.11.3.1 การศึกษากัมมันตภาพเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD)

การศึกษากัมมันตภาพของเอนไซม์ superoxide dismutase โดยใช้ชุดทดสอบ SOD Assay Kit (Sigma-Aldrich: 19160) อาศัย WST ในการสร้าง water-soluble formazan dye ซึ่งจะไปเกิดปฏิกิริยา reduction กับ superoxide anion ซึ่งการลดลงของ WST-1 formazan สามารถแสดงถึงกัมมันตภาพของเอนไซม์ superoxide dismutase ได้

เติมซีรัมของอาสาสมัคร และน้ำลงใน 96-well plate ดังตารางที่ 3.1 แล้วเติม WST working solution และ Enzyme working solution ตามลำดับ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร คำนวณหา กัมมันตภาพเอนไซม์ superoxide dismutase ดังสูตรด้านล่าง

ตารางที่ 3.1 การเตรียมตัวอย่างและสารละลายสำหรับวิเคราะห์ SOD

	Sample	Blank 1	Blank 2*	Blank 3	
Sample solution (μl)	20		20		
ddH ₂ O (μl)		20		20	
WST working solution (μl)	200	200	200	200	Mix
Dilution buffer (μl)			20	20	
Enzyme working solution (μl)	20	20			Mix

สูตรการคำนวณ

$$SOD \text{ activity (inhibition rate\%)} = \left[\frac{(A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank 2}})}{(A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 3}})} \right] \times 100$$

3.11.3.2 การศึกษากัมมันตภาพเอนไซม์ glutathione peroxidase (GPx)

การวัดกัมมันตภาพของเอนไซม์ glutathione peroxidase ด้วยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Nagalakshmi และคณะ (2001) อาศัยการทำงานของเอนไซม์ glutathione peroxidase ร่วมกับ glutathione reductase โดยมีหลักการคือ glutathione peroxidase รีดิวซ์ tert-butylhydroperoxide และออกซิไดซ์ reduced glutathione ให้เป็น oxidized glutathione จากนั้น oxidized glutathione จะถูกรีดิวซ์กลับไปเป็น reduced glutathione โดยใช้ β-NADPH จากการทำงานของ glutathione reductase (Moncada,

1992) ดังนั้นการลดลงของ β -NADPH สามารถแสดงถึงกัมมันตภาพของเอนไซม์ glutathione peroxidase ได้ สามารถวัดการลดลงของ β -NADPH ที่ความยาวคลื่น 340 nm

นำซีรัมของอาสาสมัครมาเติมสารละลายผสมของ 0.1 tris-hydrochloric acid-EDTA buffer pH 8.0, 0.1M กลูตาไธโอน, 10 U glutathione reductase และ 2mM β -NADPH ทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที พอครบเวลาเติม 7mM tert-butylhydroperoxide วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตรที่เวลา 30 และ 90 วินาที คำนวณกัมมันตภาพของเอนไซม์โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์โมลาร์ (molar extinction coefficient) ของ β -NADPH $6.22 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ดังสูตรที่แสดงด้านล่าง แล้วนำกัมมันตภาพของเอนไซม์ที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน แสดงผลในหน่วย U/mg protein

$$\text{กัมมันตภาพของ glutathione peroxidase (U/mg protein)} = \frac{(OD_{30} - OD_{90}) \times \text{dilution factor}}{6.22 \times \text{Total protein}}$$

โดย 1 U คือ จำนวนเอนไซม์ glutathione peroxidase ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน 1 μmol ของ NADPH ต่อนาทีภายใต้สภาวะที่กำหนด

3.12 การวิเคราะห์ปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาและปัสสาวะ

วิเคราะห์สาร hippuric acid ซึ่งเป็นตัวชี้วัดการดูดซึมของฟลาโวนอยด์ในพลาสมาและเป็นสารเมตาบอไลต์ที่สำคัญของสารประกอบโพลีฟีนอลหลายตัว (George et al., 2012) โดยการสกัดตามวิธีของ Mohsen et al. (2006) จากนั้นวิเคราะห์ความเข้มข้นด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Felgines et al. (2003) และ Kay et al. (2004)

3.13 การวิเคราะห์ปริมาณ nitrate/nitrite ในพลาสมา

วิเคราะห์ nitrate/nitrite โดยใช้ชุดทดสอบ Cayman's Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit ตามวิธีของ Moncada (1992) Nathan (1992) Green และคณะ (1982) และ Nims และคณะ (1995) ซึ่งวัดปริมาณ total nitrate และ nitrite อาศัยการทำงานของเอนไซม์ nitrate reductase เปลี่ยน nitrate ให้เป็น nitrite ซึ่งจะถูกลดเป็น Azo compound เมื่อเติม Griess Reagent

การวัดปริมาณ nitrate และ nitrite รวม โดยเติมสารมาตรฐาน nitrate ที่ความเข้มข้นดังตารางที่ 3.2 และซีรัมของอาสาสมัครลงใน 96 well plate แล้วเติม enzyme cofactor mixture และ nitrate reductase mixture ปิด plate ด้วย plate cover ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติม Griess reagent R1 และ R2 ตามลำดับ ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร คำนวณปริมาณ total nitrate เทียบกับสารมาตรฐาน

ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Nitrate

200 μ M Nitrate Standard (μ l)	Assay Buffer (μ l)	Final Nitrate Concentration (μ M)*
0	80	0
5	75	5
10	70	10
15	65	15
20	60	20
25	55	25
30	50	30
35	45	35

*Final concentration คิดเป็นความเข้มข้นสุดท้ายในปริมาตร 200 μ l หลังจากเติม Griess reagent

การวัดปริมาณ nitrite เติมสารมาตรฐาน nitrate ที่ความเข้มข้นดังตารางที่ 3.3 และซีรัมของอาสาสมัครลงใน 96 well plate เติม Griess reagent R1 และ R2 ตามลำดับ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร คำนวณปริมาณ nitrite เทียบกับสารมาตรฐาน

ตารางที่ 3.3 ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Nitrite

200 μ M Nitrite Standard (μ l)	Assay Buffer (μ l)	Final Nitrite Concentration (μ M) *
0	100	0
5	95	5
10	90	10
15	85	15
20	80	20
25	75	25
30	70	30
35	65	35

*Final concentration คิดเป็นความเข้มข้นสุดท้ายในปริมาตร 200 μ l หลังจากเติม Griess reagent

สูตรการคำนวณ

$$[\text{Nitrate} + \text{Nitrite}](\mu\text{M}) = \left(\frac{A_{550} - y \text{ intercept}}{\text{Slope}} \right) \left(\frac{200 \mu\text{l}}{\text{Volume of sample used } (\mu\text{l})} \right) \times \text{dilution}$$

$$[\text{Nitrite}](\mu\text{M}) = \left(\frac{A_{550} - y \text{ intercept}}{\text{Slope}} \right) \left(\frac{200 \mu\text{l}}{\text{Volume of sample used } (\mu\text{l})} \right) \times \text{dilution}$$

$$[\text{Nitrate}](\mu\text{M}) = (\text{Nitrate} + \text{Nitrite}) - (\text{Nitrite})$$

3.14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การคัดเลือกอาสาสมัคร

ดำเนินการประกาศรับสมัครและคัดเลือกอาสาสมัครสุขภาพดีในจังหวัดเชียงรายเข้าร่วมโครงการ โดยมีผู้สมัครจำนวน 17 คน สมัครเข้าร่วมโครงการ แต่มีผู้สมัครถอนตัว 2 คน เนื่องจากไม่สามารถเข้าร่วมการติดตามผลตลอดโครงการได้ ดังนั้นจึงมีอาสาสมัครเพศหญิงจำนวนทั้งสิ้น 15 คน อายุระหว่าง 23-32 ปี แบ่งกลุ่มอาสาสมัครแบบสุ่มออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 5 คน และได้ข้อมูลพื้นฐานก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลพื้นฐาน (baseline) ของอาสาสมัคร^{ns}

	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
Age (Y)	25.40±3.29	26.80±3.90	26.20±4.44
Weight (kg)	51.72±6.99	53.40±6.91	49.40±3.05
BMI (kg/m ²)	20.04±1.12	21.36±2.36	19.20±1.17
Systolic pressure (mmHg)	108.02±8.87	106.20±10.43	109.60±12.34
Diastolic pressure (mmHg)	71.60±10.74	74.00±10.24	73.20±5.17

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± SD; ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติในแถวเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ

95

หลังจากช่วง run-in period เป็นเวลา 2 สัปดาห์ อาสาสมัครในกลุ่ม medium intake และ high intake รับประทานสับปะรดสดพันธุ์นางแลวันละ 400 และ 640 กรัมต่อวันตามลำดับ ในขณะที่อาสาสมัครกลุ่ม low intake ไม่ต้องรับประทานสับปะรด แต่คงรับประทานอาหารตามปกติและควบคุมให้รับประทานผักผลไม้ในปริมาณเฉลี่ย ≤2 ส่วนต่อวันเช่นเดิมตลอดการทดลอง จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครก่อนและหลังการรับประทานสับปะรด เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีน วิตามินซีและเส้นใยอาหารของสับปะรดสด

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างสับปะรดพบมีปริมาณเบต้าแคโรทีน 8.13 ± 0.54 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด วิตามินซี 5.95 ± 0.39 มิลลิกรัม และเส้นใยอาหาร 2.42 ± 0.14 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในเลือด

ดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในเลือดของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline หรือสัปดาห์ที่ 0) ก่อนการรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After) ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลในเลือดของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After)

ปริมาณน้ำตาลในเลือด (mmol/l)	อาสาสมัคร		
	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
Baseline	4.27±0.28 ^a	4.51±0.48 ^a	4.58±0.25 ^b
Before	4.17±0.27 ^a	4.44±0.32 ^a	4.40±0.36 ^b
After	4.74±0.39 ^a	4.99±0.50 ^a	5.16±0.15 ^a

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± SD; ค่า a-b หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการทดลองพบว่าปริมาณน้ำตาลในเลือดของอาสาสมัครกลุ่ม high intake เพิ่มขึ้นหลังจากการรับประทานสับปะรดนาน 4 สัปดาห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากสับปะรดเป็นผลไม้ที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ 13 กรัม ใน 100 กรัม (กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2553) ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลในเลือดของอาสาสมัครกลุ่ม low intake และ medium intake ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.4 การวิเคราะห์ไขมันรวมในเลือด (lipid profile)

ดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณ total cholesterol, triglyceride, low-density lipoprotein (LDL) และ high-density lipoprotein (HDL) ในเลือดของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) ก่อนการรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่าปริมาณ total cholesterol, triglyceride, LDL และ HDL ของอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่มไม่มีการเปลี่ยนแปลงก่อนและหลังการรับประทานสับปะรดสดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Costantine และคณะ (2005) ที่รายงานผลการศึกษาศึกษาการบริโภคน้ำสับปะรดที่มีต่อปริมาณไขมันรวมในเลือด

ของหนู rat พบว่า ปริมาณ total cholesterol, HDL และ LDL ไม่มีการเปลี่ยนแปลงภายหลังให้หนูกินน้ำ
สับปะรดเป็นเวลานาน 6 เดือน

ตารางที่ 4.3 ปริมาณไขมันรวมของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด
(Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After)

	อาสาสมัคร		
	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
Total cholesterol (mmol/l) ^{ns}			
Baseline	4.71±0.75	5.43±0.49	6.63±2.19
Before	4.34±0.39	4.85±0.55	5.76±1.70
After	4.80±0.90	5.48±0.66	6.39±2.01
Triglyceride (mmol/l) ^{ns}			
Baseline	0.73±0.17	0.85±0.16	0.73±0.23
Before	0.75±0.26	0.85±0.31	0.72±0.25
After	1.03±0.30	1.13±0.42	0.91±0.10
LDL cholesterol (mmol/l) ^{ns}			
Baseline	2.69±0.36	3.11±0.39	4.50±3.05
Before	2.45±0.38	2.79±0.23	3.58±1.73
After	2.60±0.34	3.19±0.49	3.71±1.67
HDL cholesterol (mmol/l) ^{ns}			
Baseline	1.81±0.80	2.07±0.48	2.16±0.37
Before	1.81±0.64	1.88±0.54	2.06±0.39
After	2.27±0.80	2.28±0.68	2.43±0.42

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± SD; ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันของไขมันแต่ละตัวที่
ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.5 การวิเคราะห์การทำงานของตับและไต

วิเคราะห์การทำงานของตับ (ค่า AST, ALT และ ALP) และการทำงานของไต (ค่า creatinine) ในเลือด
ของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนการรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการ

รับประทานสับปะรด (After) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าการทำงานของตับและไตของอาสาสมัคร ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการรับประทานสับปะรดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ตารางที่ 4.4 ปริมาณ AST, ALT, ALP และ creatinine ของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After)

	อาสาสมัคร		
	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
AST (unit/L)			
Baseline	14.00 $\pm$ 7.48 ^a	15.40 $\pm$ 2.97 ^a	16.40 $\pm$ 3.29 ^a
Before	15.00 $\pm$ 3.87 ^a	15.40 $\pm$ 2.07 ^a	14.40 $\pm$ 2.97 ^a
After	17.99 $\pm$ 4.30 ^a	18.20 $\pm$ 5.36 ^a	18.20 $\pm$ 4.76 ^a
ALT (unit/L)			
Baseline	13.40 $\pm$ 3.91 ^a	9.61 $\pm$ 2.30 ^a	11.20 $\pm$ 2.95 ^a
Before	14.00 $\pm$ 5.70 ^a	12.00 $\pm$ 3.74 ^a	10.80 $\pm$ 1.48 ^a
After	12.68 $\pm$ 3.90 ^a	11.32 $\pm$ 4.86 ^a	13.85 $\pm$ 3.41 ^a
ALP (unit/L)			
Baseline	45.80 $\pm$ 6.30 ^a	39.80 $\pm$ 4.92 ^b	41.00 $\pm$ 10.42 ^a
Before	49.20 $\pm$ 7.69 ^a	45.60 $\pm$ 8.53 ^{ab}	43.80 $\pm$ 12.50 ^a
After	54.44 $\pm$ 12.82 ^a	53.12 $\pm$ 7.89 ^a	52.24 $\pm$ 11.91 ^a
Creatinine (μ mol/L)			
Baseline	75.67 $\pm$ 7.82 ^a	74.61 $\pm$ 6.42 ^a	76.20 $\pm$ 8.30 ^a
Before	65.42 $\pm$ 3.00 ^a	65.42 $\pm$ 3.00 ^a	67.01 $\pm$ 4.39 ^a
After	75.07 $\pm$ 4.94 ^a	72.18 $\pm$ 3.64 ^a	74.88 $\pm$ 6.98 ^a

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย $\pm$ SD; ค่า a-b หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันของเอนไซม์ตัวเดียวที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมา

วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่เบต้าแคโรทีน และวิตามินอี (α -tocopherol และ γ -tocopherol) ในพลาสมาของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนการรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After) แสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After)

