รหัสโครงการ SUT3-305-55-12-25

รายงานการวิจัย

การสกัด ฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากหัวไชเท้า

(Extraction, Bioactivities, and Functional Properties of Thai Radish Extracts)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-305-55-12-25

รายงานการวิจัย

การสกัด ฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากหัวไชเท้า

(Extraction, Bioactivities, and Functional Properties of Thai Radish Extracts)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-305-55-12-25

รายงานการวิจัย

การสกัด ฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากหัวไชเท้า

(Extraction, Bioactivities, and Functional Properties of Thai Radish Extracts)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผศ.ดร.รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

รศ.ดร.อนามัย เทศจันทึก

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2555

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ตุลาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือ 3 และ 10 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีทุกท่านที่เสียสละเวลา ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยด้วยดีตลอดมา

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2555

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

หัวไชเท้าเป็นผักที่มีคุณค่าทางสารอาหารหลายอย่าง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหัวไชเท้า เพื่อเป็นองค์ความรู้ประกอบสำหรับการประยุกต์ใช้ในการศึกษาปริมาณการนำไปใช้ของสารสกัดหัวไชเท้าในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่ถูกต้องและเหมาะสม โดยได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของหัวไชเท้า ได้แก่ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดวิตามินซีจากหัวไชเท้าและการวิเคราะห์ปริมาณของ ascorbic acid ปริมาณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic) การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ การเป็นสารต้านจุลินทรีย์ และการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์ โดยใช้หัวไชเท้า 2 สายพันธุ์ 3 ตัวอย่าง Chinese Everest hybrid, Tainsan และ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic จากการศึกษาพบว่าสารสกัดน้ำที่สกัด 3 ครั้งจากเปลือกหัวไชเท้ามีปริมาณวิตามินซีสูงสุด คือ 50 mg/100 g of RM และสารสกัดแห้งจะมีปริมาณวิตามินซี 48 mg/100 g of RM สารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คือ 16.91±0.22 mg GAE /100 g of RM เมื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay พบว่า สารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในทั้งสามวิธี โดย DPPH assay ให้ค่า IC_{50}=35.72±12.85 mg/ml, FRAP assay ให้ค่า 0.0028±0.01 mmol Fe^{2+}/g RM และ ABTS assay ให้ค่า IC_{50}=165.49±2.06 mg/ml เมื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหัวไชเท้าด้วยวิธี Disk diffusion พบว่า หัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid และสายพันธุ์ Tainsan มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ได้ไม่แตกต่างกัน และเมื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์พบว่ายังไม่สามารถสรุปผลได้

คำสำคัญ: สารสกัดหัวไชเท้า, วิตามินซี, ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด, สารต้านอนุมูลอิสระ, สารต้านจุลินทรีย์, สารต้านการก่อกลายพันธุ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

Radishes are vegetable that have many nutrients. The objectives of study are investigated bioactivity of the extracts for useful information could be provide a better understanding of the determination of ascorbic acid, antioxidant properties, antimicrobial properties, and antimutagenic properties for further investigation and development into value- added food products and neutraceuticals. Radish in species of Chinese Everest hybrid, Tainsan and organic Chinese Everest hybrid were extracted. Ascorbic acid was evaluated by titrimetric method. Radish peel extracted by water three times showed the highest amount of vitamin C is 50 mg/100 g of RM and dry extract showed amount of vitamin C is 48 mg/100 g of RM. Total phenolic contents were evaluated by Folin-Ciocalteu method. Organic Chinese Everest hybrid extract showed the highest total phenolic content at 16.91±0.22 mg GAE /100 g of RM. Antioxidant activities of all extracts were evaluated by DPPH, FRAP and ABTS assays. It was found that organic Chinese Everest hybrid extract showed the highest antioxidant activity by DPPH assay at IC_{50} 35.72±12.85 mg/ml, FRAP assay at 0.0028±0.01 mmol Fe^{2+}/g RM and ABTS assay at IC_{50} 165.49±2.06 mg/ml. The antimicrobial activity was evaluated by agar disk diffusion method. Chinese Everest hybrid and Tainsan extracts were found to responses to microbial and both of extracts responses to microbial are not different. Antimutagenic activity was evaluated by Ames assay. Can't concluded.

Keywords: radish extracts, vitamin C, total phenolic, antioxidant activity, antimicrobial activity, antimutagenic activity

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	3
วิธีดำเนินการวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล	5
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	6
แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย	6
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
การเตรียมสารสกัดหัวไชเท้าสำหรับการวิเคราะห์วิตามินซี	15
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดวิตามินซีจากหัวไชเท้า และการวิเคราะห์ปริมาณของ ascorbic acid ในสารสกัดหัวไชเท้า	15
การเตรียมสารสกัดหัวไชเท้า	15
การวิเคราะห์ปริมาณของ Total Phenolic	15
การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ	16
การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านจุลินทรีย์	17
การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์	17
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	19
บทที่ 5 บทสรุป	25
บรรณานุกรม	26
ประวัติคณะผู้วิจัย	29

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 : ปริมาณวิตามินซีของสารสกัด (mg/100 g of RM) โดยวิธี Titrimetric Method 19

ตารางที่ 2 : ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหัวไชเท้า 20

ตารางที่ 3 : ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย 1,1-diphenyl-2-picrylhy-drazyl (DPPH), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay และ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ของสารสกัดหัวไชเท้า 20

ตารางที่ 4 : ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหัวไชเท้า โดยวิธี Disk diffusion 22

ตารางที่ 5 : การทดสอบ mutagen ของสารสกัดหัวไชเท้า 24

ตารางที่ 6 : การทดสอบ antimutagen ของสารสกัดหัวไชเท้า 24

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)	12
รูปที่ 2 ปฏิกิริยาของ FRAP assay	13
รูปที่ 3 สูตรโครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt	14

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพหรือส่วนประกอบในการเตรียมอาหารเสริมสุขภาพ ส่วนมากนำเข้าและขายโดยตรงต่อผู้บริโภค โดยอ้างว่ามีประโยชน์มากมายมหาศาล สามารถรักษาโรคได้หลายอย่าง ถ้าพิจารณาในแง่การป้องกันดูแลรักษาสุขภาพแบบองค์รวม ของเหล่านี้อาจช่วยส่งเสริมการสร้างภูมิคุ้มกัน ปรับสมดุลแก่ร่างกาย จึงมีผลให้สุขภาพดี

ขึ้น แต่บางชนิดอาจก่อให้เกิดอันตรายได้ เช่น ถ้าใช้ในขนาดสูง หรือในระยะเวลานาน อาจบดบังอาการของโรคที่เป็นอยู่ หรืออาจเป็นพิษเฉียบพลัน/ พิษเรื้อรังได้ ดังนั้น การใช้ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้จากผักธรรมชาติ และมีราคาถูก มีปริมาณมากในประเทศไทยจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจและเลี่ยงต่อความเสี่ยงต่อการเกิดผลข้างเคียงจากการบริโภคสารสังเคราะห์เป็นระยะเวลานานซึ่งจะส่งผลเสียต่อสุขภาพในระยะยาว

ความเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างโภชนาการ และสุขภาพ มีผลต่อการพัฒนาแนวความคิดของอาหารเชิงหน้าที่ (Functional Food) ซึ่งหมายถึงการปฏิบัติและการเข้าหาแบบใหม่ ๆ เพื่อที่จะได้รับภาวะสุขภาพที่แข็งแรงโดยสนับสนุนการกินดีอยู่ดีและลดภาวะความเสี่ยงต่อการเป็นโรค การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับอาหารเชิงหน้าที่ กับการป้องกันโรคเรื้อรังที่ไม่มีการติดต่อ ได้แก่โรคมะเร็ง ได้กระตุ้นความสนใจในสารพฤกษเคมีจากพืชในแง่ขององค์ประกอบที่เป็นสารออกฤทธิ์อาหารโดยเฉพาะการนำพืชผักพื้นบ้านมาบริโภคในแง่ของการรักษา ป้องกันโรคตามแนวปฏิบัติดั้งเดิม ในปัจจุบันความสนใจในด้านผลของอาหารต่อสุขภาพมีเพิ่มมากขึ้น แต่การนำสารสกัดจากพืชผักมาใช้บริโภคในปัจจุบันยังขาดองค์ความรู้ที่ถูกต้องในด้านของฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณสมบัติเชิงหน้าที่ รวมทั้งการนำสารสกัดจากผักมาประยุกต์ใช้ในอาหาร

ในปัจจุบันได้มีการส่งเสริมให้รับประทานวิตามินซีเป็นประจำทุกวัน เพื่อส่งเสริมสุขภาพโดยเฉพาะในด้านส่งเสริมภูมิคุ้มกันโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจซึ่งพบกันมากในประชาชนวัยเด็กวัยเรียนที่มีการติดต่อของโรคได้ง่าย การเตรียมสารสกัดอุดมด้วยวิตามินซีจากหัวไชเท้าซึ่งเป็นผักพื้นบ้านและมีปริมาณมากในท้องถิ่นจึงเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่ผักพื้นบ้านและมีผลสืบเนื่องส่งเสริมให้ใช้วัตถุดิบจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมากขึ้น การใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติเพื่อเติมในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจะมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้สารสังเคราะห์และหลีกเลี่ยงผลข้างเคียงจากการใช้สารสังเคราะห์ในระยะยาวที่อาจก่อให้เกิดตามมา นอกจากนี้การเติมวิตามินซีในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ

สามารถส่งเสริมการบริโภควิตามินซีได้ในรูปแบบของอาหารที่หลากหลายมากขึ้นและเป็นทางเลือกสำหรับการบริโภคได้

งานวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายที่จะศึกษากรรมวิธีกรรมวิธีการเตรียมสารสกัด ปริมาณและโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซีในสารสกัด ฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัด พร้อมทั้งการเตรียมสารสกัดผักผงเพื่อเป็นองค์ความรู้ประกอบสำหรับการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่ถูกต้องและเหมาะสม

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดวิตามินซีจากหัวไชเท้า
2. ศึกษาโครงสร้างทางเคมีและปริมาณของ ascorbic acid และ derivatives ในสารสกัดหัวไชเท้า
3. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหัวไชเท้า
   3.1 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ
   3.2 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านจุลินทรีย์
   3.3 ศึกษาการเป็นคุณสมบัติการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์
4. ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัด
5. เพื่อถ่ายทอดวิทยาการความรู้สู่ภาคเอกชนหรือผู้ที่สนใจทั่วไป

3. ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้แบ่งเป็น 3 ขั้นการทดลองได้แก่

3.1 การเตรียมสารสกัดหัวไชเท้า

3.2 ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหัวไชเท้า

   3.2.1 ศึกษาหาปริมาณ total ascorbic acid

   3.2.2 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

   3.2.3 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านจุลินทรีย์

   3.2.4 ศึกษาการเป็นคุณสมบัติการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์

3.3 ศึกษาโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซีที่เป็นส่วนประกอบของสารสกัดหัวไชเท้า

3.4 ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดหัวไชเท้า

   3.4.1 Solubility

   3.4.2 Water and fat absorption capacity

   3.4.3 Emulsion properties

   3.4.4 Foaming properties

4. ทฤษฎี สมมติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย (Conceptual Framework)

วิตามินซี (ascorbic acid)

วิตามินซีที่ป้องกันและรักษาโรคลักปิดลักเปิด (scurvy) ซึ่งเป็นโรคที่รู้จักมาแต่โบราณ พืชและสัตว์ต่าง ๆ สามารถสังเคราะห์วิตามินซีได้จากกลูโคส และโมโนแซกคาไรด์อื่น ๆ ยกเว้นสัตว์มีกระดูกสันหลัง เช่น คน ลิง หนูตะเภา นก และปลาบางชนิด เนื่องจากขาดน้ำย่อยที่ช่วยในการสร้างวิตามินซี ดังนั้น คนและสัตว์เหล่านี้จึงต้องได้รับวิตามินซีจากอาหาร

ประวัติโรคลักปิดลักเปิด (scurvy) เป็นที่รู้จักมานานสมัยอียิปต์

ค.ศ. 1744 ดร.เจมส์ ลินด์ (Dr.James Lind) ได้ทดลองรักษาลูกเรือ 6 ใน 12 คน ที่เป็นโรคลักปิดลักเปิด พบว่า ส้มและมะนาวสามารถรักษาโรคนี้

ค.ศ. 1932 ดร.คิงส์ (Dr.King) สามารถแยกสารชนิดหนึ่งจากน้ำมะนาว ซึ่งสามารถป้องกันและรักษาโรคลักปิดลักเปิด จึงได้ตั้งชื่อสารนี้ว่า กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ซึ่งเป็นคำย่อมาจาก แอนตี้ คอร์บิวติก แฟคเตอร์ (antiscorbutic factor)

คุณสมบัติ

เป็นผลึกสีขาว มีรสเปรี้ยว ถ้าละลายน้ำมีฤทธิ์เป็นกรด ถูกทำลายได้ง่ายโดยออกซิเน แสงสว่าง ด่าง ความร้อน

หน้าที่

1. สังเคราะห์ คอลลาเจน (collagen) ซึ่งเป็นโปรตีนที่จำเป็นสำหรับสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในผิวหนัง กระดูก เอ็นที่กระจายอยู่ทั่วไปในโครงสร้าง คอลลาเจนประกอบด้วยไฮดรอกซีโพรลีน ซึ่งได้จากการเปลี่ยนโพรลีน การขาดวิตามินซีจะทำให้ไม่มีการเปลี่ยนโพรลีนเป็นไฮดรอกซีโพรลิน ทำให้มีอาการของโรคลักปิดลักเปิด เกิดความผิดปกติของกระดูกและฟัน ถ้ามีบาดแผลจะทำให้บาดแผลหายช้า เพราะการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวกันที่แผลไม่ปกติ

2. ทำให้ผนังเส้นเลือดแข็งแรง การขาดวิตามินซีเป็นเหตุให้มีการเปราะแตกง่ายของผนังเส้นเลือด ทำให้เลือดออกง่าย

3. ช่วยต้านการติดเชื้อแบคทีเรียและลดการแพ้สารต่าง ๆ ของร่างกาย วิตามินซีช่วยรักษาผิวของเม็ดเลือดขาว ไม่ให้ถูกทำลาย จึงทำให้การเคลื่อนย้ายตัวของเม็ดเลือดขาวไปยังเชื้อโรคต่างๆ ได้รวดเร็ว นอกจากนี้วิตามินซียังช่วยเหลือการทำงานของน้ำย่อยขณะทำลายเชื้อโรคเหล่านั้นด้วย วิตามินซีช่วยลดการแพ้ต่าง ๆ รวมทั้งโรคภูมิแพ้ โดยยับยั้งสารที่เรียกว่าฮีสตามีน เป็นสารที่ร่างกายสร้างขึ้นถ้าถูกสร้างขึ้นมามาก

เกินไปจะทำให้เลือดซึมผ่านผนังเส้นเลือดฝอยออกมามาก ทำให้ผิวหนังบวมแดงมีอาการแดง มีอาการระคายเคืองตามระบบหายใจทำให้จามมีน้ำมูกไหล

4. ช่วยในการเมแทบอลิซึม ของกรดอมิโนบางตัว คือ เฟนิลอะลานีน ทริปโทเฟนและไทโรซีน

5. ช่วยเปลี่ยน กรดโฟลิค ให้เป็นกรดโฟลินิค ซึ่งช่วยป้องกันโรคโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่ (megaloblastic anemia) และมีบทบาทในแคลเซียมแทบอลิซึม

6. ช่วยในการเปลี่ยนทริปโทเฟน ไปเป็น เซโรโทนิน (serotonin) ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทฮอร์โมน มีหน้าที่ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ เพิ่มความดันโลหิต

7. ช่วยในการเปลี่ยนคอเลสเทอรอลไปเป็นกรดน้ำดี โดยทำหน้าที่เป็นสารเร่งปฏิกิริยาของน้ำย่อยคอเลสเทอรอล7 โมโนออกซีจีเนส ซึ่งเป็นน้ำย่อยที่ใช้เปลี่ยนคอเลสเทอรอลเป็นน้ำดี ทำให้ปริมาณคอเลสเทอรอลในเลือดลดน้อยลง จึงเท่ากับเป็นการลดการเสี่ยงต่อการเป็นโรคไขมันอุดตันในหลอดเลือดได้

8. เป็นสารต้านการออกซิไดส์ (antioxidant) ช่วยป้องกันสารอื่นไม่ให้ถูกออกซิไดส์ เช่น วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง กรดโฟลิค กรดแพนโทเธนิค วิตามินเอและวิตามินอี

9. ช่วยเพิ่มการดูดซึมของเหล็ก โดยจะเปลี่ยนเหล็กในอาหารซึ่งอยู่ในสภาพเฟอร์ริกไอออนให้เป็นเฟอร์รัส ไอออน และยังรวมกับเหล็กเป็นอณูเล็กทำให้ดูดซึมได้ดีขึ้น และช่วยทำให้ทรานเฟอร์ริน (transferrin) ปลดปล่อยเหล็กออกมาสู่กระแสโลหิตเพื่อนำไปใช้สร้าง เฟอร์ริทิน (ferritin)

10. ช่วยในการสังเคราะห์คาร์นิทีน (carnitine) จากไลซีน และเมทไธโอนีน ซึ่ง คาร์นิทีน นี้มีประโยชน์ในการเผาผลาญกรดไขมันเพื่อเกิดพลังงานแก่ร่างกายแบบ active transport

การดูดซึม

วิตามินซีจะถูกดูดซึมได้ง่ายที่ลำไส้เล็ก แล้วถูกนำไปยังเนื้อเยื่อและน้ำในส่วนต่าง ๆ ของร่างกายทางกระแสโลหิต จากการศึกษาพบว่าร้อยละ 80-90 ของวิตามินซีซึ่งมีอยู่ในอาหารจะถูกดูดซึม อาหารซึ่งมีเพคตินมากจะขัดขวางการดูดซึมของวิตามินซีในร่างกาย วิตามินซีจะอยู่ในสภาพกรดแอสคอร์บิก และกรดดีฮัยโดรแอสคอร์บิก ส่วนใหญ่จะในสภาพกรดแอสคอร์บิก เนื้อเยื่อที่มีเมแทบอลิซึมสูงจะมีวิตามินซีมาก เช่น ต่อมหมวกไต ตา สมอง เนื้อเยื่อที่มีวิตามินซีน้อย คือ เนื้อเยื่อไขมัน ผิวหนัง เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและกล้ามเนื้อ

ไตทำหน้าที่ควบคุมระดับของวิตามินซีในเลือด ถ้าร่างกายได้รับวิตามินซีมากจะทำให้เนื้อเยื่อต่าง ๆ มีวิตามินซีอิ่มตัว วิตามินซีส่วนที่มากเกินพอ ไตจะขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะในรูปกรดแอสคอร์บิกและในรูปเมแทบอไลต์ เช่น กรดออกซาลิค และแอสคอร์บิก ซัลเฟต

ความสามารถของร่างกายในการดูดซึมจะลดลงถ้าสูบบุหรี่ เครียด ไข้สูง การได้รับยาปฏิชีวนะมาก การสูดดม ดีดีที หรือกินยาแก้ปวด เช่น แอสไพริน

แหล่งของวิตามินซี

วิตามินซีมีมากในผักและผลไม้สด โดยเฉพาะพวกตระกูลส้ม เช่น ส้มเขียวหวาน มะนาว ใน 100 มิลลิลิตรของน้ำส้มคั้น น้ำมะนาว และน้ำสับปะรดมีวิตามินซีอยู่ 40 35 และ 10 มก. ตามลำดับ ส่วนฝรั่ง 100 กรัม มีวิตามินซีอยู่ 200 มก. อาหารจากสัตว์ที่มีวิตามินมากคือ ตับ ไข่ปลา ในน้ำนมมีน้อย (น้ำนมคนมีประมาณ 4.4 มก./100 มล.) น้ำนมวัวมีน้อยกว่าประมาณ 1.3 มก./100 มล.อาหารที่มีวิตามินซีน้อยมากหรือไม่มีเลย ได้แก่ เนื้อสัตว์ ไข่ ข้าว ขนมปัง ไขมัน

ผลไม้สำเร็จที่เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 อาทิตย์ มีวิตามินซีลดลงร้อยละ 3-14 การเขย่าขวดหรือกระป๋องบรรจุน้ำผลไม้ระหว่างการเก็บ จะเพิ่มอัตราการสลายตัวของวิตามิน เนื่องจากวิตามินซีเป็นวิตามินที่สลายตัวได้ง่าย เพื่อลดการสูญเสียวิตามินซีในน้ำผลไม้ประเภทนี้ ควรคั้นผลไม้ในเวลาสั้นที่สุดก่อนรับประทานอาหารควรแช่น้ำผลไม้ที่คั้นแล้วถ้ายังไม่บริโภค หลีกเลี่ยงการใช้ภาชนะอุปกรณ์ที่ทำด้วยโลหะ เช่น เหล็ก อย่ากวนหรือคนน้ำผลไม้มากเกินไปเพื่อป้องกันออกซิเจน ทำปฏิกิริยากับวิตามินซี

5. วิธีดำเนินการวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง / เก็บข้อมูล

1. เตรียมสารสกัดหัวไชเท้าสำหรับการวิเคราะห์วิตามินซี
2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดวิตามินซีจากหัวไชเท้า และการวิเคราะห์ปริมาณของ ascorbic acid ในสารสกัดหัวไชเท้า โดยใช้ AOAC's official titrimetric method (AOAC 1990)
3. เตรียมสารสกัดหัวไชเท้าตามวิธีของ Sreeramulu และคณะ (2010)
4. ศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหัวไชเท้า
   - 4.1 ศึกษาหาปริมาณ total phenolic โดยวิธี Folin-Ciocalteu method (Oonsivilai et al., 2007)
   - 4.2 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay, FRAP assay (Oonsivilai et al., 2008), และ Scarvenging ability of hydroxyl radical (Oonsivilai et al., 2007)
   - 4.3 ศึกษาหาคุณสมบัติการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) โดยวิธี agar disc diffusion and broth diffusion (ดัดแปลงจาก Lorian V., 1996)
     - 4.3.1 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimun inhibitory concentration: MIC)
     - 4.3.2 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimun bactericidal concentration: MBC)
5. ศึกษาการเป็นคุณสมบัติการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์ (Antimutagenic activity) โดยวิธี Ames assay (Ferruzzi et al., 2002)
6. ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดหัวไชเท้า

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. Solubility โดยใช้วิธีของ K.Y. Ee et al., 2009
2. Water and fat absorption capacity โดยใช้วิธีของ Yusuf et al., 2008.
3. Emulsion properties โดยใช้วิธีของ K.Y. Ee et al., 2009.
4. Foaming properties โดยใช้วิธีของ K.Y. Ee et al., 2009.

6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เช่น การเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

6.1 การเผยแพร่ผลงานในการประชุมวิชาการระดับชาติหรือนานาชาติหรือวารสารวิชาการระดับชาติหรือนานาชาติ

6.2 การจดสิทธิบัตรกระบวนการเตรียมอนุพันธุ์วิตามินซีจากหัวไชเท้า

7. แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยี หรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

การเผยแพร่องค์ความรู้เกี่ยวกับการประโยชน์ของหัวไชเท้าในด้านการเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเสริมภูมิคุ้มกันของร่างกาย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. วิตามินซี

วิตามินซีในอาหารมี 2 รูปแบบซึ่งร่างกายสามารถนำไปใช้ได้มี 2 ชนิด คือ Ascorbic acid และ Dehydroascorbic acid ซึ่ง Ascorbic acid มีผลึกสีขาวรสเปรี้ยว วิตามินซีเป็นวิตามินที่ละลายในน้ำได้ เมื่อละลายน้ำมีฤทธิ์เป็นกรด และเป็นวิตามินที่สลายตัวได้เร็วที่สุดในจำพวกวิตามินด้วยกันโดยเฉพาะอย่างยิ่งไวต่อออกซิเจนมาก สลายตัวง่ายเมื่อมีความร้อน โลหะหนัก และ Ascorbic oxidase enzyme ที่มีอยู่ในผลไม้ ประโยชน์ของวิตามินซีมีบทบาทกว้างขวางในหลายระบบได้แก่ Hydroxylation ของ Prolin เพื่อสร้าง Collagen ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ กระดูก กระดูกอ่อน ฟัน ฤทธิ์ฆ่าเชื้อของเม็ดเลือดขาว การ Reduce เหล็กจาก Ferric เป็น Ferrous ในกระเพาะอาหารช่วยเพิ่มการดูดซึมของเหล็ก Antioxidant เป็นต้นวิตามินซีมีมากในผักและผลไม้สด โดยเฉพาะพวกพืชตระกูลส้ม เช่น ส้มเขียวหวาน มะนาว การได้รับวิตามินซีจากธรรมชาติหรือในรูปเม็ดผลที่ได้รับไม่แตกต่างกัน มนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินซีจากกลูโคสได้ จึงต้องรับประทานอาหารที่มีวิตามินซีอยู่เสมอ เพื่อป้องกันการขาดแคลน ร่างกายต้องการวิตามินซีจากหลายภาวะ เช่น เครียด เป็นโรคติดเชื้อ ได้รับการผ่าตัดหรือมีบาดแผล กระดูกหัก ไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ในคนสูบบุหรี่ สตรีที่กินยาคุมกำเนิด ในปัจจุบันเชื่อว่าการรับประทานอาหารที่มีวิตามินซีอยู่ด้วย อาจมีส่วนป้องกันการเกิดโรคมะเร็งจากไนโตรซามีนได้ โดยที่วิตามินมีฤทธิ์ยับยั้งขบวนการสร้างไนโตรซามีน

2. หัวไชเท้า

หัวไชเท้ามีชื่อทางการว่า Radish และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Raphanus sativus Linn วงศ์ Cruciferae ไชเท้าเป็นพืชล้มลุก ลำต้นสูงประมาณ 20 – 100 เซนติเมตร หัวไชเท้าเป็นผักที่มีคุณค่าทางสารอาหารหลายอย่าง อาทิเช่น วิตามินซี กลูโคส ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และไนอะซิน ในตำราไทยกล่าวไว้ว่า น้ำคั้นจากหัว รับประทานเป็นยาบำรุงประสาท แก้อาการผิดปกติเกี่ยวกับหลอดลมและทรวงอก เนื่องจากหัวไชเท้ามีวิตามินซีสูงมากประมาณ 26 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ จึงช่วยป้องกันและรักษาโรคเลือดออกตามไรฟัน หรือโรคลักปิดลักเปิดได้ ส่วนตำรายาพื้นบ้านของอินเดียระบุไว้ว่ารับประทานหัวไชเท้าจะช่วยให้นอนหลับ และแก้โรคประสาทได้ ซึ่งก็เหมือนตำราไทย ส่วนในปัจจุบันนี้มีการศึกษาวิจัยพบว่า ในเมล็ดของหัวไชเท้ามีสารซัลโฟราฟีน (Sulphoraphene) ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียบาง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ชนิด เช่น Streptococcus และ Pneumococcus และมีสารราฟานิน (Raphanin) ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกและแกรมลบได้หลายชนิด ธิดารัตน์และคณะ (2549) ได้ศึกษาวิจัยและพัฒนาสารสกัดจากผักเพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์ช่วยให้ผิวขาวขึ้น พบว่าสูตรตำรับ Tissue Face Mask ที่ใช้สารสกัดหัวไชเท้า 25 % มีความคงสภาพมากที่สุดปัจจุบันได้มีการใช้ใบหัวไชเท้ามาเตรียมโปรตีน ทางการค้าโปรตีนจากใบของหัวไชเท้ามีคุณค่าทางอาหารและใช้เป็นอาหารเสริมเมื่อขาดโปรตีน

3. กรรมวิธีการสกัด ปริมาณ โครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของวิตามินซีในผักและผลไม้บางชนิด

Kusamran และคณะ (1998) ศึกษาแนวโน้มของฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์และมะเร็งของผักไทยบางชนิดโดยศึกษาในผักไทยที่นิยมบริโภคทั้งหมด 15 ชนิด พบว่าผลไม้ไทยที่มีรสขมยกเว้นใบโหระพาหวานมีฤทธิ์ยับยั้งการเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งของต่อมน้ำนมในหนูขาว และสัมพันธ์กับการศึกษาที่ผ่านมาที่ระบุวาผักไทยมีสารต้านการก่อกลายพันธุ์ของ indirect-acting mutagen โดยเฉพาะ AFB1 โดยมีกลไกในการยับยั้งฤทธิ์ของ metabolic-activating enzymes ใน rat liver homogenates

การศึกษาผลของการบริโภค radish (Raphinus savitus Linn.) ต่อสถานะของไทรอยด์ภายใต้เงื่อนไขการกินไอโอดีนของหนูในระดับต่างกัน พบว่าหลังจากการป้อน radish เป็นระยะเวลานาน จะเพิ่มน้ำหนักของต่อมไทรอยด์ ลดอาการที่สัมพันธ์กับภาวะ hypoactive thyroid gland เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมถึงแม้ว่าจะปรับการให้ไอโอดีนที่เหมาะสมแล้ว (Chandra, et al., 2006)

Taniguchi และ คณะ (2006) ศึกษาผลของการบริโภค japanese radish (Raphanus sativus) sprouts ต่อการลดลงของระดับน้ำตาลในเลือดในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน โดยทำการทดสอบสารสกัดที่ละลายในน้ำ(water-soluble extracts) และสารสกัดที่ละลายในไขมัน (fat-soluble extracts) และวัดระดับน้ำตาล insulin glycoalbumin fructosamine ketone bodies และไขมัน ใน serum หลังให้สารสกัดระยะเวลานาน 3 สัปดาห์ ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดที่ละลายในไขมันกดการหลั่งฮอร์โมน insulin และเพิ่มการเผาผลาญไขมันในหนูกลุ่มควบคุม แต่สารสกัดที่ละลายในน้ำสามารถลดปริมาณน้ำตาลในเลือดโดยปราศจากการเพิ่มการหลั่งฮอร์โมน insulinและยังลดปริมาณ glycoalbumin และ fructosamine ในเลือดของหนูที่เป็นโรคเบาหวาน จากงานวิจัยนี้สรุปได้ว่า สารสกัดที่ละลายในน้ำมีแนวโน้มเป็นส่วนประกอบในอาหารเชิงหน้าที่ในด้านผลการลดระดับน้ำตาลในเลือด (Taniguchi et al., 2006)

การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของอาหารอุดมไปด้วยผักและผลไม้กับการป้องกันโรคเรื้อรังที่ไม่มีการติดต่อ ได้แก่ โรคมะเร็ง ได้กระตุ้นความสนใจในวิตามินจากพืชในแง่ที่เป็นสารอาหารและสารออกฤทธิ์ในอาหาร ในกรณีนี้มีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนว่าวิตามินซีเป็นสารอาหารและสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อความสัมพันธ์นี้ได้แก่ การศึกษาเปรียบเทียบกรรมวิธีการสกัดและการวัดปริมาณของ ascorbic acid ในผล Dog Rose ที่สภาวะการสุก (maturity) ที่แตกต่างกัน โดยทำการเตรียมตัวอย่าง

สองวิธีคือการแช่เยือกแข็ง (Freezing) และการทำแห้งที่ระดับอุณหภูมิต่ำ (Mild –temperature-drying procedure) ที่สภาวะการสุกสามสภาวะคือผลสุกเต็มที่ (full ripe) ผลสุกปานกลาง (half-ripe) และผลไม่สุก (unripe) ผลการศึกษาพบว่า ผล dog rose ที่มีปริมาณ ascorbic acid สูงที่สุดคือผลที่อยู่ในสภาวะการสุกเต็มที่ และพบว่าความคงตัวของ ascorbic acid ในผล dog rose สูงกว่าในสารสกัดผล dog rose และเมื่อเปรียบเทียบกับผลส้ม พบว่าผล dog rose มีปริมาณ ascorbic acid สูงกว่าถึง 6 เท่า คือมีปริมาณ 417 mg per 100 g ในขณะที่ผลส้มมีปริมาณ ascorbic acid เท่ากับ 76 mg per 100 g (Nojavan et al., 2008).