	อาสาสมัคร		
	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
เบต้าแคโรทีน ($\mu\text{g/mL}$)			
Baseline	32.37 $\pm$ 9.35 ^a	54.36 $\pm$ 8.14 ^a	29.37 $\pm$ 5.08 ^b
Before	27.21 $\pm$ 6.01 ^a	55.92 $\pm$ 9.67 ^a	26.82 $\pm$ 5.00 ^b
After	31.98 $\pm$ 8.10 ^a	64.04 $\pm$ 9.14 ^a	40.53 $\pm$ 11.74 ^a
α -tocopherol ($\mu\text{g/mL}$)			
Baseline	9.40 $\pm$ 3.69 ^a	13.51 $\pm$ 3.83 ^a	6.84 $\pm$ 1.87 ^a
Before	7.51 $\pm$ 2.58 ^a	17.95 $\pm$ 2.38 ^a	8.43 $\pm$ 3.62 ^a
After	9.41 $\pm$ 2.87 ^a	16.44 $\pm$ 3.60 ^a	7.03 $\pm$ 3.16 ^a
γ -tocopherol ($\mu\text{g/mL}$)			
Baseline	190.90 $\pm$ 17.16 ^a	185.34 $\pm$ 10.05 ^a	172.05 $\pm$ 14.23 ^a
Before	205.16 $\pm$ 10.13 ^a	184.14 $\pm$ 12.62 ^a	161.46 $\pm$ 9.78 ^a
After	194.61 $\pm$ 33.77 ^a	192.64 $\pm$ 28.75 ^a	192.61 $\pm$ 31.02 ^a

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM; ค่า a-b หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันของแต่ละปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการทดลองพบว่าปริมาณเบต้าแคโรทีนในพลาสมาของอาสาสมัครกลุ่ม high intake ภายหลังการรับประทานสับปะรดจำนวน 640 กรัม ซึ่งเทียบเท่ากับปริมาณเบต้าแคโรทีน 52 ไมโครกรัมต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์นั้น เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนการรับประทาน ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงปริมาณเบต้าแคโรทีนในพลาสมาของกลุ่ม medium intake (รับประทานสับปะรดจำนวน 400 กรัม ซึ่งเทียบเท่ากับปริมาณเบต้าแคโรทีน 32 ไมโครกรัมต่อวัน) ก่อนและหลังการรับประทานสับปะรด

และไม่พบการเปลี่ยนแปลงในกลุ่ม low intake นอกจากนี้ปริมาณวิตามินอีแสดงในรูป α -tocopherol และ γ -tocopherol ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการทดลองในอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม โดยผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Riso และคณะ (2004) ที่ให้อาสาสมัครรับประทานมะเขือเทศสดและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศติดต่อกันนาน 3 สัปดาห์ โดยแต่ละสัปดาห์อาสาสมัครรับประทานมะเขือเทศสดจำนวน 100 กรัม 2 ครั้ง ซอสมะเขือเทศจำนวน 60 กรัม 3 ครั้ง และ tomato paste จำนวน 15 กรัม 2 ครั้ง ซึ่งเทียบเท่ากับปริมาณเบต้าแคโรทีน 0.5 มิลลิกรัมต่อวัน พบว่าปริมาณเบต้าแคโรทีนในพลาสมาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.001$) เทียบกับก่อนการรับประทานผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ ในขณะที่ปริมาณวิตามินอีในพลาสมาของอาสาสมัครลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.0001$) ภายหลังการรับประทานมะเขือเทศสดและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ

4.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาของอาสาสมัคร โดยการวิเคราะห์ค่า Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) และค่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After)

	อาสาสมัคร		
	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
FRAP (μM)			
Baseline	77.57 ± 2.76^b	93.88 ± 4.00^a	82.81 ± 5.07^a
Before	89.85 ± 3.89^a	89.86 ± 6.40^a	76.43 ± 4.39^a
After	81.07 ± 5.86^{ab}	89.56 ± 6.03^a	81.17 ± 3.11^a
TEAC (mM)			
Baseline	166.72 ± 10.76^a	152.24 ± 11.67^a	130.11 ± 12.47^a
Before	163.39 ± 10.12^a	154.41 ± 10.38^a	135.44 ± 10.54^a
After	165.22 ± 7.62^a	161.89 ± 10.40^a	145.42 ± 7.18^a

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM; ค่า a-b หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.6 พบว่าค่าความสามารถในด้านอนุมูลอิสระ ซึ่งแสดงโดยค่า FRAP ของอาสาสมัครกลุ่ม high intake มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นภายหลังจากการรับประทานสัปดาห์ 4 สัปดาห์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่ค่า FRAP ของอาสาสมัครกลุ่ม medium intake ไม่มีการเปลี่ยนแปลงภายหลังจากการรับประทานสัปดาห์ 4 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามค่า FRAP ของอาสาสมัครกลุ่ม low intake มีแนวโน้มลดลงเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง

นอกจากนี้ค่าความสามารถในด้านอนุมูลอิสระ ซึ่งแสดงโดยค่า TEAC ของอาสาสมัครกลุ่ม medium และ high intake มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นภายหลังจากการรับประทานสัปดาห์ 4 สัปดาห์ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่ค่า FRAP ของกลุ่ม low intake มีแนวโน้มลดลง

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการรับประทานสัปดาห์ 4 สัปดาห์ ทำให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาสาสมัครมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอาสาสมัครในกลุ่ม high intake เปรียบเทียบกับอาสาสมัครที่ไม่ได้รับประทานสัปดาห์เลย ถึงแม้ว่าการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวยังไม่ชัดเจนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากจำนวนตัวอย่างอาสาสมัครในแต่ละกลุ่มมีจำนวนน้อยเกินไป หรือระยะเวลาในการรับประทานสัปดาห์ยังไม่เพียงพอที่จะเห็นผลการเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน

4.8 การวิเคราะห์กิจกรรมของ antioxidant enzyme ในพลาสมา

Glutathione peroxidase (GPx) และ Superoxide dismutase (SOD) คือเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดจากการเผาผลาญภายในเซลล์ จึงเรียกได้ว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย เอนไซม์ชนิดนี้มีอยู่ในร่างกายตั้งแต่แรกเกิด แต่จะมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ เมื่ออายุมากขึ้น GPx และ SOD ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ (Primary antioxidant) จัดว่าเป็น Complete defense system ทำหน้าที่เป็นเหมือนด่านแรกที่คอยกำจัดอนุมูลอิสระ ก่อนที่อนุมูลอิสระจะเข้าสู่กระบวนการที่ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้สารต่างๆ ในร่างกาย เข้าไปทำลายเซลล์ต่อไป (Rodrigues และคณะ, 2013)

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ glutathione peroxidase และ Superoxide dismutase ในพลาสมาของอาสาสมัคร พบว่าทั้งค่า GPx และ SOD ในพลาสมาของอาสาสมัครกลุ่ม medium และ high intake ภายหลังจากการรับประทานสัปดาห์ 4 สัปดาห์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับก่อนการรับประทานและช่วง baseline เปรียบเทียบกับกลุ่ม low intake ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการทดลองของ Rodrigues และคณะ (2013) ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ SOD ในพลาสมาของ Wistar rat ที่กินน้ำส้มและน้ำองุ่นจำนวน 10 มิลลิเมตรต่อกรัมน้ำหนักตัว เป็นเวลา 17 วันเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้โดยทั่วไปปริมาณ GPx และ SOD ในพลาสมามีค่าต่ำกว่าในตับ จึงมักไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับปริมาณที่พบในเซลล์ตับ

ตารางที่ 4.7 กิจกรรมของ antioxidant enzyme ในพลาสมาของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After)

	อาสาสมัคร		
	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
GPx (pmol NADPH/min/mg protein) ^{ns}			
Baseline	92.05±10.97	93.36±13.45	98.68±10.96
Before	91.74±9.14	96.72±19.09	100.54±13.58
After	100.80±20.72	100.44±8.97	101.18±18.45
SOD (%inhibition) ^{ns}			
Baseline	68.67±4.12	71.11±6.42	67.40±3.70
Before	72.72±3.78	66.92±4.09	69.95±3.94
After	72.54±4.19	70.37±4.73	70.87±5.25

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± SD (n=5); ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันของแอนไซม์แต่ละตัวที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.9 การวิเคราะห์ปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาและปัสสาวะ

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาและปัสสาวะของอาสาสมัคร โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงก่อนและหลังการรับประทานสับปะรดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาของอาสาสมัครกลุ่ม high intake เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่อาสาสมัครกลุ่ม medium และ low intake มีปริมาณ hippuric acid ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการรับประทานสับปะรดจำนวน 8 ส่วน หรือ 640 กรัมต่อวัน เพียงพอที่ทำให้เห็นความเปลี่ยนแปลงของ hippuric acid ซึ่งเป็นสารเมตาบอไลต์ของโพลีฟีนอลในพลาสมา อย่างไรก็ตามไม่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ hippuric acid ในปัสสาวะได้ เนื่องจากอาจมีการเปลี่ยนไปเป็นสารอื่นเนื่องจากผลของเมตาบอลิซึมของร่างกาย

ตารางที่ 4.8 ปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาและปัสสาวะของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After)

	อาสาสมัคร		
	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
Plasma hippuric acid (mM)			
Baseline	1,877.94±44.04 ^a	2,017.72±358.40 ^a	1,580.77±38.23 ^b
Before	1,802.28±35.95 ^a	2,180.68±157.60 ^a	1,554.81±148.41 ^b
After	1,560.57±93.76 ^b	1,424.98±129.30 ^b	2,037.88±214.19 ^a
Urine hippuric acid (mM)			
Baseline	ND	ND	ND
Before	ND	ND	ND
After	ND	ND	ND

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± SEM; ค่า a-b หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.10 การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท/ไนไตรท์ในพลาสมา

ไนตริกออกไซด์เป็นหนึ่งในดัชนีชี้วัดที่สำคัญของ endothelial function เนื่องจากไนตริกออกไซด์ทำหน้าที่เป็นกลไกป้องกันไม่ให้ง่ายเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยลดความดันโลหิต เพิ่มการไหลเวียนโลหิตไปเลี้ยงอวัยวะต่างๆ มากขึ้น โดยช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นในการขยายและหดตัวของหลอดเลือด ซึ่งกระบวนการนี้เป็นกลไกการป้องกันตามธรรมชาติ ที่ร่างกายสร้างขึ้นไม่ให้เข้าสู่ภาวะเส้นเลือดสมองแตก กล้ามเนื้อหัวใจทำงานผิดปกติจากการขาดเลือด โดยมีการศึกษาวิจัยพบว่าการรับประทานผักผลไม้สามารถที่มีสารพฤกษเคมีโดยเฉพาะโพลีฟีนอลสูงสามารถเพิ่มกิจกรรม endothelial nitric oxide synthase (eNOS) activity ในเซลล์ (Edirisinghe และคณะ, 2011) การวัดปริมาณไนตริกออกไซด์สามารถวัดได้จากปริมาณไนเตรทไนไตรท์ ซึ่งเป็นวิธีการวัดไนตริกออกไซด์ทางอ้อม (Alusik และคณะ, 2008)