การศึกษา antioxidant activity ของเปลือกผักโดยการเหนี่ยวนำ liver lipid oxidation พบว่าเปลือกหัวไชเท้า (Raphinus savitus) มีแนวโน้มที่จะต้าน liid peroxidation และมีความแตกต่างกันระหว่างชนิดของผักเนื่องจากปริมาณของ polyphenol และ flavonoids ในผัก (Dixit and Kar, 2009)

การศึกษาผลของ ascorbic acid ต่อการสูญเสียของสารประกอบ carotenoids และสีในผลิตภัณฑ์น้ำส้มแช่แข็ง (ultrafrozen orange juice) โดยทำการเติม ascorbic acid ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มแล้วศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการลดปริมาณลงของสาร carotenoids ในน้ำส้ม ซึ่งผลการศึกษาพบว่าการเติม ascorbic acid ในน้ำส้มมีผลต่อสาร carotenoids หลักคือ epoxycarotenoids และมีการลดปริมาณของสองสาร carotenoids หลักคือ (9Z)-vivoaxanthin และ (9'Z)-antheraxanthin เนื่องจากการการเกิด isomerization ของ acid-elicited 5,6-epoxide เป็น 5,8-furanoxide (Melendez-Martinez et al., 2009)

จากการศึกษาปริมาณของ ascorbic acid, quercitin, kaempferol, และ total phenolics ใน commercial broccoli จำนวน 80 ตัวอย่างในฤดูกาลต่าง ๆพบว่า ปริมาณของ ascorbic acid และ vitamin C แปผันระหว่าง 13.37 ถึง 110.30 และ 57.35 ถึง 131.35 mg/100g fresh weight (FW) ตามลำดับ ปริมาณ total phenolic แปรผันระหว่าง 48.15 ถึง 157.77 mg/100g FW. และมีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาสถิติของตัวอย่างจากต่างฤดูกาล และพบว่าปริมาณ total phenolic มีความสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณของ vitamin C, quercitin และ kaempferol. จากฐานข้อมูลของ USDA/ERS 2007 สำหรับปริมาณการบริโภคจากฐานการขาย ปริมาณ vitamin C ที่พร้อมบริโภครายวันจาก broccoli ประมาณที่ 8.99 mg ซึ่งเท่ากับ 15% ของ Reference Daily Intake (RDI) ปริมาณพร้อมบริโภครายวัน (daily availability) ของ quercitin, kaempferol, และ total phenolics จาก broccoli ประมาณที่ 0.23, 0.32 และ 5.50 mg ตามลำดับ (Koh et al., 2009).

Bergamot เป็นผลไม้ท้องถิ่นในประเทศอิตาลีและส่วนใหญ่ปลูกเพื่อเป็นวัตุดิบในการผลิตเป็น essential oils ซึ่งจะมีของเหลือทิ้งคือ bergamot juices ที่ก่อปัญหาในด้านสิ่งแวดล้อมและทางเศรษกิจแก่อุตสาหกรรม ดังนั้นจึงได้มีการศึกษานำ bergamot juices มาเติมในน้ำผลไม้ (apple และ apricot) เพื่อทดแทนการเติมสารสังเคราะห์คือ ascorbic acid และ acetic acid ในอัตราส่วน 10-20% ร่วมกับหรือเพื่อทดแทนสารสังเคราะห์ดังกล่าวที่โดยปกติมีการใช้กระบวนการทางอุตสาหกรรม แล้วทำการวัดปริมาณ

ascorbic acid และ antioxidant activity ระหว่างขั้นตอนกระบวนการผลิตและหลังจากการเก็บที่อุณหภูมิ 37°C เป็นระยะเวลานาน 15 วันเพื่อประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ Apricot และ apple juices ที่เติม bergamot juice แสดงคุณสมบัติของ antioxidant activity สูงขึ้นและมีการลดการสูญเสียปริมาณของ ascorbic acid หลังจากกระบวนการผลิต ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สนับสนุนสมมุติฐานที่ว่าการเติม bergamot juices ในน้ำผลไม้ช่วย preserve ปริมาณของ ascorbic acid จากการสูญเสียโดยความร้อนและเพิ่มคุณสมบัติของ antioxidant activity นอกจากนี้ได้มีการทำ consumer test ในเบื้องต้นซึ่งส่งเสริมการผลิตน้ำผลไม้เติม bergamot juices (Pernice et al., 2009)

การศึกษาคุณลักษณะและความเสถียรต่อความร้อนของ vitamin C ของ tamarillo fruit (Solanum betaceum Cav.) พบว่ามีการคงอยู่ของวิตามินซีหลังจากกระบวนการให้ความร้อนโดยการ Pasterization ของสภาวะ degasses tomato tree nectars ในขณะผลของปริมาณ dissolved oxygen เริ่มต้นไม่มีผลต่อการสูญเสียของ dehydroascorbic acid (Mertz et al., 2009)

4. สารประกอบฟีนอลในพืชและคุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน

คุณสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันของสารประกอบฟีนอลคือการเป็นสารต้านออกซิเดชัน และสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagrns) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radical) และการใช้สารประกอบฟีนอลในการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้ (Husain และคณะ 1989; Rice-Evans และคณะ 1997)

$$ROO^{\bullet} + PPH \longrightarrow ROOH + PP^{\bullet} \quad \text{---------- (1.1)}$$

$$RO^{\bullet} + PPH \longrightarrow ROH + PP^{\bullet} \quad \text{---------- (1.2)}$$

เมื่อ $ROO^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$ คือ free radicals, PPH คือ polyphenolic compound

เมื่อสารประกอบฟีนอลให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สารประกอบฟีนอลเหล่านั้นลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO^{\bullet} + PP^{\bullet} \longrightarrow ROOPP \quad \text{---------- (1.3)}$$

$$RO^{\bullet} + PP^{\bullet} \longrightarrow ROPP \quad \text{---------- (1.4)}$$

สารประกอบฟีนอลที่ถูกพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันนั้น สามารถพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด (ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย ข้าวและงา) ผล (ได้แก่ องุ่น ส้ม และพริกไทยดำ) ใบ (ได้แก่ ชา และเครื่องเทศต่าง ๆ) และส่วนอื่น ๆ (ได้แก่ มันเทศ และหัวหอม) และหนึ่ง

ในสารประกอบฟีนอลที่เป็นที่รู้จักกันดีก็คือ flavonoids (ได้แก่ flavones, flavonols, isoflavones, catechins, flavonones และ chalcones) และ cinnamic acid derivatives (caffeic acid, ferulic acid, chlorogenic acid และ อื่น ๆ) โดยสามารถพบได้ในเกือบทุกส่วนของพืชแต่จะมีความแตกต่างกันออกไปในด้านของชนิดและปริมาณ

5. อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ โมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมาก 10-13-10-10 วินาที จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยสามารถตรวจวัดด้วยเทคนิค electron spin resonance (ESR) โมเลกุลหรือไอออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ยกตัวอย่างเช่น superoxide anion radical ($O_2^{\bullet}$), hydroxyl radical ($HO^{\bullet}$) และ peroxide radical ($ROO^{\bullet}$) เป็นต้น (Punchard and Kelly,1996)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น แบ่งได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. **อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย** ซึ่งเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมตามปกติในร่างกาย หรือเกิดจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมา เพื่อสู้กับเชื้อโรคบางชนิด
2. **อนุมูลอิสระที่มาจากสิ่งแวดล้อมภายนอก** ซึ่งได้แก่ สารเคมีและสิ่งปนเปื้อนที่มากับอากาศที่เราหายใจเข้าไป สารเติมแต่งอาหาร สีผสมอาหาร สารเคมีปนเปื้อนในอาหาร สารกันบูด หรือสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการเกษตร ฯลฯ

จากที่กล่าวมาแล้วว่า อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกายเองและในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรคหรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกัน สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเองก็คือ ระบบต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ก็สามารถชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา แต่อย่างไรก็ตาม มีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบต้านอนุมูลอิสระจะจัดการได้จะเกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้นมา ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์สิ่งมีชีวิตและรุนแรงไปถึงการเกิดโรค

ด้วยเหตุนี้มนุษย์เราจึงจำเป็นต้องรับประทานอาหารที่เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ วิตามิน เอ วิตามิน ซี วิตามิน อี สารสกัดจากพืช

คุณสมบัติของสารประกอบฟีนอลทางเคมีที่ใช้มีความหมายว่า เป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระ (radical) ซึ่งนั่นคือ ความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล สำหรับ

สารประกอบฟีนอลสามารถนิยามความหมายของคำว่าสารต้านออกซิเดชันได้โดยอาศัยหลักพื้นฐาน 2 ข้อ ดังนี้คือ

1. ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ สารตั้งต้นก็จะสามารถถูกชะลอหรือสามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาได้
2. อนุมูลอิสระ (radical) ที่ถูกกำจัดออกไปแล้วจะต้องมีความเสถียร (stable)

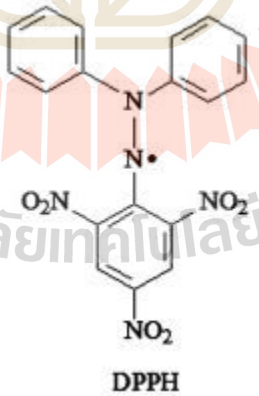
6. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลและตรวจสอบความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชัน

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณของอนุมูลอิสระ

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณของอนุมูลอิสระเป็นการความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันของโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว โดยวิธีที่นิยมใช้ ได้แก่ 2, 2-azobis (3-ethyl-benzothialzoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ the oxygen radical absorption capacity (ORAC) และอื่น ๆ ซึ่งมักนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันในผักและผลไม้ชนิดต่าง ๆ

6.1 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)

DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (รูปที่ 1) เป็น stable radical ในตัวทำละลาย methanol ซึ่งสารละลายนี้มีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 nm



DPPH

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical) (Osman, 2011)

โดย $DPPH^{\bullet}$ จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species ($R^{\bullet}$) ได้ดังสมการที่ (1.5) และ (1.6)

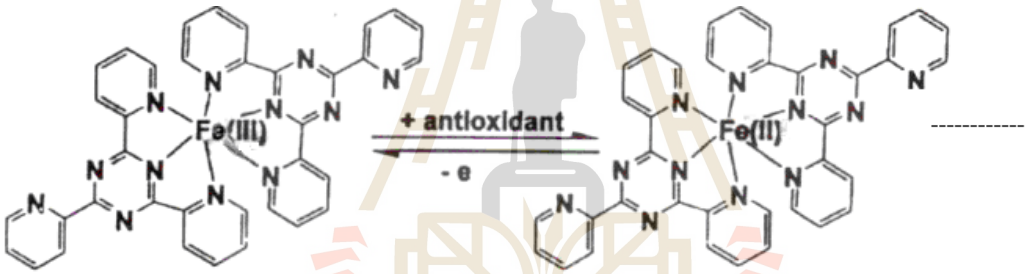
$$DPPH^{\square} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\square} \text{ ----------(1.5)}$$

$$DPPH^{\square} + R^{\square} \longrightarrow DPPH\text{-}R \text{ ----------(1.6)}$$

ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงก็จะลดลง ซึ่งจะรายงานผลการทดลองเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ $DPPH^{\square}$ เหลืออยู่ 50% (Brand- William et al., 1995 และ Gil et al., 2002)

6.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)

FRAP assay เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือ เมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe3+-TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันแล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe2+-TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ดังสมการ



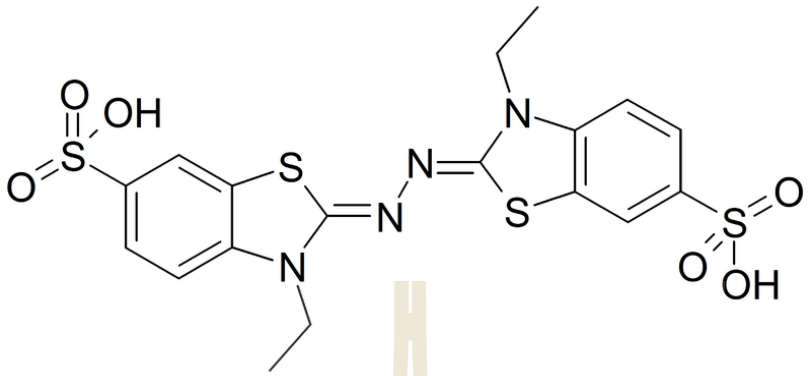
รูปที่ 2 ปฏิกิริยาของ FRAP assay

วิธี FRAP สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่า absorbance ที่ 595 nm จากนั้นศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันในสารตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ferrous sulfate แล้วรายงานเป็นค่า FRAP value ข้อดีของวิธีนี้ก็คือ เสียค่าใช้จ่ายน้อย สะดวก รวดเร็ว มีขั้นตอนในการทดลองไม่ยุ่งยากซับซ้อน และมี reproducibility ดี (Benzie and Strain, 1999; Guo et al., 2003; Jimenez-Escrig et al., 2001)

6.3 วิธี 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical -scavenging assay : (ABTS assay)

ABTS assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant capacity) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (รูปที่ 2) เป็น stable radical ใน aqueous solution สารละลายนี้มีสีเขียว ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น

734 nm รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt



รูปที่ 3 สูตรโครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt

การทำให้เกิด ABTS cation radical ทำได้หลายวิธี ดังนี้

1. ใช้ enzyme reaction คือ ใช้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิด ABTS cation radical เช่น peroxidase, myoglobin เป็นต้น
2. ใช้ chemical reaction โดยใช้สารเคมี เช่น manganese dioxide, potassium persulfate,2,2'-azo-bis-(2-amidinopropane)(ABAP) เป็นต้น

$$OH + ABTS \longrightarrow ABTS+ + H2O \text{ ----------(1.6)}$$

antioxidant (AH) จะทำปฏิกิริยากับ ABTS+ ดังนี้

$$ABTS+ AH \longrightarrow ABTS + A \text{ ---------- (1.7)}$$

มีผลให้ความเข้มของสารละลายสีเขียวลดลงด้วย โดยจะรายงานผลการทดลองเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ $ABTS^{+}$ เหลืออยู่ 50% หรือรายงานผลเป็น 50% inhibition concentration (IC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ ABTS+ ลดลง 50%

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดหัวไชเท้าสำหรับการวิเคราะห์วิตามินซี

นำหัวไชเท้ามาสับและบดให้ละเอียด โดยจะแยกส่วนของเนื้อและส่วนของเปลือก ชั่งตัวอย่างหนัก 1 กรัม ลงใน Test Tube Centrifuge เติมน้ำลงในตัวอย่าง (อัตรา 1:10) จากนั้นนำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 15 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 5 นาที ซึ่งตัวอย่างส่วนแรกจะสกัดเพียง 1 ซ้ำ ส่วนตัวอย่างส่วนที่สองจะสกัด 3 ซ้ำ โดยในขั้นตอนการสกัดสารสกัดจะต้องสัมผัสแสงให้น้อยที่สุดและเก็บตัวอย่างไว้ในอุณหภูมิที่เย็น แล้วนำตัวอย่างไปเก็บไว้ในห้อง Freeze (อุณหภูมิ -20 °C) แช่ตัวอย่างไว้ 1 คืน แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วนโดยส่วนที่ 1 เก็บไว้ที่ห้อง Freeze ส่วนที่ 2 นำเข้าเครื่อง Freeze Dry เพื่อทำให้สารสกัดเป็นผง

3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดวิตามินซีจากหัวไชเท้า และการวิเคราะห์ปริมาณของ ascorbic acid ในสารสกัดหัวไชเท้า

ไทเทรตสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายสี Indophenol จนกระทั่งได้สีชมพูคงที่นาน 15 วินาที (ควรทำการทดสอบเบื้องต้นโดยการไทเทรตอย่างรวดเร็วก่อนในครั้งแรกเพื่อทราบปริมาตรสารละลายสีที่ต้องใช้โดยประมาณ) คำนวณปริมาณ Ascorbic Acid ของตัวอย่างจากสูตร

Ascorbic Acid (mg/g or ml sample) =

(Factor × Vol. dye × Vol. sample made up) / (Vol. sample used × Wt or Vol. sample)

3.3 การเตรียมสารสกัดหัวไชเท้า

การเตรียมสารสกัดหัวไชเท้า ตามวิธีของ Sreeramulu และคณะ (2010) คือ นำหัวไชเท้า (ใช้หัวไชเท้า 3 ตัวอย่าง 2 สายพันธุ์ คือ Chinese Everest hybrid, Tainsan และ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic) ส่วนที่กินได้มาทำความสะอาดและสับ 5 กรัม ของตัวอย่างที่สับแล้วจะถูกสกัด 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องโดยเขย่าด้วย 20 มิลลิลิตรของเมทานอล 60% ที่ประกอบไปด้วย 0.1% HCl ต่อจากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 g 15 นาที 10 องศาเซลเซียส และกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman #1 นำส่วนที่กรองได้เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสจนนำมาวิเคราะห์

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณของ Total phenolic

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิเคราะห์ปริมาณ Total phenolic ในสารสกัดหัวไชเท้าโดยวิธี Folin Ciocalteu ตามวิธีการของ Oonsivilai et al. (2007) โดยปิเปตสารละลายตัวอย่าง ตัวอย่างละ 20 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมน้ำ DI 1.58 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex ทิ้งไว้ 5 นาที เติมโซเดียมคาร์บอเนต (20% w/v) 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วจึงเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Biochrom, Libra S22 S/N 97765, UK) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และหา Total Phenolic Compound โดยใช้ gallic acid เป็นมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์รายงานในรูปสมมูลของมิลลิกรัม gallic acid

3.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

3.5.1 วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity

วิเคราะห์ปริมาณของอนุมูลอิสระตามวิธีการของ Oonsivilai et al. (2008) โดยปิเปตสารละลายตัวอย่าง ตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย DPPH 1.90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex แล้วเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Biochrom, Libra S22 S/N 97765, UK) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และคำนวณหา % inhibition จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = (A_{blank} - A_{sample}/A_{blank}) \times 100$$

3.5.2 วิธี Ferric-reducing antioxidant power (FRAP)

วิเคราะห์ปริมาณของอนุมูลอิสระตามวิธีการของ Oonsivilai et al. (2008) โดยทำการเตรียมสารละลาย FRAP จากสารละลาย acetate buffer (pH 3.6), TPTZ 10 mM ใน HCl เข้มข้น 40 mM และสารละลาย ferrous chloride เข้มข้น 20 mM ในอัตราส่วน 10:1:1 (v/v) ตามลำดับ สารละลาย FRAP จะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้งาน และนำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาใช้

ในทดสอบด้วยวิธีนี้ จะใช้สารสกัดปริมาณ 50 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลาเวลา 4 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร โดยทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย ferric sulfate ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 100-2000 μM โดยทำการทดลองจำนวนสามซ้ำและหาค่าเฉลี่ย

3.5.3 วิธี 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

วิเคราะห์ปริมาณของอนุมูลอิสระตามวิธีการของ Oonsivilai et al. (2007) เตรียมสารละลาย $ABTS^{+}$ cation radical โดยการผสมสารละลาย ABTS 14 mM 5 ml และ 4.9 mM potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) 5 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ก่อนใช้นำสารละลาย

$ABTS^+$ มาเจือจางด้วยเอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.700 ± 0.020 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นปิเปตสารละลาย $ABTS^+$ 1,900 ไมโครลิตร ผสมกับสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน 100 ไมโครลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้ BHT เป็นชุดควบคุม จากนั้นคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (%) ตามสมการ

$$\text{Inhibition \%} = (A_{control}\text{-}A_{sample}/A_{control}) \times 100$$

3.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ (ดัดแปลงจาก Lorian V., 1996)

สายพันธุ์จุลินทรีย์

Bacillus cereus (TISTR687), Bacillus subtilis (TISTR008), Enterobacter aerogenes (bcc6719), Escherichia coli (TISTR3436), Pseudomonas aeruginosa (TISTR781) and Staphylococcus aureus (TISTR1466).

3.6.1 วิธี Disk diffusion

เจือจาง suspension ของเชื้อแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดลองด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ในหลอดทดลองปลอดเชื้อ เชื้อละ 1 หลอด ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland scale 0.5 ซึ่งจะได้ปริมาณเชื้อ 10^7-10^8 CFU/มิลลิลิตร โดยประมาณ จากนั้น spread suspension ของเชื้อลงบน MHA ใช้ปากคีบ (forceps) จุ่มแอลกอฮอล์แล้วผ่านไฟเพื่อฆ่าเชื้อ ทิ้งให้เย็น คีบแผ่น paper disk ปลอดเชื้อวางลงบน MHA ปิเปต 10 ไมโครลิตร ของสารสกัดหรือชุดควบคุมลงบน paper disk นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสารสกัดหัวไชเท้าที่ใช้คือ 12.5 g RM/ml ใช้ chloramphenicol (16.67 mg/ml) เป็น positive control

ตรวจผลการทดลอง โดยสังเกตการเกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้น (เป็นมิลลิเมตร) โดยวัดคร่อม paper disk 2 ครั้ง ทั้งแนวนอนและแนวตั้ง หาค่าเฉลี่ยและบันทึกผล

3.7 การวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์ (Antimutagenic activity) โดยวิธี Ames assay

นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวภาพในการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์ (antimutagenicity) โดยวิธี Salmonella test (Ames test) ตามวิธีการของ Oonsivilai และคณะ (2007) โดยใช้แบคทีเรีย Salmonella typhimurium สายพันธุ์ TA98 (Moltox; Boone, NC, USA) ซึ่งเป็นการทดสอบการกลายพันธุ์จากการเลื่อนของเบส (Frameshift mutation) ในจานหลุม 6 หลุม ที่มีอาหารวุ้น Vogel-Bonner minimal glucose agar (5mL) ต่อหลุมและอาหารวุ้น top agar (2%) ซึ่งได้มาจาก Moltox (Boone, NC, USA) นำเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างที่เพาะไว้ไปใส่ลงในอาหารเหลว Oxoid#2

nutrient broth ปริมาณ 10 mL แล้วเพาะไว้ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 6 ชั่วโมง จนกระทั่งได้ค่า optical density ที่ 600 nm เท่ากับ 0.8 แล้วทำการเตรียมสารกระตุ้นด้วยเอนไซม์แบบ Mammalian microsomal activation system (S-9 mix) โดยทำการเจือจางสาร Aroclor 1254 ที่ได้จากไมโครโซมของตับหนู (rat liver microsomes) (Moltox; Boone, NC, USA) ลงในสารละลาย 1.0 mol/L glucose-6-phosphate-NADP solution ที่ 4% (v/v), สารละลาย 2-AA stock solution (100 µg/mL) เตรียมในสาร dimethyl sulfoxide (DMSO) ในสภาวะปลอดเชื้อ จากนั้นนำสารสกัดหัวไชเท้ามาละลายในสาร DMSO แล้วกรองแบบปลอดเชื้อ ทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.40 mgGAE/mL แล้วทำการทดสอบการก่อกลายพันธุ์ (mutagenicity assay) โดยเตรียมสาร mammalian S9 activation system (S-9 mix) โดยการเจือจางสาร Aroclor 1254 ที่ได้จากไมโครโซมของตับหนู (Moltox; Boone, NC, USA) ด้วยสาร glucose-6-phosphate-NADP ที่ 4%

การทดสอบแบบ Microscreen ทำได้โดยนำสาร 2-AA (0.625 µg) ปริมาตร 25 µL, สาร S-9 mix ปริมาตร 100 µL, ปริมาตรเชื้อแบคทีเรียที่เพาะไว้ 25 µL และสารสกัดหัวไชเท้าหรือสาร DMSO ปริมาตร 25 µL ลงในขวด vial ขนาด 2 mL แล้วนำตัวอย่างที่ผ่านการเพาะไว้ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 20 นาที มาผสมกับอาหารวุ้น molten top agar ปริมาตร 500 µL ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปรินบนพื้นผิวของหลุม จากนั้นนำมาเพาะไว้ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 48 ชั่วโมง ทำการจำแนกชุดแผนการทดลองด้วยส่วนผสมของสารสกัดหัวไชเท้า โดยเทียบกับชุดก่อนหน้านี้ โดยส่วนผสมของสารสกัดหัวไชเท้าหลังถูกกระตุ้นด้วย 2-AA จะมีการเปลี่ยนแปลงไปทำให้เห็นความแตกต่างกันที่ไม่แน่นอนระหว่างการยับยั้งจากการกระตุ้นด้วย 2-AA หรือจากการเกิดผลิตภัณฑ์สุดท้ายจาก mutagenic metabolic ของ 2-AA จากนั้นทำการนับจำนวนโคโลนีที่สังเคราะห์ฮีสติดีน (his^+) ขึ้นและใช้ตัวควบคุมคือ DMSO โดยมีการเปลี่ยนแปลงไปตามธรรมชาติ แล้วแสดงผลเป็นค่าร้อยละของการยับยั้ง (% Inibition, PI หรือ % antimutagenicity) ซึ่งมีสูตรคำนวณดังนี้

$$PI = \frac{A-B}{A-C} \times 100$$

เมื่อ A คือ จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ในหลอดทดลองที่มีแต่สารก่อการกลายพันธุ์มาตรฐาน

B คือ จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ในหลอดทดลองที่มีสารสกัดหัวไชเท้ากับสารก่อการกลายพันธุ์มาตรฐาน

C คือ จำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่เกิดตามธรรมชาติ (จำนวนโคโลนีควบคุม)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดวิตามินซีจากหัวไชเท้า และการวิเคราะห์ปริมาณของ ascorbic acid ในสารสกัดหัวไชเท้า

ตารางที่ 1 : ปริมาณวิตามินซีของสารสกัด (mg/100 g of RM) โดยวิธี Titrimetric Method

ตัวอย่างสารสกัด	สารสกัดน้ำ (mg/100 g of RM)		สารสกัดแห้ง (mg/100 g of RM)	
	สกัดครั้งที่ 1	สกัดครั้งที่ 3	สกัดครั้งที่ 1	สกัดครั้งที่ 3
เนื้อหัวไชเท้า	28	44	26	41
เปลือกหัวไชเท้า	39	50	38	48

ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีของสารสกัด (mg/100 g of RM) โดยวิธี Titrimetric Method ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ในการเตรียมสารสกัดแบบน้ำและแบบแห้ง พบว่าสารสกัดจากหัวไชเท้ามีปริมาณวิตามินซีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณวิตามินซี พบว่าสารสกัดน้ำที่สกัด 3 ครั้ง จากเปลือกหัวไชเท้ามีปริมาณวิตามินซีไม่แตกต่างจากสารสกัดแห้งที่สกัด 3 ครั้ง โดยจะพบว่าสารสกัดน้ำจากเปลือกหัวไชเท้าที่การสกัด 3 ครั้ง จะมีปริมาณวิตามินซีสูงสุด คือ 50 mg/100 g of RM และสารสกัดแห้งจะมีปริมาณวิตามินซี 48 mg/100 g of RM เนื่องจากว่าสารสกัดน้ำเป็นสารสกัดเริ่มต้น ไม่ผ่านกระบวนการอื่น จึงทำให้มีวิตามินซีมากกว่าสารสกัดแบบแห้ง แต่สารสกัดแบบแห้งจะง่ายต่อการเก็บรักษามากกว่าสารสกัดน้ำ เนื่องจากสารสกัดน้ำจะถูก Oxidize ได้ง่ายกว่า ในขั้นตอนการสกัด พบว่า ในการสกัดที่ 3 ครั้ง จะมีปริมาณวิตามินซีมากกว่าการสกัด 1 ครั้ง เนื่องจากการสกัดที่ 3 ครั้ง จะเพิ่มระยะเวลาในการสกัดทำให้ตัวทำละลายมีระยะเวลาสัมผัสกับสารตั้งต้นได้มากกว่าการสกัด 1 ครั้ง ผลจากการเปรียบเทียบปริมาณวิตามินซี พบว่า เปลือกหัวไชเท้ามีปริมาณวิตามินซีอยู่มากกว่าส่วนเนื้ออยู่ประมาณ 10 % ซึ่งเราสามารถนำสารสกัดจากเปลือกหัวไชเท้าซึ่งเป็นส่วนที่เหลือใช้มาเติมลงในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการวิตามินซีได้และเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่ผักพื้นบ้าน ดังนั้นในขั้นตอนการสกัดต้องทำในที่มืดเพื่อให้ตัวอย่างสัมผัสแสงน้อยที่สุดเพราะวิตามินสามารถถูก ออกซิไดซ์ได้จากสิ่ง

กระตุ้นภายนอก เช่น แสง และควรเก็บตัวอย่างไว้ในที่เย็นและที่มืดเพื่อรักษาปริมาณวิตามินซีไม่ให้สลายตัวได้เร็ว

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหัวไชเท้า

ตารางที่ 2 : ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหัวไชเท้า

Total phenolics (mg GAE /100 g of RM)		
Chinese Everest hybrid	**Tainsan**	**organic Chinese Everest hybrid**
4.81±0.00[a]	8.25±0.00[b]	16.91±0.22[c]

Note: Each value is mean ± SD

[a, b, c] Data within the same row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหัวไชเท้า วิเคราะห์โดยการใช้ Folin-Ciocalteu reagent โดยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 ซึ่งจากการทดลองได้ใช้หัวไชเท้า 3 ตัวอย่าง 2 สายพันธุ์ คือ Chinese Everest hybrid, Tainsan และ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic พบว่าตัวอย่างสารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คือ 16.91±0.22 mg GAE /100 g of RM ตามด้วย สารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Tainsan (8.25±0.00 mg GAE /100 g of RM) และ Chinese Everest hybrid (4.81±0.00 mg GAE /100 g of RM) ตามลำดับ

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหัวไชเท้า

ตารางที่ 3 : ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย 1,1-diphenyl-2-picrylhy-drazyl (DPPH), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay และ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ของสารสกัดหัวไชเท้า

Types	**DPPH** IC_{50} **(mg /ml)**	**FRAP (mmol Fe^{2+}/ g RM)**	**ABTS** IC_{50} **(mg /ml)**
Chinese Everest hybrid	241.47±2.09[b]	0.0019±0.00[a]	237.99±3.04[c]
Tainsan	237.83±0.13[b]	0.0020±0.01[a]	218.41±1.07[b]
organic Chinese Everest hybrid	35.72±12.85[a]	0.0028±0.01[b]	165.49±2.06[a]
BHT	0.18±0.00	2.6159±0.02	0.0891±0.00

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Ascorbic acid	0.06±0.00		

Note: Each value is mean ± SD

[a, b, c] Data within the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย 1,1-diphenyl-2-picrylhy-drazyl (DPPH), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay และ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzo thiazoline-6-sulfonic acid) ของสารสกัดหัวไชเท้า ได้ทดลองโดยใช้หัวไชเท้า 3 ตัวอย่าง 2 สายพันธุ์ คือ Chinese Everest hybrid, Tainsan และ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic

3.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย 1,1-diphenyl-2-picrylhy-drazyl (DPPH)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย 1,1-diphenyl-2-picrylhy-drazyl (DPPH) เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรที่อยู่ในสารละลาย โดย DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ เมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้เปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ

ในการศึกษาได้วิเคราะห์ความสามารถของสารสกัดในการทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50% (IC_{50}) โดยใช้ BHT และ Ascorbic acid เป็นตัวควบคุมได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 โดยพบว่าสารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (35.72±12.85 mg/ml) ตามด้วย สารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Tainsan (237.83±0.13 mg/ml) และ Chinese Everest hybrid (241.47±2.09 mg/ml) ตามลำดับ

3.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay เป็นการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดซึ่งเกิดจากการรีดิวซ์ โดยใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอริค Fe^{3+} กับ TPTZ (ferric tripyridyltriazine) ได้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส Fe^{2+} กับ TPTZ ซึ่งมีสีน้ำเงิน และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

ในการศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี FRAP ผลการศึกษาได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 โดยสารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (0.0028±0.01 mmol Fe^{2+}/g RM) ตามด้วย สารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Tainsan (0.0020±0.01 mmol Fe^{2+}/g RM) และ Chinese Everest hybrid (0.0019±0.00 mmol Fe^{2+}/g RM) ตามลำดับ

3.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzo

thiazoline-6-sulfonic acid)

เป็นการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด โดย ABTS จะถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระด้วยการเติมโซเดียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

ในการศึกษาได้วิเคราะห์ความสามารถของสารสกัดโดยใช้ BHT เป็นตัวควบคุม ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 โดยพบว่า สารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (IC_{50}=165.49±2.06 mg/ml) ตามด้วย สารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Tainsan (IC_{50}=218.41±1.07 mg/ml) และ Chinese Everest hybrid (IC_{50}=237.99±3.04 mg/ml) ตามลำดับ

จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหัวไชเท้า ด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay พบว่า หัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด หากเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคือ BHT และ Ascorbic acid พบว่าสารสกัดหัวไชเท้าทั้งสามตัวอย่างมีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารมาตรฐาน และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจะสอดคล้องกับปริมาณของ Total phenolic ที่มีในตัวอย่าง หากสารสกัดใดมีปริมาณของ Total phenolic มากจะมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกกับความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของ Jacobo- Velazquez และคณะ(2009)

4. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหัวไชเท้า

ตารางที่ 4 : ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหัวไชเท้า โดยวิธี Disk diffusion

Strains	Inhibition zone (mm)		
	Chinese Everest hybrid (12.5 g RM/ml)	**Tainsan (12.5 g RM/ml)**	**Chloramphenicol (16.67 mg/ml)**
Bacillus cereus	9.93±1.01$^{a, ns}$	10.08±0.80$^{a, ns}$	25.87±0.82^{b}
Bacillus subtilis	9.33±0.76$^{a, ns}$	9.00±0.50$^{a, ns}$	14.83±0.41^{b}
Enterobacter aerogenes	11.33±0.29$^{a, ns}$	11.33±2.08$^{a, ns}$	30.08±2.67^{b}
Escherichia coli	10.50±1.32$^{a, ns}$	10.10±1.15$^{a, ns}$	13.33±1.37^{b}
Pseudomonas aeruginosa	11.60±0.69$^{a, ns}$	10.33±0.58$^{a, ns}$	30.25±1.21^{b}
Staphylococcus aureus	10.67±0.76$^{a, ns}$	10.83±0.58$^{a, ns}$	33.92±2.56^{b}

Note: Each value is mean ± SD

[a,b] Data within the same row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

[ns] Means not significant.

จากการศึกษาความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหัวไชเท้า ด้วยวิธี Disk diffusion ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 ได้ทดลองโดยใช้หัวไชเท้า 2 ตัวอย่าง 2 สายพันธุ์ คือ Chinese Everest hybrid และ Tainsan พบว่า หัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid และสายพันธุ์ Tainsan มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ได้ โดยผลการศึกษาของทั้งสองสายพันธุ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หากเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคือ Chloramphenicol พบว่าสารสกัดหัวไชเท้าทั้งสองสายพันธุ์มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารมาตรฐาน

5. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านการก่อกลายพันธุ์ (Antimutagenic activity)

การทดสอบของ Ames เป็นการทดสอบการก่อกลายพันธุ์แบบย้อนกลับ (backward or reverse mutation) ในแบคทีเรีย Salmonella typhimurium เพราะว่าแบคทีเรียที่นำมาใช้ถูกทำให้กลายพันธุ์ไปจนไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนฮีสทีดีนได้ แบคทีเรียจะไม่เจริญในตัวกลางที่ขาดกรดอะมิโนฮีสทีดีน สารที่นำมาทดสอบสามารถทำให้แบคทีเรียกลายพันธุ์ไปสร้างกรดอะมิโนฮีสทีดีนได้อีกครั้งหนึ่ง การกลายพันธุ์ครั้งที่สองนี้จึงเป็นการย้อนกลับของการกลายพันธุ์ครั้งแรก แบคทีเรียที่เป็นเครื่องมือในการทดสอบนี้ นอกจากต้องอาศัยกรดอะมิโนฮีสทีดีนแล้วยังมีคุณสมบัติอื่น ๆ ที่ทำให้แบคทีเรียมีความไวต่อการเกิดกลายพันธุ์ได้แก่ rfa mutation คือ การทำให้แบคทีเรียขาดสารไลโปโพลี่แซคคาไรด์ที่เคลือบบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้สารกลายพันธุ์ที่มีโมเลกุลใหญ่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปในตัวแบคทีเรียได้, uvrB mutation คือ การทำให้แบคทีเรียขาดระบบซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ผิดปกติ (loss of DNA excision repairing system) ดังนั้นเมื่อมีดีเอ็นเอกลายพันธุ์เกิดขึ้น จะไม่ถูกซ่อมแซมให้ดีเหมือนเดิมทำให้ดีเอ็นเอผิดปกตินี้ถูกนำไปถ่ายทอดได้ และสุดท้าย R factor คือ การเติมพลาสมิด ชนิด pKM 101 หรือ pAQ1 เข้าไปในแบคทีเรียเพื่อช่วยให้แบคทีเรียมีความไวต่อการถูกเปลี่ยนแปลงโดยสารก่อกลายพันธุ์ได้มากขึ้น

จากการศึกษาความสามารถในการต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดหัวไชเท้า ด้วยวิธี Ames ได้แสดงผลการทดสอบ mutagen และ antimutagen ดังในตารางที่ 5 และ 6 โดยพบว่า ในส่วนของการทดสอบ mutagen นั้น มีการเจริญของเชื้อที่มากเกินไป ซึ่งตามหลักการแล้วในส่วนนี้จะมีการเจริญของเชื้อน้อยมาก และในส่วนของการทดสอบ antimutagen ถึงแม้จะมีการเจริญเติบโตของเชื้อตามหลักการที่ว่าเมื่อตัวอย่างมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เชื้อจะมีการเจริญน้อยลงก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาจำนวนเชื้อของ blank พบว่ามีจำนวนมากเกินไป ไม่เป็นไปตามหลักการ ทำให้ไม่สามารถนำมาคำนวณเป็น %inhibition

ได้ ซึ่งจำนวนเชื้อของ blank ควรจะมีจำนวนน้อย หากมีจำนวนมาก อาจเกิดจากการ reverse กลับเองของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งไม่น่าจะเป็นไปได้เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการทดสอบ ได้ผ่านการตรวจสอบคุณสมบัติเป็นที่เรียบร้อยแล้วว่ามีคุณสมบัติถูกต้องตามหลักการและสามารถนำมาใช้ในการทดลองได้ โดยได้ทดสอบคุณสมบัติหลายวิธีด้วยกัน ไม่ว่าจะเป็นการตรวจ histidine requirement, การตรวจ rfa mutation และการตรวจ R-factor จึงทำให้ไม่สามารถสรุปได้ว่าผลการทดสอบนี้เกิดจากสาเหตุใด อาจจะต้องเปลี่ยนวิธีการทดลองใหม่หรือเชื้อแบคทีเรียใหม่ในการทดสอบ

ตารางที่ 5 : การทดสอบ mutagen ของสารสกัดหัวไชเท้า

Mutagen ames assay						
Concentrations of Tainsan (mgGAE/ml)	**TA98 (colonies/plate)**			**Mean**	**SD**	**Corrected with DMSO**
	1	**2**	**3**			
Blank	>200	>200	>200	*	*	*
0.031	38	63	4	35.00	29.61	*
0.062	34	26	21	27.00	6.56	*
0.125	24	22	24	23.33	1.15	*
0.250	23	44	35	34.00	10.54	*
0.500	10	>200	>200	10.00	*	*

Note: Each value is mean ± SD

* Means can't calculate.

ตารางที่ 6 : การทดสอบ antimutagen ของสารสกัดหัวไชเท้า

Anti-mutagen assay							
Concentrations of Tainsan (mgGAE/ml)	**TA98 (colonies/plate)**			**Mean**	**SD**	**Corrected with DMSO**	**%Inhibition**
	1	**2**	**3**				
Blank	>200	>200	>200	*	*	*	*
0.031	73	2	>200	37.50	50.20	*	*
0.062	22	5	7	11.33	9.29	*	*
0.125	5	11	6	7.33	3.21	*	*
0.250	6	8	9	7.67	1.53	*	*
0.500	8	7	5	6.67	1.53	*	*
2-AA (3 ug/25ul)	>200	>200	>200	*	*	*	

Note: Each value is mean ± SD

* Means can't calculate.

บทที่ 5
บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดวิตามินซีจากหัวไชเท้า และการวิเคราะห์ปริมาณของ ascorbic acid ในสารสกัดหัวไชเท้า ด้วยวิธี titrimetric method โดยเตรียมสารสกัดแบบน้ำและแบบแห้ง ใช้ตัวอย่างจากเปลือกหัวไชเท้าและเนื้อหัวไชเท้า พบว่า สารสกัดน้ำที่สกัด 3 ครั้งจากเปลือกหัวไชเท้ามีปริมาณวิตามินซีสูงสุด คือ 50 mg/100 g of RM และสารสกัดแห้งจะมีปริมาณวิตามินซี 48 mg/100 g of RM และจากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหัวไชเท้าในด้านการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ, การเป็นสารต้านจุลินทรีย์ และการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์ โดยเตรียมสารสกัดด้วยเมทานอล 60% ที่ประกอบไปด้วย 0.1% HCl สำหรับการศึกษาปริมาณฟีนอลิกและการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ใช้หัวไชเท้า 3 ตัวอย่าง 2 สายพันธุ์ คือ Chinese Everest hybrid, Tainsan และ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คือ 16.91±0.22 mg GAE /100 g of RM เมื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS assay พบว่า สารสกัดหัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid ที่ปลูกแบบ organic มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในทั้งสามวิธี โดย DPPH assay ให้ค่า IC_{50}=35.72±12.85 mg/ml, FRAP assay ให้ค่า 0.0028±0.01 mmol Fe^{2+}/g RM และ ABTS assay ให้ค่า IC_{50}=165.49±2.06 mg/ml และเมื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหัวไชเท้าด้วยวิธี Disk diffusion ได้ใช้หัวไชเท้า 2 สายพันธุ์ คือ Chinese Everest hybrid และ Tainsan พบว่า หัวไชเท้าสายพันธุ์ Chinese Everest hybrid และสายพันธุ์ Tainsan มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ได้ โดยผลการศึกษาของทั้งสองสายพันธุ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาการเป็นสารต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดหัวไชเท้า พบว่ายังไม่สามารถสรุปผลได้

บรรณานุกรม

กนกอร อินทราพิเชฐ. 2549. คู่มือปฏิบัติการการวิเคราะห์อาหาร. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ธิดารัตน์ไพโรจน์อมรชัยและคณะ. 2549. การวิจัยและพัฒนาสารสกัดจากผักเพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์ช่วยให้ผิวขาวขึ้น. ได้จาก http://library.car.chula.ac.th:82/search ได้จาก http://pcog.pharmacy.psu.ac.th/thi/Article/2547/01-47/foodmed2.pdf

Adrian A. Franke et al. 2003. Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed. **Food Composition and Analysis.** Available : www.sciencedirect.com

Bae, S., and Suh, H. 2007. Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. **LWT - Food Science and Technology**. 40 (6): 955 - 962.

Chandra, A. K., Mukhopadhyay, S. Ghosh, D., Tripathy, S. 2006. Efect of radish (Raphinus savitus Linn.) on thyroid status under conditions of varying iodine intake in rats. **Indian journal of experimental biology.** 44(8): 653 - 661.

Dixit, Y. and Kar, A. 2009. Antioxidant activity of some vegetable peels determined in vitro by inducing liver lipid peroxidation. **Food Reserch International**. Doi:10.1016/j.foodres.2009.06.011.

Ee, K.Y., Rehman, A., Agboola, S., and Zhao, J. 2009. Influence of heat processing on functional properties of Australian wattle seed (Acacia victoriae Bentham) extracts. **Food Hydrocolloids**. 23: 116 – 124.

Fabri, R.L., Noguerira, M.S., Braga, F.G., Coimbra, E. S., and Scio, E. 2009. Mitracarpus frigidus aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. **BioresourceTechnology**. 100: 428 – 433.

Koh, E., Wimalasiri, K. M. S., Chassy, A. W., and Mitchell, A. E. 2009.Content of ascorbic acid, quercitin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. **Journal of Food Composition and Analysis**. Doi: 10.1016/j.jfca.2009.01.019.

Kusamran, W. R., Tepsuwan, A., and Kupradinun, P. 1998. Antimutagenic and anticarcinogenic potentials of some Thai vegetables. **Mutation Research.** 402: 247 – 258.

Lennette, T. H. , Barilows, A. , Hausler, W. J. , and Shadonay, H. J. 1991. **Manual of Clinical Microbiology (5th ed).** Washington, DC: American Society for Microbiology.

Lorian, V. (1996). **Chapter 1: Disk Susceptibility Test.** In Antibiotics in laboratory medicine 4th ed. pp. 14-32. New York: Maple Press.

Martinez, A.J., Vicario, I. M., and Heredia, f. J. 2009.Effect of ascorbic acid on deterioration of carotenoids and color in ultrafrozen orange juice. **Journal of Food Composition and Analysis.** 22: 295 – 302.

Mertz, C., Brat, P., Caris-Veyrat, C., and Gunata, Z. 2009. Characterization and thermal lability of carotenoids and vitamin C of tamarillo fruit (Solanum betaceum Cav.). **Food Chemistry**.doi: 10.1016/j.foodchem.2009.07.009.

Netzel, M., Netzel, G., Kammerer, D.K., Schiebe, A., Carle, R., Simons, L., Bitsch, I., Bitsch, R., and Konczak, I. 2007. Cancer cell antiproliferation activity and metabolism of black carrot anthocyanins. **Innovative Food Science & Emerging Technologies.** 8(3): 365-372Melendez-

Nojavan S., Khslilian, F., Kiaie, F. M., Rahimi, A., Arabanian, A., and Chalavi, S. 2008. Extraction and quantitative determination of ascorbic acid during different maturity stages of Rosa canina L. fruit. **Journal of Food Composition and Analysis** 21: 300 – 305.

Oonsivilai, R., Cheng, C., Ningsanond, S., Bomser, J.A. and Ferruzzi, M.G. 2006. Induction of quinone reductase activity in murine hepatoma cells by extracts of Thunbergia Laurifolia Lindl. Presented at EB 2006. Moscone Convention Center, April 1-5, San Francisco, CA.