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทไนไตรท์ในพลาสมาของอาสาสมัคร พบว่าปริมาณไนเตรทไนไตรท์ทั้งหมดก่อนเข้าร่วมโครงการ (baseline) กับก่อนการรับประทาน (Before) ของอาสาสมัครกลุ่ม low และ high intake มีค่าแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากจำนวนอาสาสมัคร 5 คนต่อกลุ่มนั้นน้อยเกินไป อีกทั้งค่าที่วิเคราะห์ได้ของแต่ละคนนั้นมีความแตกต่างค่อนข้างมาก ถึงแม้ว่าผู้วิจัยได้วิเคราะห์ค่าซ้ำหลายครั้ง โดยใช้ชุดทดสอบ Cayman's Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit จึงส่งผลให้ค่าปริมาณไนเตรทไนไตรท์

ในพลาสมาก่อนเข้าร่วมโครงการและก่อนการรับประทานแตกต่างกัน จึงทำให้เกิดข้อจำกัดในการอภิปรายผลการทดลองที่ได้ว่าการรับประทานสับปะรดสดมีผลต่อปริมาณไนเตรทไนไตรท์ในพลาสมาหรือไม่

ส่วนการวิเคราะห์ค่าไนไตรท์ในตัวอย่างพลาสมาของอาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าไม่สามารถวัดค่าได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณไนไตรท์ในพลาสมามีค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณของไนเตรท (Alusik และคณะ, 2008) ซึ่งผลการวิจัยสอดคล้องกับการศึกษาของ Vanhatalo และคณะ (2010) ที่ศึกษาผลของการดื่มน้ำบีทรูทจำนวน 500 มิลลิลิตรต่อวัน ที่มีปริมาณไนเตรท 340 มิลลิกรัม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรท์ และการศึกษาของ Bloomer และคณะ (2011) ที่ให้อาสาสมัครดื่มน้ำที่ผสมสารสกัด betaine จากบีทรูทจำนวน 2.5 กรัมต่อวัน นาน 14 วัน ซึ่งพบว่าปริมาณพลาสมาไนเตรทไนไตรท์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$)

ตารางที่ 4.9 ปริมาณไนเตรท/ไนไตรท์ในพลาสมาของอาสาสมัครก่อนเข้าร่วมโครงการ (Baseline) ก่อนรับประทานสับปะรด (Before) และหลังการรับประทานสับปะรด (After)

	อาสาสมัคร		
	Low intake group (<2 servings/d) (n=5)	Medium intake group (5 servings/d) (n=5)	High intake group (8 servings/d) (n=5)
Total nitrate-nitrite (μM)			
Baseline	15.25 $\pm$ 5.37 ^a	19.60 $\pm$ 1.19 ^a	15.89 $\pm$ 3.42 ^a
Before	5.27 $\pm$ 3.00 ^b	23.87 $\pm$ 5.98 ^a	8.93 $\pm$ 2.11 ^b
After	6.94 $\pm$ 1.50 ^b	16.39 $\pm$ 1.94 ^a	13.74 $\pm$ 4.47 ^{ab}
Nitrite (μM)			
Baseline	ND	ND	ND
Before	ND	ND	ND
After	ND	ND	ND

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM; ค่า a-b หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95; ND คือ Not Detect

4.11 การติดตามผลประจำเดือน

ดำเนินการติดตามผลประจำเดือนโดยวัดความดันโลหิต ชั่งน้ำหนัก และสัมภาษณ์อาสาสมัครที่ร่วมโครงการ จากการสัมภาษณ์พบว่าอาสาสมัครกลุ่มที่ต้องรับประทานสับปะรด ซึ่งได้แก่ กลุ่ม medium intake และกลุ่ม high intake มีระบบขับถ่ายดีขึ้น โดยสามารถขับถ่ายได้สะดวกทุกวัน เนื่องจากสับปะรดมีเส้นใย

อาหารในช่วยในการขับถ่าย อย่างไรก็ตามอาสาสมัครบางรายมีอาการบาดเจ็บที่ลิ้น เนื่องจากเอนไซม์และกรดใน
สับปะรด ผู้วิจัยจึงแนะนำให้อาสาสมัครแบ่งรับประทานสับปะรดทีละน้อยจนหมด ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการ
บาดเจ็บที่ลิ้นได้ นอกจากนี้จากการเก็บข้อมูลไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักและความดันโลหิตใน
อาสาสมัครทั้ง 3 กลุ่มตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง เปรียบเทียบกับ baseline

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของการบริโภคสับปะรดสดต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาในอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 15 คน ที่ถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 5 คน คือ กลุ่ม low, medium และ high intake ซึ่งอาสาสมัครกลุ่ม medium และ high intake รับประทานสับปะรดพันธุ์นางแลสดจำนวน 400 กรัม (5 ส่วน) และ 640 กรัม (8 ส่วน) ต่อวันตามลำดับ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยตัวอย่างสับปะรดมีปริมาณเบต้าแคโรทีน 8.13 ± 0.54 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด วิตามินซี 5.95 ± 0.39 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด และเส้นใยอาหาร 2.42 ± 0.14 กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด พบว่าปริมาณเบต้าแคโรทีนและปริมาณ hippuric acid ในพลาสมาของอาสาสมัครกลุ่ม high intake มีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากการรับประทานสับปะรดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของวิตามินอี ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (ค่า FRAP และ TEAC) กิจกรรมของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ (GPx และ SOD) ปริมาณน้ำตาลในเลือด ปริมาณไขมันรวม และการทำงานของตับและไตในพลาสมาของอาสาสมัครภายหลังการรับประทานสับปะรดเปรียบเทียบกับก่อนรับประทานในอาสาสมัครในกลุ่ม medium และ high intake เทียบกับกลุ่ม low intake ที่ไม่ได้รับประทานสับปะรดสด

5.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงผลของการรับประทานสับปะรดต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาในอาสาสมัครสุขภาพดี จำนวน 15 คน ซึ่งเมื่อแบ่งอาสาสมัครเป็น 3 กลุ่มแล้วจะมีจำนวนเพียง 5 คนต่อกลุ่ม ซึ่งไม่เพียงพอที่จะทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนสำหรับพารามิเตอร์บางค่า เนื่องจากการวิจัยในมนุษย์จะมีความแตกต่างของแต่ละบุคคลค่อนข้างมาก ซึ่งเป็นผลมาจากปัจจัยภายในที่เกี่ยวข้องกับบุคคลนั้นและผู้วิจัยอาจไม่สามารถควบคุมได้หลายประการ ดังนั้นจึงควรเพิ่มจำนวนอาสาสมัครให้มากขึ้นในการศึกษาครั้งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2553. คุณค่าทางโภชนาการในผลไม้. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 46 หน้า.
- น้อมจิตต์ แก้วไทย. การผลิตเอนไซม์เปอร็อกซิเดสจากผักบึงทะเลเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีสารประกอบฟีนอล. วารสารวิจัย. 79-92
- ปิยนันท์ เผ่าม่วง. ม.ป.ป. กินพืชผักผลไม้ให้เป็น. เข้าถึงจาก nutrition.anamai.moph.go.th/vegetable.doc วันที่สืบค้น 25 มกราคม 2558
- เอกนุช เซยสูงเนิน. 2557. อุณหภูมิเวลา ทานผลไม้หลังอาหาร. หนังสือพิมพ์เดลินิวส์. เข้าถึงจาก <http://www.dailynews.co.th/Content/Article/275402/> วันที่สืบค้น 25 มกราคม 2558
- Alimbetov, D., Jin, Y.N., George, T.W., Chong, M., Spencer, J.P.E., Gordon, M.H. and Lovegrove, J.A. 2011. Biomarkers of fruit and vegetable consumption: findings from the FLAVURS study. Proceedings of the Nutrition Society, 70(OCE4): E220.
- Alusik, S., Jedlickoba, V., Paluch, Z. and Zecova, S. 2008. Plasma levels of nitrate/nitrite and inflammation markers in elderly individuals. Bratisl Lek Listy, 109(7):289-292.
- Benetou, V., Orfanos, P., Lagiou, P., Trichopoulos, D., Boffetta, P. and Trichopoulos, A. 2008. Vegetables and fruits in relation to cancer risk: evidence from the Greek EPIC cohort study. Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, 17: 387-392.
- Bloomer, R.J., Farney, T.M., Trepanowski, J.F., McCarthy, C.G. and Canale, R.E. 2011. Effect of betaine supplementation on plasma nitrate/nitrite in exercise-trained men. Journal of the International Society of Sports Nutrition, 8:1-7.
- Buege, J.A. and Aust, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Method of Enzymology, 52: 302-310.
- Castell, J.V., Friedrich, G., Kuhn, C.S. and Poppe, G.E. 1997. Intestinal absorption of undegraded proteins in men: presence of bromelain in plasma after oral intake. American Journal of Physiology, 273:G139-G146
- Costantine, F.D., Abou-Khalil, J. and Baroody, G.M. 2005. Effect of acute and chronic grapefruit, orange, and pineapple juice intake on blood lipid profile in normolipidemic rat. Medical Science Monitor, 11(12):BR465-472.

- Dragsted, L.O., Pedersen, A., Hermetter, A., Basu, S., Hansen, M., Haren, G.R., Kall, M., Brienholt, V., Castenmiller, J.J.M., Stagstea, J., Jakobsen, J., Skibsted, L., Rasmussen, S.E., Loft, S. and Sandstorm, B. 2004. The 6-a-day study: effects of fruit and vegetables on markers of oxidative stress and antioxidative defense in healthy nonsmokers. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79:1060–1072.
- Edirisinghe, I., Banaszewski, K., Cappozzo, J. and McCarthy, D. 2011. Effect of black currant anthocyanins on the activation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) *in vitro* in human endothelial cells. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 59: 8616–8624.
- Felgines, C., Talavera, S., Gonthier, M.P., Texier, O. et al. 2003. Strawberry anthocyanins are recovered in urine as glucuroand sulfoconjugates in humans. *Journal of Nutrition*, 133:1296–1301.
- George, T.W., Waroonphan, S., Niwat, C., Gordon, M.H. and Lovegrove, J.A. 2012. The Glu298Asp single nucleotide polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene differentially affects the vascular response to acute consumption of fruit and vegetable puree based drinks. *Molecular Nutrition of Food Research*, 56:1014–1024.
- Gibson, A., Edgar, J.D., Neville, C.E., Gilchrist, S.E.C.M., McKinley, M.C., Patterson, C.C., Young, I.S. and Woodside, J.V. 2012. Effect of fruit and vegetable consumption on immune function in older people: a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96:1429–36.
- Grabovac, V., and A. Bernkop-Schnurch. 2006. Improvement of the intestinal membrane permeability of low molecular weight heparin by complexation with stem bromelain. *International J. of Pharmaceutics*. 326:153–159.
- Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., et al. 1982. Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N] nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, 126:131–138.
- Hale L.P. 2004. Proteolytic activity and immunogenicity of oral bromelain within the gastrointestinal tract of mice. *International Immunopharmacology*, 4:255–264.
- He, F.J., Nowson, C.A., Lucas, M. and MacGregor, G.A. 2007. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *Journal of Human and Hyper tension*, 21:717–728.
- Kay, C. D., Mazza, G., Holub, B.J., Wang, J. 2004. Anthocyanin metabolites in human urine and serum. *British Journal of Nutrition*, 91:933–942.

- Kongsuwan , Suthiluk P, Theppakorn T, Srilaong V & Setha S. 2009. Bioactive compounds and antioxidant capacities of phulae and nanglae pineapple. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2:44–50.
- Macready, A.L., George, T.W., Chong, M.F., Alimbetov, D.S., Jin, Y., Vidal, A., Spencer, J.P.E., Kennedy, O.B., Tuohy, K.M., Minihane, A.M., Gordon, M.H., and Lovegrove, J.A. 2014. Flavonoid-rich fruit and vegetables improve microvascular reactivity and inflammatory status in men at risk of cardiovascular disease—FLAVURS: a randomized controlled trial¹. *American Journal of Clinical Nutrition*, 99:479–89.
- Martínez-Tomás, R., Larqué, E., González-Silvera, D., Sánchez-Campillo, M, Burgos, M.I., Wellner, A., Parra, S., Bialek, L., Alminger, M. and Pérez-Llamaz, F. 2012. Effect of the consumption of fruit and vegetable soup with high in vitro carotenoid bioaccessibility on serum carotenoid concentrations and markers of oxidative stress in young men. *European Journal of Nutrition*, 51:231–239.
- Maurer, H.R. 2001. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58: 1234–1245.
- Mohsen, M.A.E., Marks, J., Kuhnle, G., Moore, K. et al. 2006. Absorption, tissue distribution and excretion of pelargonidin and its metabolites following oral administration to rats. *British Journal of Nutrition*, 95:51–58.
- Moncada, S. 1992. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiology Scandinavia*, 145: 201–227.
- Moreira, P. and Padrao, P. 2006. Educational, economic and dietary determinants of obesity in Portuguese adults: a cross-sectional study. *Eating Behavior*, 7:220–228.
- Nagalakshmi, N., Prasad, M.N. Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*. *Plant Sci.* 2001; 160: 291–299.
- Nathan, C. 1992. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB Journal*, 6:3051–3064.
- Niwat, C. 2009. Bioavailability and Nutritional Effects of Phytochemicals. PhD Thesis. University of Reading, UK.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biological Medicine*, 26: 1231–1237.

- Riso, P., Visioli, F., Erba, D., Testolin, G. and Porrini, M. 2004. Lycopene and vitamin C concentrations increase in plasma and lymphocytes after tomato intake. Effects on cellular antioxidant protection. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58: 1350–1358.
- Rodrigues, A.D., Scheffel, T.B., Scola, G., dos Santos, M.T., Fank, B., Dani, C., Vanderlinde, R., Henriques, J.A.P., Coitinho, A.S. and Salvador, M. 2013. Purple grape juices prevent pentylenetetrazol-induced oxidative damage in the liver and serum of Wistar rats. *Nutrition Research*, 33:120–125.
- Sauvaget, c., Nagano, J., Hayashi, M., Spencer, E., Shimizu, Y. and Allen, N. 2003. Vegetables and fruit intake and cancer mortality in the Hiroshima/Nagasaki life span study. *British Journal of Cancer*, 88:689–694.
- Taussig SJ & Batkin S. 1988. Bromelain, the enzyme complex of pineapple (*Ananas comosus*) and its clinical application. An update. *Journal of Ethnopharmacology*, 22(2):191–203.
- Thurnham, D.I., Smith, E. and Flora, P.S.1988. Concurrent liquid-chromatographic assay of retinol, α -tocopherol, β -carotene, α -carotene, lycopene, and β -cryptoxanthin in plasma, with tocopherol acetate as internal standard. *Clinical Chemistry*, 34, 377–381.
- Valles, D., S. Furtado and A.M.B. Cantera. 2007. Characterization of news proteolytic enzymes from ripe fruits of *Bromelia antiacantha* Bertol. (Bromeliaceae). *Enzyme and Microbial Technology*, 40(3):409–416.
- Vanhatalo, A., Bailey, S.J., Blackwell, J.R., Dimenna, F.J., Pavey, T.G., Wilkerson, D.P., Benjamin, N., Winyard, P.G. and Jones, A.M. 2010. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderated-intensity and incremental exercise. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 299(4):R1121–1131.
- Watzl, B., Kulling, S.E., Möseneder, J., Barth, S.W. and Bub, A. 2005. A 4-wk intervention with high intake of carotenoid-rich vegetables and fruits reduces plasma C-reactive protein in healthy, nonsmoking men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82:1052–8.
- Nims, R.W., Darbyshire, J.F., Saavedra, J.E., et al. 1995. Colorimetric methods for the determination of nitric oxide concentration in neutral aqueous solutions. *Methods*, 7:48–54.