Oonsivilai, R. , Cheng, C. , Bomser, J. A. , Ferruzzi, M. G. , and Ningsanond, S. 2007. Phytochemical profiling and detoxification properties of Thunbergia Laurifolia Lindl (Rang Chuet) extracts. **Journal of Ethnopharmacology.** 114: 300 – 306.

Oonsivilai, R., Ferruzzi, M.G. and Ningsanond, S. 2008. Antioxidant activity and cytotoxicity of Rang Chute (Thunbergia laurifolia Linn.) extracts. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**. 1(2): 116-128.

Osman, A. M. 2011. Multiple pathways of the reaction of 2,2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl radical (DPPH□) with (+) - catechin: Evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH□ and the oxidized form of the polyphenol. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 412: 473-478

Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., and O'Brien, C. 2007. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content maturity and variety of Vaccinium species, Journal of Agricultural and Food Chemistry 46**:** 2686 – 2693. Pernice, R., Borriello, G., Ferracane, R., Borrelli, R. C., Cennamo, F., and Ritieni, A. 2009. Bergamot: A sorce of natural antioxidants for functionalized fruit juices. **Food Chemistry**. 112; 545 – 550.

Punchard, N.A and Kelly, F.J. 1996. Free radicals, a practical approach, IRL Press, Oxford. 271–285.

Sreeramulu, D., and Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. **Food Research International.** 43: 1017–1020.

Taniguchi, H., Kobayashi-Hattori, K., Tenmyo, C., Kamei, T., Uda, Y., Sugita-Konishi, Y., Oishi, Y., and Takita, T. 2006. Effect of Japanese radish (Raphinus savitus) sprout (Kaiware-daikon) on carbohydrate and lipid metabolism in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Nutritional science and vitaminology**. 53(3): 261 – 266.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. ชื่อ ผศ. ดร. รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

Asst. Prof. Dr. Ratchadaporn Oonsivilai

2. ที่อยู่ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422 - 4232 โทรสาร 0-4422 – 4387

Email address: roonsivi@sut.ac.th

3. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (พยาบาล)

สถาบัน คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ปีที่สำเร็จ 2530

ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

สถาบัน Dalhousie University, DalTech, Canada

ปีที่สำเร็จ 2543

หัวข้อวิทยานิพนธ์: “The Effect of Beta-Glucan Polymers on the Rheological and Filtration Properties of Wort”

แหล่งทุนที่ได้รับ : ทุนผู้ช่วยวิจัย NSERC Canada

ปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สถาบัน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีที่สำเร็จ 2549

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : “ Neutraceutical and Functional Properties of Thunberga Laurifolia Lindl (Rang Chuet) Extract”

แหล่งทุนที่ได้รับ : ทุนพัฒนาอาจารย์ทบวงมหาวิทยาลัย

4. ตำแหน่งปัจจุบัน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5. ประสบการณ์การทำงาน

Aug 2017- Current : Lecturer, Department of Food Technology Institute of Agricultural Technology Suranaree university Nakhon Ratchasima, Thailand

April 2015 – July 2017 : Assistant Rector for Planning

Oct 2011 – Sep 2013 : Assistant Rector for Administration

Jan 2007 – Sep 2011 : Lecturer, Department of Food Technology Institute of Agricultural Technology Suranaree university Nakhon Ratchasima, Thailand

Jan.2002 - Dec 2006 : Ph. D. candidate, Suranaree University of Technology

Oct 2000 - Dec.2001 : Lecturer Department of Food Technology Institute of Agricultural Technology Suranaree university Nakhon Ratchasima, Thailand

Sept.1997 – Oct. 2000 : Research Assistant Department of Food Science and Technology Dalhousie University DalTech Halifax, Nova Scotia, Canada

Oct. 1993 - Aug.1997 : Register Nurse, University Infirmary, Suranaree University of Technologyม Nakhon Ratchasima, Thailand

May.1987 - Sept.1993 : Register Nurse, Intensive Care Unit, Srinakarin Hospital, Khonkaen University Khonkaen, Thailand

6. **งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว**

1. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการประยุกต์ใช้ neural network สำหรับหาค่าความเข้มข้นวิกฤตในสารละลาย beta-glucan

แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุนวิจัยอาจารย์ใหม่ 2543: หัวหน้าโครงการ

2. โครงการ IRPUS: การเตรียมสารสกัดอุดมด้วยวิตามินซีจากหัวไชเท้า ทุนวิจัย สกว. 2550: หัวหน้าโครงการ
3. โครงการ UBI: การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเจี่ยวกู้หลาน ทุนวิจัย SUT-UBI: หัวหน้าโครงการ
4. โครงการ iTAP: การเตรียมโรงงานเพื่อขอการรับรองระบบ GMP : หัวหน้าโครงการ
5. โครงการ iTAP: การพัฒนาผลิตภัณฑ์สาหร่ายเส้นแก้ว: หัวหน้าโครงการ
6. โครงการ UBI: การยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์สาหร่ายเส้นแก้ว: หัวหน้าโครงการ
7. โครงการ iTAP: โครงการการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างเครื่องซักผ้า : หัวหน้าโครงการ
8. .โครงการการศึกษาการปรับแต่งกระบวนการหมักเบียร์ที่เหมาะสมโดยใช้profileของอุณหภูมิเป็นตัวกำหนด: หัวหน้าโครงการ
9. โครงการ UBI: การพัฒนาผลิตภัณฑ์เคอรี่พัพฟ์: หัวหน้าโครงการ
10. โครงการ UBI: การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำจิ้มสุกี้: หัวหน้าโครงการ
11. โครงการฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดรางจืด ย่านางและ เครือหมาน้อย : หัวหน้าโครงการ
12. โครงการการศึกษาพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืด : หัวหน้าโครงการ

13. โครงการชีวภาพพร้อมใช้และการนำไปใช้ทางชีวภาพของสารสกัดรางจืด : หัวหน้าโครงการ
14. โครงการ iTAP: การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาเห็ดกึ่งสำเร็จรูป: หัวหน้าโครงการ
15. โครงการฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วเหลืองและถั่วขาวที่ผ่านการหมัก: หัวหน้าโครงการ
16. โครงการ การสกัด ฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของไกลโคไซด์จากกระบองเพชรและลีลาวดี: หัวหน้าโครงการ
17. โครงการเตรียมสารสกัดน้ำมันเมล็ดทับทิมด้วยวิธีสกัดเย็น: หัวหน้าโครงการ
18. โครงการ iTAP : การผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่จากสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติ : ผู้เชี่ยวชาญ
19. โครงการชีวภาพพร้อมใช้และการนำไปใช้ทางชีวภาพของสารสกัดถั่วขาว: หัวหน้าโครงการ
20. โครงการ การสกัด ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากหัวไชเท้า : หัวหน้าโครงการ
21. โครงการ iTAP: การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากอาหารเลี้ยง Stem Cell: หัวหน้าโครงการ
22. โครงการการแยกเชื้อโพรไบโอติกจากกากมันสำปะหลัง: หัวหน้าโครงการ
23. โครงการฤทธิ์ทางชีวภาพ ชีวปริมาณออกฤทธิ์ และการเข้าถึงชีวภาพของสารสกัดกระบองเพชร: หัวหน้าโครงการ
24. โครงการ Science Park SUT: การผลิตและศึกษาคุณสมบัติของข้าวกาบาพร้อมรับประทานชนิด Synbiotics: ผู้เชี่ยวชาญร่วม
25. โครงการ iTAP: การพัฒนาเครื่องดื่มสมุนไพร : ผู้เชี่ยวชาญ
26. โครงการ iTAP: การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์สมุนไพร : ผู้เชี่ยวชาญ
27. โครงการ iTAP: การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและทดสอบคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของน้ำหมักคาวตอง: ผู้เชี่ยวชาญ
28. โครงการ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อการควบคุมน้ำหนักจากสารสกัดธรรมชาติ: หัวหน้าโครงการ
29. โครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารซินไบโอติกส์จากกากมันสำปะหลัง: หัวหน้าโครงการ

7. งานวิจัยที่กำลังดำเนินการ

1. โครงการใยอาหารโภชนาการจากกากมัน: หัวหน้าโครงการ
2. โครงการ คุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดโหระพาไทย: หัวหน้าโครงการ
3. โครงการ iTAP : การทดสอบประสิทธิผลในระดับ Pre-clinic ของสารประกอบฟินอลิคในเครื่องดื่มลำไยสกัดที่ผลิตโดยวิธีอินทรีย์ : ผู้เชี่ยวชาญร่วม
4. โครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับนักกีฬาประเภททนทาน: หัวหน้าโครงการ
5. โครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับผู้มีบุตรยาก: หัวหน้าโครงการ

6. โครงการ โภชนพันธุกรรมและสมดุลระบบภูมิคุ้มกันของผลิตภัณฑ์อาหารซินไบโอติกส์: หัวหน้าโครงการ
7. โครงการ ผลของสารกลุ่มเออโกเจนิเสริมประสิทธิภาพนักกีฬาต่อโภชนศาสตร์พันธุกรรม: หัวหน้าโครงการ

8. Peer-Reviewed Publications:

1) Nawong, S., Oonsivilai, R., Boonkerd, N., and Hansen, L. T. 2016. Entrapment in food-grade transglutaminase cross-linked gelatin-maltodextrin microspheres protects Lactobacillus spp. During exposure to simulated gastro-intestinal juices. Food research International. 85: 191-199.
2) Kachenpukdee, N., Santerre, C. R., Ferruzzi, M., and Oonsivilai, R. 2016. Modified dietary fiber from cassava pulp and assessment of mercury bioaccessibility and intestinal uptake using an in vitro digestion/Caco-2 model syatem. Journal of Food Science. 81(7): T1854 - T1863.
3) Kachenpukdee, N., Santerre, C. R., Ferruzzi, M., and Oonsivilai, R. 2016. Enzymatic digestion optimization of dietary fiber from cassava pulp and their effect on mercury bioaccessibility and intestinal uptake from fish using an in vitro digestion/Caco-2 model. International Food Research Journal 23(2): 660 – 666.
4) Singthong, J., **Oonsivilai, R.**, Oonmetta-aree., and Ningsanond, S. 2014. Bioactive compounds and encapsulation of Yanang (Tiliacora Triandra) leaves. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. Vol. 931-932: 76 – 84.
5) Chaicharoenaudomrung, N., Oonsivilai, A., **Oonsivilai, R**. 2014. Chlorophylls contents in Echinocactus grusonii extract. Advanced Materials Research. Vol. 931-932: 1507-1511.
6) Samruan, W., Gasaluck, P., and **Oonsivilai, R**. 2014. Total phenolics and flavonoid contents of soybean fermentation by Bacillus subtilis SB-MYP-1. Advanced Materials Research. Vol. 931-932: 1587 – 1591.
7) Chirinang, P., **Oonsivilai, R.**, and Kulrattanarak, T. 2014. Ultrasound assisted extraction for preparation dietary fiber from cassava pulp. Advanced Materials Research. Vol. 931-932: 1502 -1506.

8) **Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2010. Differential evolution application in temperature profile of fermenting. WSEAS TRANSACTION on SYSTEMS. Issue. ISSN: 1109-2777. Issue 6(9): 618-628.

9) Oonsivilai, A. and **Oonsivilai, R**. 2009. A genetic algorithm application in natural cheese products. WSEAS TRANSACTIONS on SYSTEMS. Issue 1, Vol 8, January, ISSN : 1109 – 2777, pp: 44 – 54.

10) Oonsivilai, A. and **Oonsivilai, R**. 2008 Parameter Estimation of Frequency Response Twin-Screw Food Extrusion Process using Genetic Algorithm. WSEAS TRANSACTIONS on SYSTEMS. Issue 7 Volume 7, July, ISSN: 1109 – 2777

11) **Oonsivilai, R**., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Antioxidant activity and Cytotoxicity of Rang Chuet (Thunbergia laurifolia Lindl.) Extracts. As. J. Food Ag-Ind. 1(02): pp 116 – 128.

12) **Oonsivilai, R**., Cheng, C., Bomser, J.A., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Phytochemical profiling and detoxification properties of Thunbergia Laurifolia Lindl (Rang Chuet) extracts. Journal of Ethnopharmacology 114: 300–306.

13) **Oonsivilai, R**., Cheng, C., Ningsanond, S., Bomser, J.A. and Ferruzzi, M.G. 2006. Induction of quinone reductase activity in murine hepatoma cells by extracts of Thunbergia Laurifolia Lindl. FASEB Journal. Vol. 20, no. 4, Part 1: A154

14) Speers, R. A., Patelakis, S.J.J., A. T. Paulson, and **Oonsivilai, R**. 2004. Shear rate during brewing operations. MBAA TQ vol. 41, no. 3, pp. 241-247.

Conference Oral Presentations:

1. Chirinang, P., Thaiudom, S., OOnsivilai, A., and OOnsivilai, R. Response surface method for promeganate seed oil preparation. International Conference of Pharma and Food (ICPAF 2016). Kyoto, Japan, September 19.
2. Chirinang, P., and Oonsivilai, R. 2016. Cholesterol-lowering properties of dietary fiber from cassava pulp in Wistar rats. International of Food Properties (iCFP2016). May 31th – June 2th. Anantara Riverside Bangkok Resort, Bangkok, Thailand.
3. Chaicharoenaudomrung, N., and Oonsivilai, R. Phytochemical, Antioxidant Activity, Digestive Stability and Bioaccessibility of Golden Barrel Cactus Extracts Using an In

Vitro Digestion. International of Food Properties (iCFP2016). May 31th – June 2th. Anantara Riverside Bangkok Resort, Bangkok, Thailand.

4. Prasongdee, P., and OOnsivilai, R. 2016. Total phenolic, flavonoid contents and cellular antioxidant activity of Thai basil (Ocimum basilicum L.) International of Food Properties (iCFP2016). May 31th – June 2th. Anantara Riverside Bangkok Resort, Bangkok, Thailand.
5. Thaiudom, S., Pichayajittipong, P., and Oonsivilai, R. 2016. Value-added red colourant from red-peel of dragon fruit (Hylocerecus polyrhizus) and its bioactivity. International of Food Properties (iCFP2016). May 31th – June 2th. Anantara Riverside Bangkok Resort, Bangkok, Thailand.
6. Samruan, W. Oonsivilai, A., and Oonsivilai, R. 2012. Soybean and fermented soybean extract antioxidant activities. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 72: 1169-1172
7. Oonsivilai, R., Oonsivilai, A., and Piwondee, A. 2012. Effect of Rang Chuet Extract on Rat Liver Xenobiotic-Metabolizing Enzyme. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal.. 72: 1142-1144.
8. Singthong, J. **Oonsivilai, R**., Oonmetta-aree., and Ningsanond, S. 2011. Phytochemical profile, antioxidant activity and cytotoxicity of Tiliacora triandra (Colebr.) Diels. (Yanang) extracts on Caco-2-cells. The 5th Thailand Congress of Nutrition 2011. September 5-7. Oral Presentation.
9. Posridee, K., Sripa, B. Jitsomboon, B., and **Oonsivilai, R**. 2011. Acute oral toxicity study of Thunbergia laurifolia Linn. Extracts**.** Asean Food Conference 2011. June, 16-18. Bitec Bangna, Bangkok, Thailand.
10. Manatwiyangkool, J. **Oonsivilai, R**. 2011. Modification of method for phaseolamin extraction from white kidney beans (Phaseolus vulgaris.). Asean Food Conference 2011. June, 16-18. Bitec Bangna, Bangkok, Thailand.
11. **Oonsivilai, R**., Chanphuak, C., Srisutor, P., Kulrattanarak, T., Sutheerawattananond, M., and Oonsivilai, A. 2011. Dietary Fiber Prepared from Cassava byproduct. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 60: 1120-1123.

12. **Oonsivilai, R.,** Manatwiyangkool, J. and Oonsivilai, A. 2011. Extraction Condition of Phaseolus vulgaris. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 60: 382-385.
13. **Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2010. Temperature profiling during fermenting processing differential evolution. Proceeding of the 9th WSEAS International conference on energy and environment. February 23-25, Cambridge, London
14. **R. Oonsivilai**, N. Chaijareonudomroung, Y. Huantanom., and A. Oonsivilai. 2010. Extraction condition of Echinocactus grusonii. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 70: 366: 369.
15. Posridee, K., Sripa, B. Jitsomboon, B., and **Oonsivilai, R**. 2010.The acute oral toxicity determination (LD50) of Rang Chute extract. 3rd SUT Graduate Conference. November 21-23. Suranaree University of Technology, Thailand.
16. Oonsivilai, R and Oonsivilai, A. 2008. Apply a genetic algorithm to natural cheese product. Proceeding of the 8th WSEAS International conference on applied computer science (ACS'08). ISSN 1790 – 5109, pp: 269 – 274.
17. **Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2007. Probabilistic neural network for β-glucan suspensions. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Simulation, Modeling and Optimization, Beijing, China, September 15-17.
18. **Oonsivilai, R**. and Oonsivilai, A. 2007. Probabilistic neural network for β-glucan suspensions. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Simulation, Modeling and Optimization, Beijing, China, September 15-17.
19. **Oonsivilai, R**., Speers, R.A. and Paulson, A.T. 2000. Effects of pH, maltose and ethanol on the physical properties of model beta-glucan suspensions. Presented at IOB 2000, Institute of Brewing, Asia-Pacific Section 26th Convention, Mar. 19-24, Singapore, SGP.
20. **Oonsivilai, R**. Patelakis, S.J.J., Speers, R.A., and Paulson, A.T. 1999. Rheological and filtration properties of beta-glucan polymers in the brewing process. CIFST Annual Meeting, Presentation#OR-12, June 6-9, Kelowna, BC.

Conference Poster Presentations

1. Oonmetta-aree, J., Singthong, J., **Oonsivilai, R**. 2013. Effects of Krueo Ma Noy (Cissampelos pareira) crude extract as prebiotic on survival of encapsulated

Lactobacillus acidophilus TISTRI 1338 under acidic and bile salt condition. 13th ASEAN Food Conference. Singapore. September 9-11.

2. Nawong, S., Boonkerd, N., **Oonsivilai, R**. 2013. Isolation and Selection of Probiotic Lactic Acid Bacteria from Cassava Pulp for Cholesterol Lowering Property. 13th ASEAN Food Conference. Singapore.September 9-11.
3. J. Singthong, R. Oonsivilai, J. Oonmetta-aree, S. Ningsanond. 2012. Phytochemical profiles, antioxidant activity, and cytotoxicity of Cissampelos pareira (Krueo Ma Noy) extract on Caco-2 cells. The 14th Food Innovation Asia Conference 2012. BITEC, Bangna, Bangkok, June 14-15, Poster Presentation.
4. Posridee, K., Sripa, B., Jitsomboon, B. and Oonsivilai, R. 2012. The Sub-chronic oral toxicity study of Rang Chute extracts. IFT Annual Meeting 2012, Las Vegas, USA, June 23-29, Poster Presentation.
5. Oonsivilai, R., Singthong, J. Oonmetta-aree, J., and Ningsanond, S. 2012. Bioactivity, antioxidant activity, and cytotoxicity of Yanang, Kreu-Ma Noy, and Rang Chuet extracts. IFT Annual Meeting 2012, Las Vegas, USA, June 23-29, Poster Presentation.
6. Manatwiyangkool, J. **Oonsivilai, R**. 2010. Phaseolamin in white kidney beans (Phaseolus vulgaris.). 4th Thailand Congress of Nutrition. Sep, 5-7.EX-P-11(P33).
7. Seesan, T. and Oonsivilai, R. 2010. Promote health and well-being with phytochemical in Thai traditional food The 17th Tri-University International Joint Seminar & Symposium 2010. Role of Asia in Communities and Sustainable Development. November 10th-13th, Faculty of Engineering, Chiangmai University, Thailand.
8. **Oonsivilai, R**., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Antioxidant activity and Cytotoxicity of Rang Chuet (Thunbergia laurifolia Lindl.) Extracts. Presented at FoSTAT 2007. BITEC, June 14-15, Bangkok, Thailand.
9. อนุสิทธิบัตร: ยื่นจดอนุสิทธิบัตรเรื่องการเตรียมสารสกัดจากหัวไชเท้า เลขที่คำขอ 0801003939 ยื่นจดสิทธิบัตรเรื่องการเตรียมน้ำมันเมล็ดทับทิม เลขที่คำขอ 1601006001
10. ความลับทางการค้า: กรรมวิธีการผลิตสาหรายเว้นแก้ว วันที่ 19 ตุลาคม 2553
    สูตรและส่วนผสมสาหร่ายเส้นแก้ว วันที่ 8 พฤศจิกายน 2553
11. **เอกสารประกอบการสอน Course Notes**

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ . 2553. อาหารและโภชนาการ : เอกสารประกอบการสอนวิชาอาหารและโภชนาการ. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร, สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 499.หน้า

(3 หน่วยกิต)

12. **Training Courses:**

1. โครงการพัฒนาบุคลากรให้เป็นผู้เชี่ยวชาญ ระบบ HACCP. สถาบันอาหาร 22-24 กรกฎาคม 2544
2. IRCA2009/Approved Food safety and Management System (ISO 22000: 2005) Lead Auditors training course. By National Food Institute of Thailand (NFI), Agro-Industry Academic Council Association., April 28-30, 2008. Amari Airport Hotel, Bangkok, Thailand.
3. ISO2200:2005 Food safety and Management System: Document & Implementation course. by National Food Institute of Thailand (NFI) , Agro-Industry Academic Council Association. June 9-11, 2008. Amari Airport Hotel, Bangkok, Thailand.
4. หลักสูตรความรู้พื้นฐานด้านความปลอดภัยอาหารและหลักเกณฑ์ที่ดีในการผลิตอาหารแปรรูปที่บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่าย (Primary GMP) สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ร่วมกับสถาบันค้นคว้าและผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และสมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารแห่งประเทศไทย วันที่ 4-7 มีนาคม 2557
5. หลักสูตรความรู้เบื้องต้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ร่วมกับสถาบันค้นคว้าและผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารแห่งประเทศไทย วันที่ 4-7 มีนาคม 2557
6. หลักสูตรการบริหารจัดการธุรกิจและเทคนิคการตลาด (Food Business management and marketing) สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ร่วมกับสถาบันค้นคว้าและผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารแห่งประเทศไทย วันที่ 4-7 มีนาคม 2557
7. การรับรองฮาลาลในประเทศไทย สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการกลางอิสลามแห่งประเทศไทย วันที่ 24 มีนาคม 2557

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ร่วมวิจัยรองศาสตราจารย์ ดร. อนามัย เทศกะทึก

1. ประวัติส่วนตัว
   1.1 วัน เดือน ปี เกิด เกิดวันที่ 12 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2507
   1.2 อายุ 48 ปี
   1.3 การศึกษาระดับอุดมศึกษา

คุณวุฒิ	ปี พ.ศ. ที่จบ	ชื่อสถานศึกษาและประเทศ
1.3.1 PhD (Tropical Medicine) major on Environmental Toxicology	2548	คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
1.3.2สาธารณสุขศาสตรบัณฑิต (อาชีวอนามัยและความปลอดภัย	2542	สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ประเทศไทย
1.3.3สาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต (อนามัยสิ่งแวดล้อม)	2537	คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย
1.3.4วิทยาศาสตรบัณฑิต (พยาบาลและผดุงครรภ์)	2530	คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย

2. ประวัติการรับราชการ

ได้รับการแต่งตั้งเป็นผู้ช่วยศาสตราจารย์ในสาขาวิชา อาชีวอนามัย สังกัดภาควิชาสุขศาสตร์อุตสาหกรรมและ ความปลอดภัย คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เมื่อวันที่ 4 สิงหาคม พ.ศ. 2543 จนถึงปัจจุบัน พ.ศ. 2553

3. 1 งานวิจัย

ชื่อเรื่องงานวิจัย	สถานะ	ปีงบประมาณ	ระยะเวลาดำเนินการ (ปี)

1) การประเมินความเสี่ยงของปัจจัยสิ่งคุกคามต่อสุขภาพอนามัยของผู้ปฏิบัติงานในโรงโม่หินในเขตภาคตะวันออกของประเทศไทย	ผู้ร่วมโครงการวิจัย	2538	1
2) ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการสูญเสียการได้ยินของผู้ประกอบอาชีพในสถานประกอบการดิสโก้เทค ในเขตจังหวัดชลบุรี	หัวหน้าโครงการวิจัย	2541	1
3) การศึกษาผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของเกษตรกรที่มีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ในจังหวัดชลบุรี และจันทบุรี	ผู้ร่วมโครงการวิจัย	2541	1

ชื่อเรื่องงานวิจัย	สถานะ	ปีงบประมาณ	ระยะเวลาดำเนินการ (ปี)
4) การศึกษาระดับเอนไซม์คลอริเนสเตอเรสในเลือด โดยเครื่องมืออีคิวเอ็มเทสต์คิต ในกลุ่มเกษตรกร ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี	หัวหน้าโครงการวิจัย	2542	1
5) การศึกษาระดับตะกั่วในเลือดของผู้ปฏิบัติงาน ในบรรยากาศของโรงพิมพ์ที่ตั้งอยู่ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี	ผู้ร่วมโครงการวิจัย	2542	1
6) ประสิทธิผลของโปรแกรมการอบรมทางด้านอันตรายจากสารเคมีและการป้องกันต่อการเปลี่ยนแปลงความรู้ ทัศนคติและพฤติกรรมในพนักงานโรงงานอุตสาหกรรมผลิตชิ้นส่วนยานยนต์ในเขตจังหวัดชลบุรี	หัวหน้าโครงการวิจัย	2549	1
7) ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อสุขภาพในระบบทางเดินหายใจในกลุ่มพนักงานโรงงานอุตสาหกรรมผลิตผลผลิตจากไม้และเฟอร์นิเจอร์ ในเขตภาคตะวันออก	หัวหน้าโครงการวิจัย	2550	1

3.2 งานบริการด้านวิชาการ

เป็นวิทยากร	ระหว่างวันที่
1). อันตรายจากสารเคมีและแนวทางในการป้องกัน บริษัทสยามฮิตาชิ เอลลิเวเตอร์ จำกัด	10 กุมภาพันธ์ 2549
2). อันตรายจากการทำงานในโรงพยาบาลและแนวทางในการป้องกัน โรงพยาบาลศูนย์แพทย์	9 มีนาคม 2549
3). อันตรายจากการทำงานในโรงงานอุตสาหกรรมและแนวทางในการป้องกัน ที่บริษัทซีพี	15 มีนาคม 2549
4). การจัดทำแนวทางพัฒนามาตรฐานสุขภาพและดัชนีชี้วัดสุขภาพ ห้องประชุมกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข	29 เมษายน 2551
5). โรคที่พบบ่อยจากการประกอบอาชีพและการรักษาพยาบาลเบื้องต้น คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา	4 พฤษภาคม 2551
6). ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสารเคมีและอันตรายต่อสุขภาพอนามัย สำหรับเจ้าหน้าที่อนามัย	26 พฤษภาคม 2551
7). การจัดการพิษจากสารเคมีแก่ครู อาจารย์ นักเรียน ในเขตโรงงานอุตสาหกรรม	1 กรกฎาคม 2551
8). การจัดการพิษจากสารเคมีแก่ครู อาจารย์ นักเรียน ในเขตเกษตรกรรม	2 กรกฎาคม 2551
9). การจัดการพิษจากสารเคมี แก่บุคลากรจากสถานอนามัยจากระยอง รุ่นที่ 1	4 กรกฎาคม 2551
10). การจัดการพิษจากสารเคมี แก่บุคลากรภาครัฐและประชาชน	13 มิถุนายน 2551
เป็นวิทยากร	**ระหว่างวันที่**
11). การจัดการพิษจากสารเคมี แก่บุคลากรจากสถานอนามัยจากระยอง รุ่นที่ 2	30 กรกฎาคม 2551
12). การปฏิบัติงานกับสารเคมีอันตราย บริษัทสยามฮิตาชิ เอลลิเวเตอร์	22 สิงหาคม 2551
13). อบรมเจ้าหน้าที่ความปลอดภัยในการทำงาน มหาวิทยาลัยบูรพา	25 สิงหาคม 2551
14). อบรมเจ้าหน้าที่ความปลอดภัยในการทำงาน มหาวิทยาลัยบูรพา	27สิงหาคม 2551
15). โรคสารเคมีการเกษตร คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา	5 มีนาคม 2552
16). โรคสารเคมีการเกษตร คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา	27 มีนาคม 2552
17). อบรมเจ้าหน้าที่ความปลอดภัยในการทำงาน สำนักบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยบูรพา	17มิถุนายน2552

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

18). พิษวิทยาและหลักการดูแลผู้ป่วยเบื้องต้น โรงแรมสตาร์ ระยอง	16 มิถุนายน 2552
19). โรคจากการประกอบอาชีพ บริษัทสยามเอทีอุตสาหกรรม	23 กรกฎาคม 2552
20). การจัดทำตัวชี้วัดผลกระทบต่อสุขภาพจากสิ่งแวดล้อม สำนักโรคจากการประกอบอาชีพ กระทรวงสาธารณสุข	27-29 กรกฎาคม 2552
21). อันตรายจากการทำงานกับสารเคมีและการป้องกัน บริษัทดีไอซีกราฟิก	22กรกฎาคม 2552
22). อันตรายจากการทำงานกับสารเคมีและการป้องกัน บริษัทดีไอซีกราฟิก	20 สิงหาคม 2552
23). อันตรายจากการทำงานกับสารเคมีและการป้องกัน บริษัทวอลโว่ประเทศไทย จำกัด	16กันยายน 2552
24). พิษวิทยาและหลักการดูแลผู้ป่วยเบื้องต้น โรงแรมสตาร์ ระยอง	19 พฤศจิกายน 2552
25). พิษวิทยาและหลักการดูแลผู้ป่วยเบื้องต้น โรงแรมสตาร์ ระยอง	26 พฤศจิกายน 2552
26) ระวังพิษภัย จากสารเคมีรอบตัว ศูนย์ฝึกและพัฒนาอาชีพเกษตรกรรมวัดญาณสังวรารามวรมหาวิหาร อันเนื่องมาจากพระราชดำริ	12 กุมภาพันธ์ 2552

3.3 งานบริหาร

เลขที่ตำแหน่ง	ตำแหน่ง	ตั้งแต่	ชั่วโมงต่อสัปดาห์
1250/2542	ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายวางแผนและพัฒนาคณะ	18กันยายน 2540 - 14 กันยายน 2542	0.6
1250/2542	รองคณบดีฝ่ายบริหาร	22กันยายน 2542 - 31 ตุลาคม 2543	1
0824/2548	ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายวิเทศสัมพันธ์	2พฤษภาคม 2548 - 31 พฤษภาคม 2550	1
1261/2550	รองคณบดีฝ่ายกิจการพิเศษ	11มิถุนายน 2550 - 9 มีนาคม 2551	1
0621/2551	ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายวิเทศสัมพันธ์	10 มีนาคม 2551 - 31 ธันวาคม 2551	1

3.4 งานอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

3.4.1 การนำเสนอผลงานทางวิชาการ

ชื่อเรื่องการนำเสนอผลงานทางวิชาการ	การประชุม	ระหว่างวันที่	ชั่วโมงต่อสัปดาห์
1) Challenge of Migrant Workers to the Thai Medical System	The Annual Council on Thai Studies Conference. The Northern Illinois University, USA	23-27 October 2009	0.2
2) Respiratory Symptoms and Rubber Trees Wood Dust Exposure among Furniture Manufacturing Factory Workers in Thailand	ICOH 2009 ,The International CongressOn Occupational Health, Cape town ,South Africa	21-27 March 2009	0.2
3) Rubber Tree Dust and Lung Function among Thai Furniture Manufacturing Workers	The 3rd International Occupational and Environmental Health ,Vietnam	21-23 Oct 2008	0.2
4) The influence of Occupational Exposure to ChlorpyrifosandCPOase on Plasma Cholinesterase Activity among Orchard Workers in Thailand	ICOH 2009 ,The International CongressOn Occupational Health, Milan, Italy	11-16 June 2006	0.2
5) Blood Plasma Cholinesterase Level By EQM Test Kit Among Agricultural Workers in AmphurMuangChonburi Province.	International Conference on Pesticide Exposure and Health. Natcher Center National Institutes of Health Bethesda, Maryland USA.	8- 12 July 2002	0.1

3.4.2 การศึกษาดูงาน ณ ต่างประเทศ

หลักสูตรเรื่องการอบรม/ดูงาน	สถานที่/หน่วยงานที่จัดอบรม/ดูงาน	ระหว่างวันที่ (14)

SOUTH EAST ASIA PUBLIC HEALTH EDUCATION INSTITUTIIONS NETWORK (SEAPHEIN) Moving SEAPHEIN to Influence Public Health Policy and Action	Jaipur, India	September 25-28, 2007
หลักสูตรเรื่องการอบรม/ดูงาน	**สถานที่/หน่วยงานที่จัดอบรม/ดูงาน**	**ระหว่างวันที่ (14)**
ไปเจรจาความร่วมมือทางวิชาการ	มหาวิทยาลัยแมสเซ่ ประเทศนิวซีแลนด์	ระหว่างวันที่ 10-19 พฤษภาคม 2549
ลงนามความร่วมมือทางวิชาการกับมหาวิทยาลัยนอร์ทสุมาตรา อินโดนีเซีย	มหาวิทยาลัยนอร์ทสุมาตรา อินโดนีเซีย	20 -23 พฤศจิกายน 2548
เรียนรายวิชาOccupationalepidemiology และ toxic chemicals และ Toxicology	มหาวิทยาลัยวอชิงตัน, USA	26 มี.ค. 2547- 26 มิ.ย. 2547
เรียนรายวิชา Occupational and Environmental Health	มหาวิทยาลัยวอชิงตัน, USA	2 ม.ค. 2546- 28 มี.ค. 2546
อบรมและนำเสนอผลงานทางวิชาการ เรื่อง International Conference on Pesticide Exposure and Health	Natcher center, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA	8 ก.ค. 2545- 12 ก.ค. 2545
ดูงานด้านอาชีวอนามัยและความปลอดภัย	มหาวิทยาลัยวอชิงตัน, USA.	1 ม.ค .2542 – 2 พ.ค..2542
อบรมทางวิชาการ เรื่อง “Indoor Air Quality School at School and Home	Northwest Center for Occupational Health and Safety, University of Washington”, USA.	4 ก.พ. 2542
ประชุมวิชาการด้านอาชีวอนามัยและความปลอดภัย	Research Triangle Park, North Carolina, USA.	17-22 ก.พ. 2542

ดูงานด้านอาชีวอนามัยและความปลอดภัย	มหาวิทยาลัยวอชิงตัน, USA.	5 ต.ค..2541 - พย. 2541
Primary and secondary prevention of silicosis	ณ National Institute for Occupational and Environmental Health, Hanoi, Vietnam.	5 –10 พค. 2540

บทความทางวิชาการ

ชื่อผู้แต่ง	ชื่อเรื่อง	ชื่อวารสาร	ปีที่ตีพิมพ์
1) อนามัย เทศกะทึก	ข่าวคราวความเคลื่อนไหวในด้านอาชีวอนามัยและสิ่งแวดล้อม	วารสารความปลอดภัยและสุขภาพ	ปีที่ 3, ฉบับที่ 92553 :86-93
2) อนามัย เทศกะทึก	ผลกระทบต่อทางเดินหายใจจากการรับสัมผัสฝุ่นไม้จากการทำงาน	วารสารความปลอดภัยและสุขภาพ	ปีที่ 2, ฉบับที่ 82552 : 6-18
3) อนามัย เทศกะทึก	ข่าวคราวความเคลื่อนไหวในด้านอาชีวอนามัยและสิ่งแวดล้อม	วารสารความปลอดภัยและสุขภาพ. หาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช	ปีที่ 2 ฉบับที่ 5 2552: 105-108.
4) อนามัย เทศกะทึก	ข่าวคราวความเคลื่อนไหวในด้านอาชีวอนามัยและสิ่งแวดล้อม	วารสารความปลอดภัยและสุขภาพ. หาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.	ปีที่ 2 ฉบับที่ 5 สิงหาคม–ตุลาคม 2551: 96-100.
5) อนามัย เทศกะทึก	ความเสี่ยงอันตรายของการทำงานในที่อับอากาศ.	วารสารเพื่อความปลอดภัยและอนามัยในการทำงานของสังคมไทย.	29 พ.ค.-มิ.ย. 2547: 22-23.
6) อนามัย เทศกะทึก	ภัยจากเชื้อ Legionella สามารถป้องกันได้	วารสารเพื่อความปลอดภัย และอาชีวอนามัยในการทำงาน ของสังคมไทย	20 มกราคม –กุมภาพันธ์ 2545 :22-23.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7) อนามัย เทศกะทึก	อุบัติเหตุจากการทำงานเกิดได้อย่างไร.	วารสารคณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา	ปีที่ 9ฉบับที่ 3กันยายน-ธันวาคม 2544: 48-56.
8) อนามัย ธีรวิโรจน์	อันตรายจากการประกอบอาชีพจากความเย็น	อาชีวเวชศาสตร์และสิ่งแวดล้อม ปี 2000 และต้นสหัสวรรษใหม่. ในการประชุมอาชีวเวชศาสตร์และสิ่งแวดล้อมแห่งชาติครั้งที่ 9.	2543 : 121-132.
9) อนามัย ธีรวิโรจน์	การศึกษาระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในเลือด โดยใช้เครื่องมือชนิดอีคิวเอ็มเทสต์คิตในกลุ่มเกษตรกรในเขตอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี	วารสารมหาวิทยาลัยบูรพา	ปีที่ 4 ฉบับที่ 2, กรกฎาคม - ธันวาคม 2542: 11-17.

ชื่อผู้แต่ง	ชื่อเรื่อง	ชื่อวารสาร	ปีที่ตีพิมพ์
10) อนามัย ธีรวิโรจน์	ความเครียดจากการประกอบอาชีพ	วารสารมหาวิทยาลัยบูรพา	3 ปีที่ 4ฉบับที่ 2กรกฎาคม – ธันวาคม 2542 : 57-68.
11) อนามัย ธีรวิโรจน์	ปัญหาคราบน้ำมันกับแหล่งน้ำไทย.	จดหมายข่าวคณะสาธารณสุขศาสตร์	ปีที่ 2ฉบับที่ 6, มกราคม - กุมภาพันธ์ 2541.
12) อนามัย ธีรวิโรจน์	ความดันบรรยากาศที่ผิดปกติ...มีผลกระทบต่อสุขภาพอย่างไร	วารสารมหาวิทยาลัยบูรพา	ปีที่ 3ฉบับที่ 1, มกราคม - มิถุนายน 2541: 53-56.
13) อนามัย ธีรวิโรจน์	มารู้จัก...โรคซิลิโคลีสกันเถอะ.	วารสารมหาวิทยาลัยบูรพา	ปีที่ 3ฉบับที่ 2, กรกฎาคม - ธันวาคม 2541: 31-36.
14) อนามัย ธีรวิโรจน์	ความสั่นสะเทือนจากการทำงาน.. มีผลต่อสุขภาพ อย่างไร	วารสารศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ปีที่ 1ฉบับที่ 3, กันยายน - ธันวาคม 2540.
15) อนามัย ธีรวิโรจน์	Biological control ทางเลือกหนึ่งของการควบคุมลูกน้ำยุงพาหะนำโรคในประทศไทย	วารสารมหาวิทยาลัยบูรพา	ปีที่ 2ฉบับที่ 1, เดือนมกราคม - มิถุนายน 2540.
16) อนามัย ธีรวิโรจน์	ของแถมที่ไม่ต้องการ	จดหมายข่าวคณะสาธารณสุขศาสตร์	ฉบับที่ 5มีนาคม - เมษายน 2539.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

17) อนามัย ธีรวิโรจน์	มหันตภัยจากขยะและสิ่งปฏิกูล	จดหมายข่าวคณะสาธารณสุขศาสตร์	ที่ 1ฉบับที่ 4มกราคม - กุมภาพันธ์ 2539
18) อนามัย ธีรวิโรจน์	ดิน.เกิดมลพิษได้อย่างไร	วารสารมหาวิทยาลัยบูรพา	ที่ 1ฉบับที่ 2, มกราคม – เมษายน 2539: 5-9.

3.4.4 บทความวิจัย

ผู้เขียน	ชื่อเรื่อง	วารสาร	ปีที่ตีพิมพ์	มีส่วนส่วนร่วมในการวิจัย
1) AnamaiThetkathuek, TanongsakYingratasuk, Paul A Demers, PhayongThepaksorn , SastriSaowakhontha, Keifer M	Rubber-Tree Dust and Lung Function among Thai Furniture-Factory Workers.	The International Journal of Occupational and Environmental Health.	Jan-March 2010 : 69-74	70
2) AnamaiThetkathuek, TanongsakYingratasuk, PhayongThepaksorn , SastriSaowakhontha	Respiratory Symptoms and Rubber Trees Wood Dust Exposureamong Furniture	Journal of Science, Technology, and Humanities.	(Accepted July 27, 2009 : In press).	60

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

	Manufacturing Factory Workers in Thailand.			
3) Chensheng Lu, Teresa Rodriguez, AnamaiThetkathuek ,Aura Funez, Melanie Pearson.	Feasibility of using salivary biomarker to assess human exposure to chlorpyrifos.	J. Tox. Environ. Chem.	http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713653210~db=all~tab=issueslist~branches=90 - v9090, (2) 2008 : 315 - 325	20
4) AnamaiThetkathuekTanongsakYingratanasukPhayongThepaksorn	Effectiveness of Chemical Prevention Training Program for the Improvement of	Journal of Science, Technology, and Humanities.	5 (1) 2007: 29-34.	70

ผู้เขียน	ชื่อเรื่อง	วารสาร	ปีที่ตีพิมพ์	มีส่วนส่วนร่วมในการวิจัย
	Knowledge, Attitudes, and Work Practice among Auto Parts Workers in Thailand.			
5) อนามัย เทศกะทึก.ปวีณา มีประดิษฐศาสตรี เสาวคนธ์.	การศึกษานำร่องในการดำเนินงานระบบรับรองมาตรฐานคุณภาพชีวิตการทำงานในสถานประกอบการในประเทศไทย: กลุ่มผู้ดำเนินงาน.	วารสารสาธารณสุขศาสตร์	37, (1) 2550) : 26-33.	45
6) Thetkathuek A, Keifer M, Fungladda V,	Spectrophotometric determination of	Chem Pharm Bull	5 4. 53 (4). 2005: 442-	50

Kaewkungwal J, PadungtodC,Wilson BW, Mankhetkorn S	Plasma and red blood cell Cholinesterase activity of 53 fruit farm workers pre- and post-exposed chlorpyrifos for one fruit corps

3.4.5 บทความวิทยุ

ชื่อผู้แต่ง	ชื่อเรื่อง	รายการวิทยุ	ปีที่ตีพิมพ์
1) อนามัย เทศกะทึก	การเกิดมะเร็งจากการทำงาน	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 1 เดือนเมษายน 2551
2) อนามัย เทศกะทึก	อันตรายจากสารเคมีในชีวิตประจำวัน	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 4 เดือนสิงหาคม 2551
3) อนามัย เทศกะทึก	ความปลอดภัยจากสารเคมีในชีวิตประจำวัน	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 1 เดือนกันยายน 2551.
4) อนามัย เทศกะทึก	สรรพคุณของกระเทียม	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 1 เดือนมีนาคม 2545
5) อนามัย เทศกะทึก	การป้องกันบ้านของคุณจากการเกิดอัคคีภัย..ทำได้ไม่ยาก	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 3 เดือนมีนาคม 2545
6) อนามัย เทศกะทึก	ทึก. สิ่งรอบตัวกับความพิการของทารก.	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 1 เดือนพฤษภาคม 2545

7) อนามัย เทศกะทึก	งานกะกับสุขภาพ	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 1 เดือน มิถุนายน 2545
8) อนามัย เทศกะทึก	คุณภาพอากาศภายในอาคารที่ควรรู้	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 3 เดือน มิถุนายน 2545
9) อนามัย เทศกะทึก	มารู้จักภัยจากเชื้อเลจิโอเนลล่ากันเถอะ.	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 3 เดือน กรกฎาคม 2545
10) อนามัย เทศกะทึก	แนวทางการป้องกันภัยจากเชื้อเลจิโอเนลล่า	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 4 เดือน กรกฎาคม 2545
11) อนามัย เทศกะทึก	ภัยจากสารปราบศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต	วิถีสุขภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา	สัปดาห์ที่ 4เดือน กันยายน 2545

3.4.6 หนังสือและตำรา

ชื่อผู้แต่ง	ชื่อเรื่อง	สำนักพิมพ์	ปีที่ตีพิมพ์
1) อนามัย เทศกะทึก	การประเมินผลกระทบต่อสุขภาพ	พิมพ์ครั้งที่ 1 พิมพ์ที่ บริษัทสำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ	2553 ได้รับการแก้ไขจากผู้เชี่ยวชาญ และอยู่ระหว่างการตีพิมพ์
2)อนามัย เทศกะทึก	พิษสารเคมีจากการทำงานรู้ทันป้องกันได้	พิมพ์ครั้งที่ 1พิมพ์ที่บริษัทสำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ	2553 ได้รับการแก้ไขจากผู้เชี่ยวชาญ และอยู่ระหว่างการตีพิมพ์
3) อนามัย เทศกะทึก	การประเมินความเสี่ยงทางสุขภาพ *	พิมพ์ครั้งที่ 1 พิมพ์ที่บริษัทสำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ	2552
4) อนามัย เทศกะทึก	อาชีวอนามัยและความปลอดภัย ฉบับปรับปรุง*	พิมพ์ ครั้งที่ 3 พิมพ์ที่บริษัทโอ เดียนสโตร์ กรุงเทพ	2551

5) อนามัย เทศกะทึก	ความเป็นพิษในระบบนิเวศและสุขภาพมนุษย์	พิมพ์ ครั้งที่ 1 พิมพ์ที่บริษัท โอ เดียนสโตร์ กรุงเทพ	2550
6) อนามัย เทศกะทึก	อาชีวอนามัยและความปลอดภัย	พิมพ์ ครั้งที่ 1 พิมพ์ที่บริษัท โอ เดียนสโตร์ กรุงเทพ	2549

หมายเหตุ* ใช้ในการประเมินตำแหน่งทางวิชาการ ระดับรองศาสตราจารย์

3.4.7เวปไซต์

1) อนามัย เทศกะทึก. **อันตรายของก๊าซมีเทน...ภัยใกล้ตัว.**NPC Safety and Environment Service Co., Ltd.2552. www.npc-se.co.th

2) อนามัย เทศกะทึก. **รถจอดทิ้งไว้ ปล่อยเบนซีนออกมาทำอันตรายจริงหรือ.**NPC Safety and Environment Service Co., Ltd.2552 www.npc-se.co.th

3) อนามัย เทศกะทึก. **ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ ภัยเงียบที่คาดไม่ถึง.**NPC Safety and Environment Service Co., Ltd.2552 www.npc-se.co.th

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี