



การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และ
คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหลียง
ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี

Nutritional value, bioactive compounds, and antioxidant
properties of *Gnetum gnemon* Linn. var. *tenerum* Markgr.
in Surat Thani Province

มาริสา อินทวงศ์
อารยา ปราณประวีตร

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย
จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สทว.)
กุมภาพันธ์ 2566

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และ
คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหลียง
ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี

Nutritional value, bioactive compounds, and antioxidant
properties of *Gnetum gnemon* Linn. var. *tenerum* Markgr.
in Surat Thani Province

มาริสา อินทวงศ์
อารยา ปรานประวีตร

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย
จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.)
กุมภาพันธ์ 2566

บทสรุปผู้บริหาร

ผักเหลียงเป็นผักพื้นบ้านทางภาคใต้ที่นิยมนำมาใช้ในการบริโภคกันมากขึ้น มีการเพาะปลูกร่วมในสวนยางพารา ปาล์มน้ำมัน หรือสวนไม้ผล เป็นผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ช่วยต่อต้านการเสื่อมสภาพของร่างกาย เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน และมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ผักเหลียงเป็นผักที่นิยมบริโภคทั้งในรูปแบบของการบริโภคสดเป็นผักเหนาะหรือใช้ประกอบเป็นอาหาร อย่างไรก็ตามการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระของพืชผักพื้นบ้านยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของผักเหลียง ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพประเภทสารประกอบฟีนอลิก และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในผักเหลียง เพื่อเป็นข้อมูลด้านคุณค่าทางโภชนาการสำหรับการนำพืชผักพื้นบ้านในท้องถิ่นมาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและใช้ประโยชน์ในการแนะนำการบริโภคในชุมชนเพื่อการป้องกันและรักษาโรคเรื้อรัง และการปลูกผักยังสามารถช่วยสร้างโอกาสทางด้านเศรษฐกิจ รวมทั้งเป็นแนวทางในการจัดการทรัพยากรในท้องถิ่นเพื่อให้มีการทำการเกษตรอย่างยั่งยืน นำไปสู่ความมั่นคงทางอาหาร ทำให้ประชาชนสามารถเข้าถึงอาหารคุณภาพดีได้โดยไม่ขาดแคลน

เก็บตัวอย่างผักเหลียงส่วนที่เป็นยอดที่เหมาะสมสำหรับใช้ทำอาหารโดยวิธีการสุ่ม จำนวน 9 จุด เก็บตัวอย่าง จากพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอกีรีรัฐนิคม ศึกษาองค์ประกอบโดยประมาณและคุณค่าทางโภชนาการในตัวอย่างผักเหลียง ตามวิธีมาตรฐาน AOAC ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณความชื้นของผักเหลียงจากทั้ง 9 แหล่ง มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 84.72 - 87.52 ปริมาณเถ้า (ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักสด) มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.779 - 1.065 และปริมาณคุณค่าทางโภชนาการ (ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักสด) ได้แก่ ปริมาณใยอาหาร โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 3.06 - 3.81, 3.44 - 4.68, 0.647 - 1.078 และ 7.49 - 9.55 ตามลำดับ สำหรับการศึกษาองค์ประกอบที่เป็นแร่ธาตุในผักเหลียง ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยการย่อยในระบบไมโครเวฟ และวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุโดยเทคนิค ICP-OES ผลการศึกษาพบว่า แร่ธาตุหลักที่พบในตัวอย่างผักเหลียงเรียงลำดับจากปริมาณมากไปน้อยเป็นดังนี้คือ K, Ca, Mg, และ Na และปริมาณแร่ธาตุรองในตัวอย่างผักเหลียงเรียงลำดับจากมากไปน้อยเป็นดังนี้คือ Mn, Fe, Zn และ Cu เมื่อพิจารณาปริมาณแร่ธาตุที่มีในตัวอย่างผักเหลียงเปรียบเทียบกับปริมาณแร่ธาตุที่แนะนำให้ได้รับจากการบริโภคต่อวัน โดยคิดเป็นร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน (Daily value, %) พบว่าแร่ธาตุ Mn มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวันอยู่ในระดับสูง (ร้อยละ 30.9 - 105.1) ในขณะที่มีแร่ธาตุ 6 ชนิด ได้แก่ K, Mg, Ca, Fe, Cu และ Zn มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวันในระดับที่

ค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 1.0 – 5.2) สำหรับแร่ธาตุ Na มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวันในระดับที่ต่ำมาก (0.01 – 0.03) ดังนั้นผักเหลียงจึงจัดเป็นแหล่งของแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแร่ธาตุ Mn

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent และวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอคีรีรัฐนิคม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 121.26-149.53, 73.21-102.51 และ 109.15-127.79 mg GAE/100 g DW ตามลำดับ ในการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์ริกซึ่งไม่มีสี ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์รัสซึ่งมีสีน้ำเงินม่วงและมีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ปริมาณของสารสีน้ำเงินม่วงที่เกิดขึ้น สามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูปของ FRAP value ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอคีรีรัฐนิคม มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในช่วง 128.81 – 132.46, 89.01–101.59 และ 131.02 –160.70 $\mu\text{M FeSO}_4/100 \text{ g DW}$ ตามลำดับ สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH อาศัยหลักการของสาร DPPH ที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร สารละลายมีสีม่วงเข้ม ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-517 nm เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์ DPPH สังเกตได้จากการจางลงของสีม่วงในสารละลาย ซึ่งก็คือการลดลงของ DPPH ที่มีผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดผักเหลียงที่สกัดด้วยเอทานอล มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด โดยที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอคีรีรัฐนิคม มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วงร้อยละ 74.86 – 75.47, 65.20 – 68.52 และ 71.30 – 72.71 ตามลำดับ โดยเมื่อนำมาคำนวณค่า IC_{50} ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดด้วยเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอคีรีรัฐนิคม มีค่าเท่ากับ 54.37 ± 0.91 , 60.57 ± 4.29 และ 57.57 ± 1.70 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และในการศึกษานี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในระดับปานกลาง ($r = 0.748$, $p < 0.01$) และพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในระดับสูง ($r = 0.915$, $p < 0.01$)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารประกอบฟีนอลิก และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหลียง เก็บตัวอย่างผักเหลียงจากพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอคีรีรัฐนิคม จังหวัดสุราษฎร์ธานี ศึกษาองค์ประกอบโดยประมาณและคุณค่าทางโภชนาการในตัวอย่างตามวิธีมาตรฐาน AOAC พบว่า ปริมาณความชื้นของตัวอย่างผักเหลียงมีค่าร้อยละ 84.72-87.52 ปริมาณเส้นใยร้อยละ 0.779-1.065 น้ำหนักสด ปริมาณใยอาหาร โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต มีค่าร้อยละ 3.06-3.81, 3.44-4.68, 0.647-1.078 และ 7.49-9.55 น้ำหนักสด ตามลำดับ สำหรับการศึกษาปริมาณแร่ธาตุในผักเหลียง ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยการย่อยในระบบไมโครเวฟ และวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุโดยเทคนิค ICP-OES ปริมาณแร่ธาตุที่พบในตัวอย่างเรียงลำดับจากมากไปน้อยเป็นดังนี้ $K > Ca > Mg > Mn > Na > Fe > Zn > Cu$ เมื่อพิจารณาปริมาณแร่ธาตุที่มีในตัวอย่างผักเหลียงกับปริมาณแร่ธาตุที่แนะนำให้ได้รับต่อวัน โดยคิดเป็นร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ได้รับต่อวัน (Daily value, %) พบว่าแร่ธาตุ Mn มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ได้รับอยู่ในระดับสูง (ร้อยละ 30.9-105.1) ในขณะที่แร่ธาตุ K, Mg, Ca, Fe, Cu และ Zn มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ได้รับในระดับที่ค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 1.0-5.2) สำหรับแร่ธาตุ Na มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ได้รับในระดับที่ต่ำมาก (0.01-0.03)

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent พบว่า สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 73.21-149.53 mg GAE/100 g น้ำหนักแห้ง ผลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในช่วง 89.01-160.70 $\mu\text{M FeSO}_4/100\text{ g}$ น้ำหนักแห้ง สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดผักเหลียงที่สกัดด้วยเอทานอล มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด โดยที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงมีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วงร้อยละ 65.20-75.47 โดยเมื่อนำมาคำนวณค่า IC_{50} ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดด้วยเอทานอลของผักเหลียงมีค่าอยู่ในช่วง 54.37-60.57 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ คุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ผักเหลียง

Abstract

The nutritional value, bioactive phenolic compounds, and antioxidant properties of *Gnetum gnemon* Linn. var. *tenerum* Markgr. were investigated in this research. The indigenous vegetable samples were randomly collected from three districts i.e., Muang, Bannasarn, and Khirirat Nikom in Surat Thani Province. The proximate composition and nutritional value of the samples were carried out according to the methods of AOAC. The moisture contents of the samples ranged from 84.72-87.52%, and the ash contents ranged from 0.779-1.065 % fresh weight. The percentage of fiber, protein, fat and carbohydrate in the edible leaves were in the range of 3.06-3.81, 3.44-4.68, 0.647-1.078 and 7.49-9.55 fresh weight, respectively. The samples were digested using a microwave system, followed by ICP-OES analysis for their mineral determinations. The amounts found in the samples, in descending order were: K > Ca > Mg > Mn > Na > Fe > Zn > Cu. Considering the amounts of minerals found in the vegetable and their recommended daily values by the US Food and Drug Administration, the daily value (DV) percentage of Mn in the samples were relatively high (30.9–105.1%), whereas K, Mg, Ca, Fe, Cu and Zn contributed from 1.0–5.2% of the daily values. The vegetable had negligible amounts of Na (0.01–0.03% of the DV).

The total phenolic content (TPC) was determined by the Folin–Ciocalteu method, and the results indicated that the TPC of the ethanol extracts of the samples ranged from 73.21-149.53 mg GAE/100 g dry weight. The antioxidant capacities of the vegetable were analyzed via Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay. The results showed that the antioxidant capacities of the ethanol extracts of the samples ranged from 89.01–160.70 μ M FeSO₄/100 g dry weight for FRAP assay. For DPPH activity, the antioxidant percentage increased by the concentration of the ethanol extracts. At the concentration of 100 mg/mL extracts, the DPPH activities ranged from 65.20–75.47%. In addition, the IC₅₀ values calculated for the DPPH radical scavenging activities of the sample extracts ranged from 54.37-60.57 mg/mL.

Keywords Nutritional value, Bioactive compounds, Antioxidant properties, *Gnetum gnemon* Linn. var. *tenerum* Markgr.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี ที่ได้สนับสนุนทุนการวิจัยโครงการ “การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหลียงในจังหวัดสุราษฎร์ธานี” และในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้รับการอนุเคราะห์จากเกษตรกรในพื้นที่อำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอคีรีรัฐนิคม จังหวัดสุราษฎร์ธานี สำหรับการให้ข้อมูลและอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างผักเหลียง และศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี สำหรับการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือ และห้องปฏิบัติการในการทำวิจัย จึงขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

กุมภาพันธ์ 2566

สารบัญ

	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	(i)
บทคัดย่อ	(iii)
Abstract	(iv)
กิตติกรรมประกาศ	(v)
สารบัญ	(vi)
สารบัญตาราง	(viii)
สารบัญภาพ	(ix)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 กรอบแนวคิด	3
1.4 สมมติฐานการวิจัย	3
1.5 ขอบเขตการวิจัย	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ต้นเหตียง	5
2.2 คุณค่าทางโภชนาการของผักเหตียง	6
2.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ	7
2.4 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	11
2.5 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	18
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี	18
3.2 การเก็บและเตรียมตัวอย่าง	20
3.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผักเหตียง	21
3.4 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ	28

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	30
บทที่ 4 ผลการวิจัย และอภิปรายผล	31
4.1 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ	31
4.2 การวิเคราะห์แร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรอง	34
4.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์	47
4.4 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหียง	49
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	56
5.1 สรุปผลการวิจัย	56
5.2 ข้อเสนอแนะ	58
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก	64
ภาคผนวก ก กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์แร่ธาตุ	65
ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์โดยใช้สถิติความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA)	68
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวม และสารต้านอนุมูลอิสระ	77

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 กลุ่มของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในอาหาร	14
3.1 รายการวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์	18
3.2 พิกัดทางภูมิศาสตร์ของจุดเก็บตัวอย่างผักเหียงในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี	21
3.3 โปรแกรมการให้ความร้อนของระบบการย่อยไมโครเวฟสำหรับวิธี EPA 3052	26
3.4 พารามิเตอร์ของเครื่อง ICP-OES ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุ	26
4.1 องค์ประกอบโดยประมาณและคุณค่าทางโภชนาการในผักเหียงที่ได้จากพื้นที่ทำการเกษตร จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักสด)	32
4.2 องค์ประกอบโดยประมาณและคุณค่าทางโภชนาการในผักเหียงที่ได้จากพื้นที่ทำการเกษตร จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	33
4.3 องค์ประกอบของแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองในผักเหียง (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด) และร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน (Daily value, %)	36
4.4 องค์ประกอบของแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองในผักเหียง (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักแห้ง)	37
4.5 ค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ของแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองที่วิเคราะห์โดยเทคนิค ICP-OES	48
4.6 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ)	49
4.7 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดผักเหียงในพื้นที่ต่าง ๆ ของจังหวัดสุราษฎร์ธานี (n = 3)	50
4.8 แสดงประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดผักเหียงในพื้นที่ต่างๆ ของจังหวัดสุราษฎร์ธานี (n = 3)	51
4.9 แสดงประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (IC50) ของสารสกัดผักเหียงในพื้นที่ต่าง ๆ ของจังหวัดสุราษฎร์ธานีเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic acid (n = 3)	53
4.10 ค่า Pearson's correlation แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างผักเหียง	55

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย	3
2.1 ต้นเหต	5
2.2 บทบาทของ ROS และ RNS ในการทำลายเนื้อเยื่อและการนำไปสู่การเกิดมะเร็ง	13
4.1 ปริมาณเฉลี่ยของโซเดียม (Na) ในผักเหตจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)	39
4.2 ปริมาณเฉลี่ยของโพแทสเซียม (K) ในผักเหตจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)	40
4.3 ปริมาณเฉลี่ยของแมกนีเซียม (Mg) ในผักเหตจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)	41
4.4 ปริมาณเฉลี่ยของแคลเซียม (Ca) ในผักเหตจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)	42
4.5 ปริมาณเฉลี่ยของเหล็ก (Fe) ในผักเหตจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)	43
4.6 ปริมาณเฉลี่ยของทองแดง (Cu) ในผักเหตจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)	44
4.7 ปริมาณเฉลี่ยของสังกะสี (Zn) ในผักเหตจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)	45
4.8 ปริมาณเฉลี่ยของแมงกานีส (Mn) ในผักเหตจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)	46
4.9 ค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition) ของสารสกัดผักเหต	52

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

จังหวัดสุราษฎร์ธานีเป็นพื้นที่ที่มีลักษณะภูมิประเทศที่อุดมสมบูรณ์ มีศักยภาพในการแข่งขันด้านการเกษตร แต่การทำเกษตรในช่วงที่ผ่านมาได้เปลี่ยนจากการผลิตเป็นอาหารเพื่อบริโภคเองมาเป็นการผลิตเพื่อการค้า โดยเน้นการเพาะปลูกพืชเชิงเดี่ยวเป็นจำนวนมาก เช่น ยางพารา ปาล์มน้ำมัน และไม้ผลต่างๆ อีกทั้งยังมีการใช้สารเคมีเพิ่มมากขึ้น ไม่ได้มุ่งเน้นการทำเกษตรแบบยั่งยืน ทำให้เกิดปัญหาหลายประการ เช่น สินค้าล้นตลาด ผลผลิตราคาต่ำ การปนเปื้อนสารเคมีของสินค้าเกษตร มลภาวะสิ่งแวดล้อม รวมทั้งปัญหาสุขภาพของเกษตรกร ดังนั้นจึงควรมีการจัดการทรัพยากรในท้องถิ่นเพื่อให้มีการทำการเกษตรอย่างยั่งยืน เน้นการผลิตพืชอาหารให้มากขึ้นกว่าการผลิตพืชพลังงาน ทำให้ราคาพืชอาหารไม่สูงเกินไป อันจะนำไปสู่ความมั่นคงทางอาหาร ทำให้ประชาชนสามารถเข้าถึงอาหารได้โดยไม่ขาดแคลน เป็นอาหารที่มีคุณภาพดี มีคุณค่าทางโภชนาการ ทำให้ผู้บริโภคสุขภาพแข็งแรงและปลอดภัย

ผักใบเขียวเป็นแหล่งอาหารคุณภาพดี อุดมไปด้วยสารอาหารสำคัญหลายชนิด มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย รวมทั้งส่งผลต่อความมั่นคงทางอาหารและโภชนาการของมนุษย์ นอกจากนี้การปลูกผักยังสามารถช่วยสร้างโอกาสทางด้านเศรษฐกิจ เป็นการช่วยลดปัญหาความยากจนและการว่างงานของประชาชนในประเทศกำลังพัฒนา (Schreinemachers, 2018) มีงานวิจัยพบว่า ปริมาณโปรตีนที่พบในผักใบเขียว เช่น ผัก Dhekishak (*Dryopteris filix-mas*) Helencha (*Enhydra fluctuans*) Kalmishak (*Ipomoea aquatica*) และ ผัก Patshak (*Corchorus capsularis*) ซึ่งเป็นผักป่าในประเทศบังคลาเทศ (Satter et al., 2016) มีในปริมาณที่ใกล้เคียงกับที่พบในถั่วเหลือง เนื้อสัตว์ ปลา รวมทั้งไข่ ทำให้ผักใบเขียวกลายเป็นแหล่งอาหารโปรตีนแหล่งหนึ่งที่ราคาไม่สูงจนเกินไป (Aletor, 2002) ผักเหลียง เป็นผักพื้นบ้านทางภาคใต้ของประเทศไทย ที่นิยมนำมาใช้ในการบริโภคกันมากขึ้น มีการเพาะปลูกร่วมในสวนยางพารา ปาล์มน้ำมัน หรือสวนไม้ผล ผักเหลียงเป็นผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและปลอดภัยจากสารพิษ มีงานวิจัยเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการของผักเหลียง พบว่าเป็นผักที่มีสารอาหารหลายชนิด ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุ รวมทั้งวิตามินต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (วีรเกียรติ, 2541 อ้างใน พีรดา, 2555; Kongkachuichai et al., 2015)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) เป็นสารที่พบในสิ่งมีชีวิตรวมถึงในอาหาร พืชผัก และผลไม้ต่างๆ ตามธรรมชาติ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในพืชผัก ผลไม้ มีมากมาย

หลายชนิด เช่น แครอทที่น้อยด พบมากในผักผลไม้ที่มีสีส้ม แดง เหลือง เช่น แครอท ฟักทอง มะละกอ ฯลฯ ไฟโตเอสโตรเจนมีลักษณะโครงสร้างคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนซึ่งพบในเนื้อเยื่อของมนุษย์พบมากในผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล เชอร์รี่ และในเมล็ดธัญพืช ซัลไฟด์เป็นสารที่มีกลิ่นฉุน พบมากในพืชที่มีกลิ่นเฉพาะตัว เช่น กระเทียม หัวหอม โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืช คือ กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีหลายชนิดและมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่เป็นพอลิเมอร์ โดยกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุด คือ สารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) (Ozcan et al., 2014) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นองค์ประกอบของสารอาหารที่มีความพิเศษ (Extra-nutritional) นั่นคือเป็นสารประกอบที่มีปริมาณน้อยในอาหารแต่ข้อมูลจากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในพืชผัก ผลไม้ หรือในอาหารอื่นๆ มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายด้าน เช่น ช่วยต่อต้านการเสื่อมสภาพของร่างกาย ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน และมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหารที่รับประทานเข้าไปเพิ่มเติม เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน รวมทั้งสารประกอบประเภทฟีนอลิกซึ่งพบมากในผักและผลไม้ จะเป็นการช่วยชะลอความแก่และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และโรคเบาหวาน เป็นต้น (ศรมน สุทิน, 2559; Khoo et al., 2017; Sultanbawa and Sivakumar, 2022)

ผักและผลไม้เป็นแหล่งของสารอาหารและสารพฤกษเคมีหลายชนิด ซึ่งรายงานการวิจัยเป็นจำนวนมาก (เอกราช บำรุงพีชน, 2563; Khoo et al., 2017; Arias et al., 2022; Sik et al., 2022) พบว่าสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ที่พบในพืชมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) ซึ่งมีความสัมพันธ์ในการช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังชนิดต่างๆ (วรานนท์ ทองอินลา และคณะ, 2557) โดยผักเหลียงเป็นผักท้องถิ่นที่สำคัญในภาคใต้ของประเทศไทยและเป็นผักพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่นิยมบริโภคในจังหวัดสุราษฎร์ธานีทั้งในรูปแบบของการบริโภคสดเป็นผักเหนาะ หรือใช้ประกอบเป็นอาหารคาว อย่างไรก็ตาม การศึกษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระของพืชผักพื้นบ้านยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด รวมถึงในด้านการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน

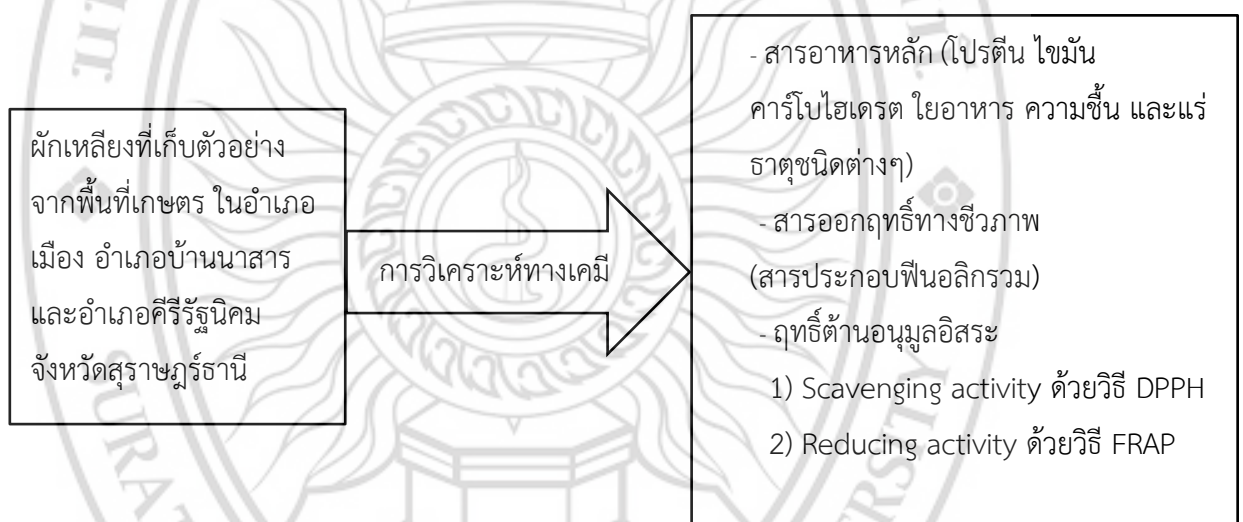
ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของผักเหลียง ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพประเภทสารประกอบฟีนอลิก และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในผักเหลียงที่ปลูกและบริโภคในท้องถิ่นจังหวัดสุราษฎร์ธานี เพื่อเป็นข้อมูลด้านคุณค่าทางโภชนาการของผักเหลียงซึ่งเป็นผักพื้นบ้านทางภาคใต้ สำหรับการนำพืชผักพื้นบ้านในท้องถิ่นมาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและใช้ประโยชน์ในการแนะนำการบริโภคในชุมชนเพื่อการป้องกันและ

รักษาโรคเรื้อรังต่อไปในอนาคต รวมทั้งเป็นแนวทางในการจัดการทรัพยากรในท้องถิ่นเพื่อให้มีการทำการเกษตรอย่างยั่งยืน นำไปสู่ความมั่นคงทางอาหาร ทำให้ประชาชนสามารถเข้าถึงอาหารคุณภาพดีได้โดยไม่ขาดแคลน ทำให้ผู้บริโภคสุขภาพแข็งแรงและปลอดภัย

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของผักเหียงที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี
2. เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเหียง

1.3 กรอบแนวคิด



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดการวิจัย

1.4 สมมติฐานการวิจัย

1. ผักเหียงในท้องถิ่นจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งประกอบด้วยสารอาหารหลัก ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โยอาหาร ความชื้น และแร่ธาตุชนิดต่างๆ
2. ผักเหียงในท้องถิ่นจังหวัดสุราษฎร์ธานีมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ
3. ผักเหียงในท้องถิ่นจังหวัดสุราษฎร์ธานีที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณสูง จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น

1.5 ขอบเขตการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างผักเหียงจากพื้นที่ที่มีลักษณะภูมิประเทศแตกต่างกัน ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ได้แก่ อำเภอเมือง (ภูมิประเทศเป็นที่ราบชายฝั่งทะเล) อำเภอบ้านนาสาร (ภูมิประเทศเป็นที่ราบสลับกับเนินเขา) และอำเภอกีรีรัฐนิคม (ภูมิประเทศเป็นที่ราบสูงภูเขา)
2. คุณค่าทางโภชนาการที่ศึกษา ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน โยอาหาร ใยอาหาร แลคาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรอง
3. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผักเหียงที่ศึกษา คือ สารฟีนอลิกรวม
4. การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหียง ใช้วิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) และวิธี DPPH (2, 2 Diphenyl -1- picrylhydrazyl radical scavenging activity)
5. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ คือ Flame-Atomic Absorption Spectrometer (FAAS) หรือ Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้เกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหียงที่ปลูกในพื้นที่เกษตรของจังหวัดสุราษฎร์ธานี และตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในระดับชาติหรือนานาชาติ
2. นำข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการของผักเหียง ข้อมูลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหียง ไปใช้ในการให้ความรู้ทางด้านโภชนาการแก่ผู้บริโภค

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นเหลียง

ต้นเหลียง เป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 2-4 เมตร (ภาพที่ 2.1) พืชชนิดนี้โดยธรรมชาติมักชอบขึ้นในป่าที่ค่อนข้างสมบูรณ์ มีความชื้นสูง ไม่ชอบแดดจัด ไม่มีโรคและแมลงมารบกวน มักปลูกร่วมในสวนยางพาราหรือสวนไม้ผล จัดเป็นพืชชั้นต่ำ มีแต่เมล็ดแต่ไร้ดอก ใบมีสีเขียวสดเมื่ออยู่ในที่ร่มเงา และสีจะจางลงเมื่ออยู่ในที่โล่งที่ได้รับแสงจ้า มีใบเรียวยาว ปลายใบแหลม ขนาดยาว 10-20 เซนติเมตร กว้าง 4-10 เซนติเมตร (อุบลวรรณ, 2539) อยู่ในวงศ์ Gnetaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Gnetum gnemon* Linn. var. *tenerum* Markgr. เป็นพรรณไม้อยู่ในวงศ์มะเฝือ (Family Gnetaceae) มีชื่อท้องถิ่นหลายชื่อดังนี้ ผักเหลียง (ชุมพร ระนอง ประจวบคีรีขันธ์) ผักเหมียง (พังงา ภูเก็ต กระบี่) ผักเหลียง (สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช) ผักกระเหรียง (ชุมพร) (พิรดา, 2555) พบมากในบริเวณภาคใต้ตอนบน ได้แก่ พังงา ระนอง ชุมพร และ สุราษฎร์ธานี มีการนำส่วนที่เป็นยอดหรือใบอ่อนมาใช้ในการบริโภค มีรสชาติดี หวาน มีรสมันเล็กน้อย และไม่มีรสขมเหมือนผักใบเขียวบางชนิด นำมาบริโภคได้ทั้งที่เป็นผักสด และนำมาทำเป็นอาหารได้หลายชนิด เช่น ผักเหลียงผัดไข่ ต้มกะทิ แกงเลียง แกงส้ม หรือใช้ใบรองห่อหมก



ภาพที่ 2.1 ต้นเหลียง

2.2 คุณค่าทางโภชนาการของผักเหลียง

ผักเหลียงเป็นผักพื้นบ้านภาคใต้ ผักพื้นบ้านเป็นพืชหรือพรรณไม้พื้นเมืองที่ชาวบ้านในท้องถิ่นนั้นๆ นำมาบริโภคเป็นอาหารหรือใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น ใช้เป็นยาสมุนไพร ฯลฯ โดยพืชผักเหล่านี้อาจได้มาจากแหล่งธรรมชาติ เช่น ป่าเขา ป่าละเมาะ หนองบึง หรือธารน้ำ หรือชาวบ้านอาจนำมาปลูกไว้เองภายในบริเวณบ้าน นอกจากผักพื้นบ้านจะมีความสำคัญต่อวิถีชีวิตของคนในชุมชนนั้นๆ แล้ว ผักพื้นบ้านยังอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นสารอาหารประเภทวิตามิน เกลือแร่ และใยอาหาร ที่มีความจำเป็นอย่างมากต่อการทำงานของร่างกายมนุษย์ ประกอบกับ ในพืชผักเหล่านี้ยังมีส่วนประกอบของสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) หลายชนิด ที่สำคัญในพืชผักใบเขียว คือ กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่เป็นพอลิเมอร์ โดยกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบมาก คือ สารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งพบว่าเป็นกลุ่มของสารที่มีความสำคัญในการช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังหลายชนิด สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่สำคัญ ได้แก่ แอนโธไซยานิน (Anthocyanins) ที่พบในผลไม้กลุ่มเบอร์รี่, โปรแอนโธไซยานิดิน (Proanthocyanidins) ในชาเขียว, เควอร์เซติน (Quercetin) ในเปลือกองุ่น หัวหอม กะหล่ำ และผักกาดหอม เป็นต้น (วินัย ตะห์ลัน และคณะ, 2544)

ภาคใต้ของประเทศไทยเป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ด้านการเกษตร รวมถึงมีความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ทำให้มีความหลากหลายด้านวัฒนธรรมในการบริโภคของแต่ละพื้นที่ ทั้งนี้เนื่องจากสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน เป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ในการประกอบอาหาร ผักเหลียงเป็นพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์เกี่ยวข้องกับวิถีชีวิตคนไทยในภาคใต้มาช้านานจนกระทั่งปัจจุบัน ไม่ว่าจะเป็นการใช้ประโยชน์ด้านอาหาร ยารักษาโรค ด้านนันทนาการ ปลูกเป็นผักสวนครัว เป็นต้น โดยวัฒนธรรมการรับประทานอาหารของคนในภาคใต้จะมีลักษณะโดดเด่น คือ ชาวได๋นิยมบริโภคผักเหนาะ ซึ่งจัดมากับมื้ออาหารทุกมื้อในครัวเรือนของชาวได๋ ใน 3 ลักษณะคือ 1) บริโภคในลักษณะเป็นผักสด 2) บริโภคในลักษณะลวก (อาจลวกด้วยน้ำร้อนหรือลวกกะทิ) และ 3) บริโภคในลักษณะเป็นผักดอง โดยผักเหนาะที่คนได๋นิยมบริโภคร่วมกับอาหารในแต่ละวัน ส่วนใหญ่เป็นผักพื้นบ้านที่สามารถหาได้ในท้องถิ่น เช่น สะตอ กระถิน ผักชีล้อม ใบบัวบก ยอดมันปู ฯลฯ โดยผักเหลียงเป็นผักพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่นิยมรับประทานเป็นผักเหนาะในภาคใต้ รวมถึงในจังหวัดสุราษฎร์ธานี (อบเชย วงศ์ทอง, 2542) ผักเหลียงเป็นผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและปลอดภัยจากสารพิษ มีงานวิจัยเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการของผักเหลียง พบว่าเป็นผักที่มีสารอาหารสำคัญหลายชนิด มีแร่ธาตุและวิตามินต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (วีรเกียรติ, 2541 อ่างโน ไพฑูริย์, 2555) และมี

รายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับคุณค่าทางโภชนาการของผักเหียงที่ปลูกในภาคใต้ของประเทศไทย พบว่า มีปริมาณของโปรตีน (4.23 g/100g) ไขมัน (0.58 g/100g) คาร์โบไฮเดรต (8.51 g/100g) แคลเซียม (35.15 mg/100g) โพแทสเซียม (297.29 mg/100g) ฟอสฟอรัส (72.7 mg/100g) แมกนีเซียม (28.00 mg/100g) เหล็ก (0.40 mg/100g) ซึ่งอยู่ในระดับเล็กน้อยถึงปานกลาง ในขณะที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ดังนี้ เบต้าแคโรทีน (404.52 μ g/100g) ลูทีน (6731.17 μ g/100g) ปริมาณโพลีฟีนอลรวม (253.45 mg GAE/100g) วิตามินซี (109.43 mg AA/100g) และ วิตามินอี (1.33 mg/100g) (Kongkachuichai et al., 2015) รวมถึงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์โดยวิธี FRAP (430.83 ± 203.20 μ mol TE/100g ในฤดูร้อน และ 883.80 ± 89.66 μ mol TE/100g ในฤดูฝน) (กามีละห์ ยะโกะ, 2560)

2.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

2.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ความชื้นคือปริมาณสารที่ระเหยได้ทั้งหมดเมื่อให้ความร้อนที่ 100-105 °C ซึ่งส่วนใหญ่เป็น น้ำ น้ำในตัวอย่างพืชผักมี 3 ลักษณะคือ Bound Water, Adsorbed Water และ Free Water ในการวิเคราะห์หาความชื้นโดยการให้ความร้อนแก่ตัวอย่าง น้ำที่สูญเสียไปจะเป็น Free Water ส่วน Bound Water และ Adsorbed Water จะเกาะติดกับโมเลกุลของตัวอย่าง ปัจจัยที่มีผลต่อการระเหยของน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ให้ความร้อนแก่สารตัวอย่าง ในการเลือกสภาวะการระเหยน้ำที่เหมาะสมจะต้องคำนึงถึงการสลายตัว (Decomposition) ของสารตัวอย่างด้วย

วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์คือการวัดปริมาณความชื้นที่หายไปโดยการใช้เตาอบเพื่อการทำให้แห้ง แต่เป็นวิธีการที่ต้องใช้เวลานาน จึงอาจใช้เครื่องวัดความชื้นแทนได้ เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่รวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ และเชื่อถือได้

มีรายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณความชื้นในผักเหียงและผักชนิดต่างๆ 15 ชนิด เช่น ยอดมันปู ผักกูด ผักชีล้อม ยอดและผลมะม่วงหิมพานต์ เป็นต้น พบว่า ปริมาณความชื้นมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 77.5 – 93.9 (Kongkachuichai et al., 2015) ในตัวอย่างผักโขม (*Amaranthus blitum*) มีความชื้นร้อยละ 79 – 82 (Sarker and Oba, 2020) ในตัวอย่างผักพื้นเมือง 12 สายพันธุ์ที่พบได้ตามธรรมชาติบริเวณป่าดิบเขาและป่ารกร้างที่ไม่ได้ทำการเพาะปลูกในหมู่บ้านชาวเขาเผ่ากะเหรี่ยงและเผ่าละว้า อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีความชื้นร้อยละ 62.9 – 95.3 (Punchay et al., 2020) และในตัวอย่างผักพื้นเมือง 5 ชนิด ที่นิยมบริโภคในประเทศบังคลาเทศ พบว่ามีความชื้นร้อยละ 86.8 – 94.4 (Satter et al., 2016)

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

เถ้าคือสารอนินทรีย์ในตัวอย่างที่เหลืออยู่ภายหลังจากการเผาไหม้หรือจากการทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบอินทรีย์อย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิสูง วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าทั้งหมดคือ การวิเคราะห์เถ้าแห้ง (Dry ashing) ซึ่งเป็นวิธีที่ปลอดภัย ไม่ต้องใช้สารเคมี สามารถวิเคราะห์พร้อมกันได้ครั้งละหลายตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์โดยการนำตัวอย่างไปเผาในเตาเผา (Muffle furnace) ที่อุณหภูมิประมาณ 500-600 °C ทำให้น้ำและสารที่ระเหยกลายเป็นไอ และสารประกอบอินทรีย์ถูกเผาไหม้กลายเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และสารประกอบออกไซด์อื่นๆ

มีรายงานผลการศึกษาปริมาณเถ้าในตัวอย่างผักโขม (*Amaranthus blitum*) พบว่ามีปริมาณเถ้าร้อยละ 3.79 (Sarker and Oba, 2020) ในตัวอย่างผักพื้นเมือง 12 สายพันธุ์ที่พบได้ตามธรรมชาติบริเวณป่าดิบเขาและป่ากร้างที่ไม่ได้ทำการเพาะปลูกในหมู่บ้านชาวเขาเผ่ากะเหรี่ยงและเผ่าละว้า อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีปริมาณเถ้าร้อยละ 0.8 – 4.0 (Punchay et al., 2020) และในตัวอย่างผักพื้นเมือง 5 ชนิด ที่นิยมบริโภคในประเทศบังคลาเทศ พบว่ามีปริมาณเถ้าร้อยละ 8.7 – 13.3 (Satter et al., 2016)

2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร

ใยอาหารแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ เยื่อใยที่ละลายน้ำ (Soluble fiber) และเยื่อใยที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble fiber) การวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน AOAC (Latimer, 2016) ทำโดยการย่อยตัวอย่างด้วยสารละลายกรดและด่างแล้วนำส่วนที่เหลือจากการย่อยไปอบและเผา แล้วคำนวณหาปริมาณเยื่อใยอาหารได้จากส่วนที่หายไปจากการเผากลายเป็นเถ้า

มีรายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณใยอาหารในตัวอย่างผักโขม (*Amaranthus blitum*) พบว่ามีปริมาณใยอาหาร 76.6 ไมโครกรัมต่อกรัม (Sarker and Oba, 2020) ในตัวอย่างผักพื้นเมือง 12 สายพันธุ์ที่พบได้ตามธรรมชาติบริเวณป่าดิบเขาและป่ากร้างที่ไม่ได้ทำการเพาะปลูกในหมู่บ้านชาวเขาเผ่ากะเหรี่ยงและเผ่าละว้า อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีปริมาณใยอาหารร้อยละ 0.8 – 11.8 (Punchay et al., 2020) และในตัวอย่างผักพื้นเมือง 5 ชนิด ที่นิยมบริโภคในประเทศบังคลาเทศ พบว่ามีปริมาณใยอาหารร้อยละ 9.3 – 17.7 (Satter et al., 2016)

2.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างอาหาร ส่วนใหญ่ใช้วิธี Kjeldahl ซึ่งมี 3 ขั้นตอน คือ การย่อย (Digestion) การกลั่น (Distillation) และการไทเทรต (Titration) ทำได้โดยการนำตัวอย่างไปย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นเพื่อเปลี่ยนไนโตรเจนไปเป็นเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วจึงนำไปทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อกลั่นเป็นแก๊สแอมโมเนีย แก๊สที่ได้นี้จะทำปฏิกิริยากับกรดบอริก

ปริมาณมากเกินพอได้เป็นแอมโมเนียมบอเรต หลังจากนั้นจึงนำไปไทเทรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่าง จึงต้องทำค่าที่วิเคราะห์ได้ไปคำนวณเป็นปริมาณโปรตีน โดยการนำไปคูณกับค่าแฟกเตอร์ของโปรตีน

นอกจากวิธี Kjeldahl แล้ว การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนสามารถใช้วิธี Combustion Method โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ซึ่งประกอบด้วย เตาเผา (Furnace) เพื่อเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 950 °C ภายใต้บรรยากาศของแก๊สออกซิเจนบริสุทธิ์ (99.9%) ระบบแยกแก๊สไนโตรเจน (Isolation system) เพื่อแยกแก๊สไนโตรเจนออกจากแก๊สอื่นๆ ที่เกิดจากการเผาไหม้ตัวอย่าง และระบบตรวจวัดแก๊สไนโตรเจน (Detection system) เพื่อตรวจวัดปริมาณแก๊สออกซิเจนที่ได้จากการเผาไหม้ตัวอย่าง วิธีนี้มีความแม่นยำสูง เนื่องจากมีขั้นตอนในการสอบเทียบสารมาตรฐานที่มีองค์ประกอบของไนโตรเจนโดยระบบตรวจวัด

มีรายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณโปรตีนในผักเคลียงและผักชนิดต่างๆ 15 ชนิด เช่น ยอดมันปู ผักกูด ผักชีล้อม ยอดและผลมะม่วงหิมพานต์ พบว่า มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 1.2 – 8.2 (Kongkachuichai et al., 2015) ในตัวอย่างผักโขม (*Amaranthus blitum*) มีโปรตีนร้อยละ 3.5 (Sarker and Oba, 2020) ในตัวอย่างผักพื้นเมือง 12 สายพันธุ์ที่พบได้ตามธรรมชาติบริเวณป่าดิบเขาและป่ารกร้างที่ไม่ได้ทำการเพาะปลูกในหมู่บ้านชาวเขาเผ่ากะเหรี่ยงและเผ่าละว้า อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีโปรตีนร้อยละ 0.5 – 4.8 (Punchay et al., 2020) และในตัวอย่างผักพื้นเมือง 5 ชนิด ที่นิยมบริโภคในประเทศบังคลาเทศ มีโปรตีนร้อยละ 4.6 – 22.0 (Satter et al., 2016)

2.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

ไขมันเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีอยู่ในพืชและสัตว์ มีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ จึงสามารถใช้สารสกัด เช่น ปีโตรเลียมอีเทอร์ เอทิลอีเทอร์ ไดคลอโรมีเทน เฮกเซน และคลอโรฟอร์ม เพื่อแยกไขมันในตัวอย่างออกมา ปริมาณไขมันที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) จะเรียกว่า Crude fat ซึ่งมีทั้งส่วนที่เป็นไขมัน (กลีเซอไรด์ของกรดไขมัน กรดไขมันอิสระ สเตอรอล เลซิติน) และสารคล้ายไขมันซึ่งตัวทำละลายสามารถสกัดออกมาได้ เช่น รงควัตถุ ไซ วิตามินที่ละลายในไขมัน ซึ่งส่วนที่ไม่ใช่ไขมันนี้มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับไขมัน อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดอาจใช้ชุด Soxhlet apparatus หรือเครื่องสกัดไขมันแบบระบบอัตโนมัติ ซึ่งมีระบบเติมตัวทำละลาย มีโปรแกรมควบคุมการทำงาน มีระบบแจ้งเตือนเมื่อเสร็จสิ้นในแต่ละขั้นตอน ทำให้สะดวกและปลอดภัยในการทำงานมากขึ้น

ผลการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับปริมาณไขมันในผักเคลียงและผักชนิดต่างๆ 15 ชนิด เช่น ยอดมันปู ผักกูด ผักชีล้อม ยอดและผลมะม่วงหิมพานต์ พบว่า มีปริมาณไขมันไม่เกินร้อยละ 4.36

(Kongkachuichai et al., 2015) ในตัวอย่างผักโขม (*Amaranthus blitum*) มีปริมาณไขมันร้อยละ 0.28 (Sarker and Oba, 2020) ในตัวอย่างผักพื้นเมือง 12 สายพันธุ์ที่พบได้ตามธรรมชาติบริเวณป่าดิบเขาและป่ากร้างที่ไม่ได้ทำการเพาะปลูกในหมู่บ้านชาวเขาเผ่ากะเหรี่ยงและเผ่าละว้า อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ มีไขมันร้อยละ 0.1 – 0.8 (Punchay et al., 2020) และในตัวอย่างผักพื้นเมือง 5 ชนิด ที่นิยมบริโภคในประเทศบังคลาเทศ พบว่ามีไขมันร้อยละ 1.5 – 4.8 (Satter et al., 2016)

2.3.6 การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณ (Proximate analysis) ของตัวอย่าง จะใช้วิธีการคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต หลังจากได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน และ เถ้า โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total carbohydrate) จะเป็นผลต่างที่ได้จากการหักปริมาณที่วิเคราะห์เหล่านี้ ดังสมการนี้

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (\% \text{ Moisture} + \% \text{ Protein} + \% \text{ Fat} + \% \text{ Ash})$$

มีรายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตในผักเหลียงและผักชนิดต่างๆ 15 ชนิด เช่น ยอดมันปู ผักกูด ผักชีล้อม ยอดและผลมะม่วงหิมพานต์ พบว่า มีคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 1.3 – 16.8 (Kongkachuichai et al., 2015) ในตัวอย่างผักโขม (*Amaranthus blitum*) มีคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 7.1 (Sarker and Oba, 2020) ในตัวอย่างผักพื้นเมือง 12 สายพันธุ์ที่พบได้ตามธรรมชาติบริเวณป่าดิบเขาและป่ากร้างที่ไม่ได้ทำการเพาะปลูกในหมู่บ้านชาวเขาเผ่ากะเหรี่ยงและเผ่าละว้า อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 1.5 – 17.9 (Punchay et al., 2020) และในตัวอย่างผักพื้นเมือง 5 ชนิด ที่นิยมบริโภคในประเทศบังคลาเทศ พบว่ามีคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 52.8 – 76.3 (Satter et al., 2016) จะเห็นได้ว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตในผักชนิดต่างๆ มีความแตกต่างกันมากตั้งแต่ในช่วงร้อยละ 1.3 – 76.3

2.3.7 การวิเคราะห์แร่ธาตุ

ในการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่าง จำเป็นต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อให้แมทริกซ์ (Matrix) ของสารตัวอย่างเกิดการสลายตัว (Decomposition) ให้แร่ธาตุมาอยู่ในสารละลายแล้วจึงนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ต่างๆ เช่น Atomic Absorption Spectrometry (AAS), Atomic Emission Spectrometry (AES), Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) เป็นต้น ยกเว้นกรณีที่วิเคราะห์โดยอาศัยเทคนิคอื่นๆ ที่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นของแข็งได้โดยตรง เช่น เทคนิค X-ray Fluorescence Spectroscopy

การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์แร่ธาตุ โดยทั่วไปสามารถทำได้ 3 วิธี ได้แก่ 1. Dry Ashing 2. Acid Digestion และ 3. Fusion วิธี Acid Digestion เป็นวิธีที่มีการนำไปใช้กันมากที่สุด (Dean, 2003) การย่อยด้วยกรด (Acid Digestion) เป็นการย่อยโดยใช้กรดและความร้อนในการทำให้แมทริกซ์ของตัวอย่างสลายตัว การเลือกใช้กรดชนิดใดหรือส่วนผสมระหว่างกรดชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะของแมทริกซ์ของสารตัวอย่างที่ต้องการสลายตัว เช่น ถ้าต้องการย่อยตัวอย่างที่มีซิลิกาเป็นองค์ประกอบต้องใช้กรดไฮโดรฟลูออริก (HF) ส่วนกรดไนตริกสามารถใช้ย่อยตัวอย่างชีวสาร (Biological samples) ได้ดี การย่อยด้วยกรดมี 2 แบบ คือ การย่อยแบบดั้งเดิมโดยใช้แผ่นความร้อน (Hotplate หรือ Heating block) และการใช้เตาไมโครเวฟ การย่อยด้วยระบบไมโครเวฟเป็นที่นิยมใช้มากขึ้นเนื่องจากมีความสะดวกและรวดเร็ว ไม่ทำให้เกิดปัญหาการสูญหายไปของธาตุที่ระเหยเป็นไอได้เนื่องจากสามารถกระทำได้ในระบบปิดนอกจากนี้ยังช่วยลดการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นในการวิเคราะห์ เนื่องจากการใช้ปริมาณกรดน้อยลงและทำการย่อยในระบบปิด

2.4 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) เป็นสารที่พบในสิ่งมีชีวิตรวมถึงในอาหาร พืชผัก และผลไม้ต่างๆ ตามธรรมชาติ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในพืชผัก ผลไม้ มีมากมายหลายชนิด เช่น แคโรทีนอยด์ พบมากในผัก ผลไม้ที่มีสีส้ม แดง เหลือง เช่น แครอท ฟักทอง มะละกอ ฯลฯ ไฟโตเอสโตรเจนมีลักษณะโครงสร้างคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนซึ่งพบในเนื้อเยื่อของมนุษย์ พบมากในผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล เชอร์รี่ และในเมล็ดธัญพืช ซัลไฟด์เป็นสารที่มีกลิ่นฉุน พบมากในพืชที่มีกลิ่นเฉพาะตัว เช่น กระเทียม หัวหอม โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืช คือ กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีหลายชนิด และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่เป็นพอลิเมอร์ กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดคือสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ (Ozcan et al., 2014) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นองค์ประกอบของสารอาหารที่มีความพิเศษ (Extra-nutritional) นั่นคือเป็นสารประกอบที่มีปริมาณน้อยในอาหารแต่ข้อมูลจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในพืชผัก ผลไม้ หรือในอาหารอื่นๆ มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายด้าน เช่น ช่วยต่อต้านการเสื่อมสภาพของร่างกาย ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน และมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหารที่รับประทานเข้าไปเพิ่มเติม เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน รวมทั้งสารประกอบประเภทฟีนอลิกซึ่งพบมากในผักและผลไม้ จะเป็นการช่วยชะลอความแก่และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และโรคเบาหวาน เป็นต้น

2.5 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

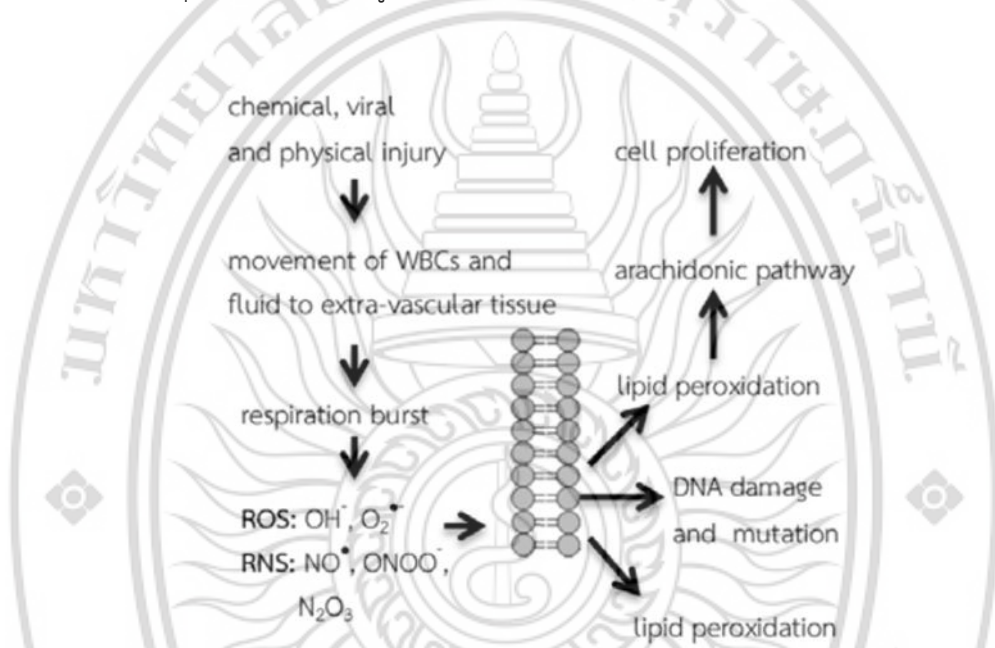
อนุมูลอิสระหมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อมและในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือจากกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยอนุมูลอิสระเหล่านี้เมื่อเกิดขึ้นแล้วสามารถทำลายชีวโมเลกุล ทั้งภายในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เช่น ไขมัน โปรตีน เอนไซม์ ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ คาร์โบไฮเดรต เซลล์เมมเบรน คอลลาเจน และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เซลล์ตาย และ/หรือเกิดการทำลายดีเอ็นเอภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเชื่อว่าเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ได้แก่ โรคชรา โรคมะเร็ง โรคหัวใจขาดเลือด โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน (บุหลัน พันธุ์สวรรณ, 2556) โดยในภาวะปกติ ร่างกายของคนเราจะมีระบบการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระ โดยการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาภายในร่างกาย เพื่อควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระในร่างกายให้อยู่ในภาวะที่สมดุล แต่อย่างไรก็ตาม การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอก เช่น จากอาหารที่รับประทานเข้าไปเพิ่มเติม เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน รวมทั้งสารประกอบประเภทฟีนอลิก ซึ่งพบมากในผักและผลไม้ ซึ่งมีรายงานว่าจะเป็นการช่วยชะลอความแก่และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ได้มากขึ้น ได้แก่ โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และโรคเบาหวาน เป็นต้น

อนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ

- (1) กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (Reactive oxygen species; ROS) ซึ่งสร้างจากไมโทคอนเดรีย โดยกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron transport chain, ETC) และระบบของหลอดเลือดที่มีความผิดปกติ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลซูเปอร์ ออกไซด์แอนไอออน (Superoxide anion radical, $O_2^{\cdot-}$) อนุมูลเปอร์ออกซิล (Peroxyl radical, $ROO^{\cdot}$) อนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical, $^{\cdot}OH$) และอนุมูลไฮโดรเปอร์ออกซิล (Hydroperoxyl radical, $HOO_2^{\cdot}$) เป็นต้น
- (2) กลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ (Reactive chlorine species; RCS) ตัวอย่างเช่น อนุมูลคลอรีน (Chlorine radical, $Cl^{\cdot}$) และกรดไฮโปคลอรัส (Hypochlorous acid, $HOCl$)
- (3) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (Reactive nitrogen species; RNS) ตัวอย่างเช่น อนุมูลไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide radical, $NO^{\cdot}$) อนุมูลไนโตรเจนไดออกไซด์ (Nitrogen dioxide radical, $NO_2^{\cdot}$, NO^+) และ By-product ของ Nitric oxide เช่น Nitrate (NO_3^-), Nitrite (NO_2^-), Peroxynitrite ($ONOO^{\cdot}$) (ศรมน สุทิน, 2559)

บทบาทสำคัญของ ROS และ RNS เกี่ยวข้องในกระบวนการอักเสบจากสาเหตุการติดเชื้อ การสูบบุหรี่ หรือได้รับสิ่งกระตุ้นอื่น ๆ เช่น สารพิษ (toxins) ยาบางชนิด ทำให้เม็ดเลือดขาวเคลื่อนที่ไปยัง Extra vascular tissue ทำให้เกิด Cell proliferation และ Tissue repair regeneration โดยที่อนุมูลอิสระทั้งรูป ROS และ RNS ไปมีผลทำลายโครงสร้างของลิพิด โปรตีน บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์

(Plasma membrane) และทำลายโครงสร้างของดีเอ็นเอ เกิดการกระตุ้น Transcription factors ผ่าน Signal transduction pathways เช่น Mitogen-activated protein kinase (MAPK) และ Protein kinase C (PKC) ทำให้เกิดอนุมูลอิสระอย่างต่อเนื่อง และการเกิดความไม่สมดุลกับสารต้านออกซิเดชัน ทำให้เกิดภาวะ Oxidative stress นำไปสู่การทำลายโครงสร้างของสารพันธุกรรมเกิดการตายของเซลล์ (Apoptosis) หรือเซลล์ถูกกระตุ้นให้เพิ่มจำนวนมากเกิดมะเร็ง ดังแสดงในภาพที่ 2.2 ทำให้กระทบต่อคุณภาพชีวิตนำไปสู่การเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ



ภาพที่ 2.2 บทบาทของ ROS และ RNS ในการทำลายเนื้อเยื่อและการนำไปสู่การเกิดมะเร็ง (อนงนาฏ ไพนุงศ์, 2560)

ดังนั้น โดยปกติในร่างกายระดับเซลล์ของมนุษย์ จะมีกลไกในการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้สมดุลเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย แต่หากกลไกนี้เกิดความผิดปกติจะส่งผลนำไปสู่ภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากเกินไปอันเป็นต้นเหตุทำให้เกิดโรคต่างๆ ขึ้นได้ โดยกลไกในการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระในร่างกายที่สำคัญ คือ

(1) การใช้เอนไซม์ที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อจับกับอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase; SOD) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($O_2^{\cdot-}$) ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2), เอนไซม์คาตาเลส (Catalase; CAT) ทำหน้าที่เร่งการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและออกซิเจน, เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase; GPx) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของสารประกอบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เช่น ลิพิดเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ฯลฯ แต่อย่างไรก็ตาม

ร่างกายมักสร้างเอนไซม์เหล่านี้ได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการ เซลล์จึงเกิดการบาดเจ็บ และเมื่อคนเรามีอายุมากขึ้น การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระจะลดลง ในขณะที่อัตราการเกิดอนุมูลอิสระยังเท่าเดิม ผลที่ตามมาคือ ทำให้เกิดโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น (ศรมน สุทิน, 2559)

(2) การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหาร ซึ่งเป็นอีกทางเลือกที่สำคัญในการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ซึ่งเชื่อว่าจะมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องได้ โดยสารสำคัญที่มีอยู่ในอาหารที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้มีอยู่หลากหลายชนิด ประกอบด้วยสารอาหารในกลุ่มวิตามิน เช่น วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี ฯลฯ รวมถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารไฟโตนิวเทรียนท์ที่พบในผักผลไม้ชนิดต่างๆ เช่น สารประกอบฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ และฟีนอลิก เป็นต้น สารพฤกษเคมีจะทำให้พืชผักและผลไม้มีกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัว ในปัจจุบัน มีการค้นพบสารพฤกษเคมีในพืชหลากหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Pranprawit et al., 2015) ช่วยป้องกันการเกิดโรคโดยเฉพาะโรคมะเร็ง (Turati et al., 2015) ช่วยในการชะลอวัย บำรุงผิวพรรณ (Hernandez et al., 2020) ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันโรค และควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน เป็นต้น ตัวอย่างสารพฤกษเคมีที่พบในอาหารและประโยชน์ของสารพฤกษเคมี ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 กลุ่มของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในอาหาร

สี	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	อาหารที่พบ	ประโยชน์ต่อร่างกาย
สีแดง	ไลโคปีน (Lycopene)	มะเขือเทศ	ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็งต่อมลูกหมาก
	เอลลาจิกแอซิด (Ellagic acid)	ทับทิม	ลดความดันโลหิต ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด
สีเหลือง/ส้ม	เบต้าแคโรทีน (Beta-carotene)	แครอท ตำลึง	ส่งเสริมสุขภาพดวงตา ระบบภูมิคุ้มกัน บำรุงผิวพรรณ
	ลูทีนและซีแซนทีน (Lutein and Zeaxanthin)	ข้าวโพด	ป้องกันความเสื่อมของจอประสาทตา
	เฮสเพอริดิน (Hesperidin)	ส้ม	ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด

ตารางที่ 2.1 กลุ่มของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในอาหาร (ต่อ)

สี	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	อาหารที่พบ	ประโยชน์ต่อร่างกาย
สีเขียว	ไอโซไทโอไซยาเนท (Isothiocyanate)	คะน้า กะหล่ำ	ป้องกันโรคมะเร็งต่างๆ
	เอพิغالโลคาเทชิน-3-กัลเลต (Epigallocatechin-3-gallate : EGCG)	ชาเขียว	ลดไขมันสะสมในร่างกาย เพิ่มภูมิคุ้มกัน ป้องกันมะเร็ง
สีม่วง	แอนโธไซยานิน (Anthocyanin)	องุ่น กระเจี๊ยบ ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่	บำรุงสายตา ผิวพรรณ ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด
	เรสเวอราทรอล (Resveratrol)	องุ่น บลูเบอร์รี่	ช่วยชะลอวัย ป้องกัน โรคหัวใจและหลอดเลือด
สีขาว	อัลลิซิน (Allicin)	กระเทียม	ลดไขมันในเลือด ลดความดัน โลหิต ป้องกันโรคหลอดเลือด แดงแข็งตัว
	เคอร์เซติน (Quercetin)	แอปเปิ้ล หัวหอม	ลดความดันโลหิต เสริมสร้าง ภูมิคุ้มกัน
	แพลนท์ สแตนอล (Plant stanol)	ข้าวโพด ข้าวสาลี	ลดไขมันชนิด LDL

ที่มา : เอกราช บำรุงพืชน (2563)

วิธีวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่าง โดยวิธีที่นิยม ได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH[•]) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS^{•+}) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวเหล่านี้จะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจโดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสงสารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้เช่น ABTS^{•+} และDPPH[•] การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน เช่น Trolox, Vitamin C และ Ferrous sulfate

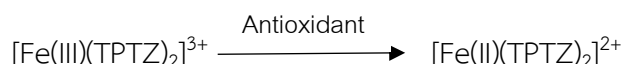
ในการศึกษาวิจัยนี้ จะใช้วิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP assay เนื่องจากวิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง สามารถทำซ้ำได้และให้ผลเหมือนเดิม รวมทั้งเป็นวิธีเบื้องต้นที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร โดยหลักการในการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธี มีดังนี้

2.5.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (Diphenyl-picrylhydrazyl radical scavenging assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารอนุมูลอิสระดีฟีพีเอช (DPPH[•]) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว มีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH[•] ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล จะทำให้สีม่วงจางลงจนเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และคำนวณหาประสิทธิภาพของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงจากการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ดังแสดงในสมการ



ข้อดีของการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH นี้คือ สามารถทำได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว โดยมีข้อเสีย คือ DPPH[•] ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริงจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้มีแนวโน้มว่าจะน้อยกว่าความเป็นจริง รวมถึงการวิเคราะห์ต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถใช้วิเคราะห์ในตัวอย่างที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบได้ เช่น ตัวอย่างเลือด ฯลฯ ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีการดังกล่าว เช่น การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลของผักพื้นบ้านในจังหวัดร้อยเอ็ด ได้แก่ กระโดนบก ขาเขียด แคป่า เค็ง ชะมวง เม็ก ส้มมอ ส้มลม เสี้ยน และผักหอม โดยพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำ โดยผักพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่า 80% ได้แก่ ชะมวง ส้มมอ ผักเม็ก กระโดนบก และ ส้มลม (พนิดา แสนประกอบ, 2561)

2.5.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay) วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ ดังสมการ



$[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยปริมาณของ $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4) วิธีการนี้เป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพงและสามารถทำซ้ำได้ แต่ข้อเสียคือปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกายและสารละลายที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำปราศจากไอออน (Deionized water) (บุหริน พันธุ์สุวรรณ, 2556) ตัวอย่างที่ได้มีการนำวิธีนี้มาใช้ในการศึกษาวิจัย ได้แก่ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ได้แก่ และการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านในจังหวัดสุราษฎร์ธานีระหว่างฤดูร้อนและฤดูฝน ได้แก่ กระถิน ขี้เหล็ก ชะคราม ตะลิงปลิง เนียง ใบมะกอก ยอดสะเดา เสม็ดแดง และเหลียง โดยพบว่าฤดูกาลในการเก็บเกี่ยวเป็นปัจจัยหนึ่งมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบในผักพื้นบ้าน (กามีละห์ ยะโกะ, 2560)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

รายการวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ พร้อมทั้งรายละเอียดบริษัทผู้ผลิตแสดงไว้ในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 รายการวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1) การเตรียมตัวอย่างผักเหียง

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ	บริษัทผู้ผลิต
1. เครื่องบดตัวอย่าง (A11 basic analytical mill)	Metler-Toledo AG, Switzerland
2. Drying oven	Binder-World
3. Aluminium foil	
4. Seive, size 0.25 mm	

2) การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ	บริษัทผู้ผลิต
1. Drying oven	Binder-World
2. Analytical Balance (4 decimal)	Mettler Toledo
3. Desiccator	

3) การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ	บริษัทผู้ผลิต
1. Furnace	Carbolite
2. Analytical Balance (4 decimal)	Mettler Toledo
3. Hot plate	
4. Ceramic crucible	
5. Desiccator	

4) การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ / สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
1. เครื่องมือวิเคราะห์เยื่อใย / Foss, FiberTec™ 2010	Foss Analytical
2. Drying oven	Binder-World
3. Furnace	Carbolite
4. ถ้วยแก้วครุชชีเบล ชนิด Fritted crucible มีรูพรุนเบอร์ 2 (ASTM) ขนาด 40 - 60 µm	
5. Analytical Balance (4 decimal)	Mettler Toledo
6. Desiccator	
7. Acetone	Merck
8. Sulfuric acid 1.25% (0.255 M)	Merck
9. Sodium hydroxide 1.25% (0.313 M)	Merck

5) การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ / สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
1. Carbon/Nitrogen Determinator / TruSpec CN	Leco
2. Aluminium thin foil	Leco
3. EDTA	Merck

6) การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ / สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
1. เครื่องสกัดไขมันแบบอัตโนมัติ / รุ่น S 306 MK	Gerhardt, Germany
2. Soxhlet apparatus	
3. Drying oven	Binder-World
4. หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)	
5. Analytical Balance (4 decimal)	Mettler Toledo
6. Desiccator	
7. กระดาษกรองเบอร์ 1	Whatman
8. สำลี	
9. Hexane	Merck

7) การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรอง

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ / สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
1. Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES)	Teledyne Leeman Labs
2. Microwave Digestor	Berghof (Speedwave Entry)
3. Milli-QTM Millipore Water Purification System	Millipore SA, Molsheim, France
4. ICP Multi element standard solution	AccuStandard, Inc., USA
5. Ar gas 99.999% (UHP)	Praxair, Thailand
6. Nitric acid 67% w/w	Merck
7. Hydrogen peroxide 30% w/w	Merck

8) การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ / สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
1. UV-Visible Spectrophotometer / Genesys 180	Thermo Scientific
2. Drying Oven / UN-450	Memmert
3. Analytical Balance (4 decimal)	Mettler Toledo
4. Dessicator	
5. Folin-ciocalteu's phenol reagent	Loba Chemie™
6. Sodium carbonate	Loba Chemie™
7. Gallic acid (3,4,5-Trihydroxybenzoic acid)	Merck
8. TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine)	Sigma Aldrich
9. Ferric chloride (FeCl ₃)	Loba Chemie™
10. Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid)	Sigma Aldrich
11. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Sigma Aldrich
12. Methanol	Merck

3.2 การเก็บและเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างผักเหลือียงส่วนที่เป็นยอดอ่อนที่เหมาะสมสำหรับใช้ทำอาหารจากพื้นที่ทำการเกษตร โดยวิธีการสุ่ม ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ๆ ละ 3 จุดเก็บตัวอย่าง ได้แก่ อำเภอเมือง (S1, S2 และ S3)

อำเภอบ้านนาสาร (S4, S5 และ S6) และอำเภอคีรีรัฐนิคม (S7, S8 และ S9) รายละเอียดพิกัทางภูมิศาสตร์ของจุดเก็บตัวอย่างและที่ตั้งแสดงดังตารางที่ 3.2 ทำการเก็บตัวอย่างผักเหียงในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 หลังจากนั้นจึงได้เตรียมตัวอย่างผักเหียงโดยการล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำไปใส่ภาชนะเพื่ออบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากอบแห้งแล้วจึงนำไปบดด้วยเครื่องบดจนละเอียด แล้วร่อนด้วยตะแกรงร่อนสแตนเลส (Seive, ขนาด 0.25 mm) บรรจุใส่ถุงซิปปาไปเก็บไว้ในกล่องและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

ตารางที่ 3.2 พิกัดทางภูมิศาสตร์ของจุดเก็บตัวอย่างผักเหียงในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	พิกัดทางภูมิศาสตร์	ที่ตั้ง
S1	9°00'57.9"N 99°21'56.0"E	หมู่ 10 ตำบลขุนทะเล อำเภอเมือง
S2	9°00'32.7"N 99°20'04.4"E	หมู่ 8 ตำบลขุนทะเล อำเภอเมือง
S3	9°04'18.0"N 99°23'19.4"E	หมู่ 8 ตำบลมะขามเตี้ย อำเภอเมือง
S4	8°56'24.5"N 99°21'45.4"E	หมู่ 1 ตำบลทุ่งเตาใหม่ อำเภอบ้านนาสาร
S5	8°55'51.9"N 99°22'03.5"E	หมู่ 5 ตำบลทุ่งเตา อำเภอบ้านนาสาร
S6	8°58'23.9"N 99°24'09.9"E	หมู่ 4 ตำบลทุ่งเตาใหม่ อำเภอบ้านนาสาร
S7	9°03'02.8"N 99°00'38.0"E	หมู่ 4 ตำบลบ้านยาง อำเภอคีรีรัฐนิคม
S8	9°00'17.0"N 98°55'43.7"E	หมู่ 6 ตำบลท่าขนอน อำเภอคีรีรัฐนิคม
S9	8°59'47.6"N 98°56'37.1"E	หมู่ 5 ตำบลย่านยาว อำเภอคีรีรัฐนิคม

3.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผักเหียง

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการในแต่ละพารามิเตอร์มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของผักเหียง ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC method 950.46 (Latimer, 2016) มีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมตัวอย่างผักเหียงโดยการล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
2. นำไปชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (ตัวอย่างละ 3 กรัม) ใส่ในภาชนะเพื่ออบในเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 ± 5 °C จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

3. นำออกมาวางไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วนำไปชั่งน้ำหนักหลังการอบ บันทึกน้ำหนักที่ได้ เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณความชื้นตามสมการข้างล่างนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น (\% w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Ash content) ใช้วิธีการเผาด้วยเตาเผาอุณหภูมิสูง ที่ 600 °C ตามวิธีมาตรฐาน AOAC 942.05 (Latimer, 2016) มีขั้นตอนดังนี้

1. นำถ้วยครุชีเบลพร้อมฝาไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิตช์เตาเผาแล้วรอให้เย็นลงประมาณ 30-45 นาที จึงนำถ้วยครุชีเบลไปใส่ในเดซิเคเตอร์ รอให้เย็นประมาณ 15-30 นาที ชั่งน้ำหนัก
2. ทำในข้อ 1 ซ้ำอีกครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม)
3. ชั่งตัวอย่างผักเหียงให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม (ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) ใส่ในถ้วยครุชีเบล นำไปเผาโดยใช้ Hot plate จนตัวอย่างไหม้และหมดควัน แล้วจึงนำไปเผาโดยเปิดฝาครุชีเบลในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนกระทั่งเถ้าตัวอย่างกลายเป็นสีขาว ปิดสวิตช์เตาเผาแล้วรอให้เย็นลงประมาณ 30-45 นาที จึงปิดฝาถ้วยครุชีเบลและนำไปใส่ในเดซิเคเตอร์ รอให้เย็นประมาณ 15-30 นาที ชั่งน้ำหนัก
4. นำตัวอย่างที่ได้ในข้อ 3 ไปเผาซ้ำครั้งละประมาณ 30 นาที จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) บันทึกน้ำหนักตัวอย่างที่ได้หลังเผา เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณเถ้าตามสมการข้างล่างนี้

$$\text{ปริมาณเถ้า (\% w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา}} \times 100$$

3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร

การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร ตามวิธีมาตรฐาน AOAC 978.10 (Latimer, 2016) โดยการย่อยตัวอย่างด้วยสารละลายกรดและด่างแล้วนำส่วนที่เหลือจากการย่อยไปอบและเผา แล้วคำนวณหาปริมาณใยอาหารได้จากส่วนที่หายไปจากการเผา ซึ่งมีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างผักเหียงให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม (ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) ใส่ในถ้วยแก้วครุชีเบล แล้วนำไปใส่ในเครื่องสกัดหาปริมาณใยอาหาร
2. เติมน้ำละลายกรดซัลฟิวริกที่ร้อน ความเข้มข้น 1.25 % ปริมาตร 150 mL ใส่ลงในท่อคอนเดนเซอร์ เติมน้ำป้องกันการเกิดฟอง 3-5 หยด แล้วเปิดน้ำหล่อเย็น ต้มจนเดือดจึงลดความร้อนลง แล้วต้มต่ออีกประมาณ 30 นาที
3. ให้เครื่องกรองเอาสารละลายออก ล้างด้วยน้ำร้อน (น้ำกลั่น) 3 ครั้งๆ ละประมาณ 30 mL
4. เติมน้ำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ร้อน ความเข้มข้น 1.25 % ปริมาตร 150 mL เติมน้ำป้องกันการเกิดฟอง 3-5 หยด แล้วเปิดน้ำหล่อเย็น ต้มจนเดือดจึงลดความร้อนลง แล้วต้มต่ออีกประมาณ 30 นาที
5. ให้เครื่องกรองเอาสารละลายออก ล้างด้วยน้ำร้อน (น้ำกลั่น) 3 ครั้งๆ ละประมาณ 30 mL และล้างด้วยน้ำเย็น (น้ำกลั่น) 1 ครั้ง ประมาณ 30 mL และล้างด้วยอะซิโตน 3 ครั้งๆ ละ 25 mL
6. นำถ้วยแก้วครุชีเบลออกจากเครื่องสกัดหาปริมาณใยอาหาร แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และอบซ้ำจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่
7. นำไปชั่งน้ำหนัก จะได้น้ำหนักของสารเยื่อใยรวมกับน้ำหนักของเถ้า
8. นำถ้วยแก้วครุชีเบลตัวอย่างไปเผาที่ 550 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง รอให้เย็นลงประมาณ 30-45 นาที นำไปใส่ในเดซิเคเตอร์ รอให้เย็นประมาณ 15-30 นาที ชั่งน้ำหนัก จะได้น้ำหนักของเถ้า คำนวณหาปริมาณใยอาหารตามสมการข้างล่างนี้

$$\text{ปริมาณใยอาหาร (\% w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักเยื่อใยและเถ้า} - \text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ใช้วิธี Combustion Method ตามมาตรฐาน AOAC 990.03 (Latimer, 2016) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน ซึ่งประกอบด้วยระบบต่างๆ ดังนี้

- 1) เตาเผา (Furnace) เพื่อเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 950 °C ภายใต้บรรยากาศของแก๊สออกซิเจนบริสุทธิ์ (99.9%)

2) ระบบแยกแก๊สไนโตรเจน (Isolation system) เพื่อแยกแก๊สไนโตรเจนออกจากแก๊สอื่นๆ ที่เกิดจากการเผาไหม้ตัวอย่าง

3) ระบบตรวจวัดแก๊สไนโตรเจน (Detection system) เพื่อตรวจวัดปริมาณแก๊สออกซิเจนที่ได้จากการเผาไหม้ตัวอย่าง และประมวลผลที่ได้เป็น % w/w

การใช้เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน มีขั้นตอนดังนี้

1. เปิดเครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน และตรวจสอบการทำงานของเครื่องก่อนการวิเคราะห์เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
2. ทำการวิเคราะห์สารมาตรฐาน EDTA เพื่อสร้าง Calibration curve
3. ชั่งตัวอย่างผักเหียงให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 0.15 กรัม ใส่ในแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วห่อให้เรียบร้อยเพื่อนำไปวางใน Rotor สำหรับ Load ตัวอย่างเข้าเครื่องมือวิเคราะห์
4. เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 950 °C ภายใต้บรรยากาศของแก๊สออกซิเจนบริสุทธิ์ (99.9%) เป็นเวลา 5 นาที
5. ประมวลผลการวิเคราะห์ค่าปริมาณไนโตรเจนที่ได้ (% w/w) และคำนวณหาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างตามสมการข้างล่างนี้

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\% w/w)} = \text{ไนโตรเจน (\% w/w)} \times 6.25$$

3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธีมาตรฐาน AOAC 922.06 โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. อบถ้วยแก้วสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (ขนาดความจุ 150 mL) ในเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 °C ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ และชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างผักเหียง 2 กรัมให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กรัม (ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) ใส่ลงบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ห่อด้วยกระดาษกรองให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในหลอดแก้ว แล้วนำเข้าประกอบในเครื่องสกัดไขมันแบบอัตโนมัติ
4. เติมสารตัวทำละลายเฮกเซน ปริมาตร 150 mL ลงในถ้วยแก้วสำหรับวิเคราะห์ไขมัน นำไปประกอบเข้าในเครื่อง เปิดเตาให้ความร้อน พร้อมทั้งเปิดน้ำเย็นจากเครื่องทำความเย็นหล่ออุปกรณ์ควบแน่น สกัดไขมันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง (ต้องเปิดเครื่องทำความเย็นทิ้งไว้ก่อนจนได้อุณหภูมิที่ตั้งไว้ 10 - 15 °C)

5. กลั่นเก็บตัวทำละลายจนเหลืออยู่ในถ้วยแก้วเพียงเล็กน้อย
6. นำถ้วยแก้วไปบระเหยเอาตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิ 90 °C จนแห้งประมาณ 30 นาที
แล้วนำไปวางไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์
7. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำ จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) คำนวณหาปริมาณไขมันตามสมการข้างล่างนี้

$$\text{ปริมาณไขมัน (\% w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักถ้วยแก้วและไขมันหลังอบ} - \text{น้ำหนักถ้วยแก้ว}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตใช้วิธีการคำนวณ (Kongkachuichai et al., 2015) ตามสมการนี้
ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (g/100g) = 100 – (% Moisture + % Protein + % Fat + % Ash)

3.3.7 การวิเคราะห์แร่ธาตุ

โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม แมงกานีส เหล็ก ทองแดง และสังกะสี ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยด้วยระบบไมโครเวฟ ตามวิธีมาตรฐาน EPA Method 3052 (USEPA, 1996) หลังจากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุโดยเทคนิค Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)

3.3.7.1 การย่อยตัวอย่างผักเหียงด้วยระบบไมโครเวฟ

ชั่งตัวอย่างผักเหียง ปริมาณ 0.3 กรัม (ต่อการย่อย 1 ซ้ำ) ใส่ในภาชนะบรรจุตัวอย่าง (Vessel) เติม HNO₃ (67%) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติม H₂O₂ (30%) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ค่อยๆ เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที แล้วจึงปิดฝาภาชนะให้สนิท นำไปย่อยด้วยระบบไมโครเวฟ โดยใช้โปรแกรมการให้ความร้อนตามที่ระบุในตารางที่ 3.3 เมื่อย่อยเสร็จแล้วนำสารตัวอย่างไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 40 ใส่ในขวดวัดปริมาตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ 25 มิลลิลิตร หลังจากนั้นจึงนำสารละลายตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu และ Zn โดยใช้เครื่อง ICP-OES

ตารางที่ 3.3 โปรแกรมการให้ความร้อนของระบบการย่อยไมโครเวฟสำหรับวิธี EPA 3052

Step	Temp (°C)	Ramp (min)	Hold (min)	Power (%)
1	145	5	5	90
2	190	3	10	0
3	75	1	10	0

3.3.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุโดยเทคนิค ICP-OES

นำตัวอย่างผักเหียงที่ได้จากการย่อยด้วยระบบไมโครเวฟไปวิเคราะห์หาแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองด้วยเครื่อง ICP-OES โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ตามที่ระบุไว้ในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 พารามิเตอร์ของเครื่อง ICP-OES ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุ

พารามิเตอร์ (หน่วย)	รายละเอียด/ค่าที่ใช้
Optical system	Echelle Polychromator
Detector	CMOS (Complimentary Metal Oxide Semiconductor) 3.38 million pixels
RF Power (W)	1200
Plasma gas flow (Lmin ⁻¹)	16
Auxiliary gas flow (Lmin ⁻¹)	1.2
Nebulizer gas flow (psi)	25.0
Sample flow (mLmin ⁻¹)	1.0
Number of replicates	3
Wavelengths (nm)	
Na	589.592
K	766.491
Mg	279.553
Ca	317.933
Mn	257.610
Fe	259.940
Cu	324.754
Zn	213.856

วิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้วิธี External calibration โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ให้มีลักษณะของแมทริกซ์ (Matrix) ใกล้เคียงกับแมทริกซ์ของสารละลายตัวอย่างมากที่สุด และในการวิเคราะห์ทุกครั้งจะต้องมีการวิเคราะห์แบลงค์ 2 ชนิด คือ Calibration blank เพื่อนำไปใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) และ Method blank เพื่อนำไปใช้ในการตรวจสอบการปนเปื้อนในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ โดยการนำค่าสัญญาณของแบลงค์ไปหักลบออกจากค่าสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.3.7.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์แร่ธาตุ

1) การหาความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

มีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยระบบไมโครเวฟแล้วจึงวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักด้วยเทคนิค ICP-OES ในการหาความแม่นยำทำได้โดยวิธี Spiked recovery โดยการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง ซึ่งเตรียมตัวอย่างโดยการย่อยด้วยระบบไมโครเวฟตามวิธีการในข้อ 3.2.2 และนำตัวอย่างที่ย่อยได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu และ Zn ด้วยเครื่อง ICP-OES ตามสภาวะที่ใช้ในวิธีการทดลองในข้อ 3.4 แล้วตรวจสอบความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ โดยการคำนวณค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละการกลับคืน (\% Recovery)} = (C_1 - C_2)/C_3 \times 100$$

โดยที่ C_1 คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน (Spiked sample)

C_2 คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลายมาตรฐาน (Unspiked sample)

C_3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (Standard) ที่เติมลงไปในตัวอย่าง

ในการหาความเที่ยงทำได้โดยการคำนวณหาค่า % RSD เพื่อตรวจสอบความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำๆ ในสภาวะเดียวกัน (Repeatability)

นอกจากนี้ยังได้มีการทำการตรวจสอบคุณภาพในระหว่างการวิเคราะห์ (QC Check) ของเครื่อง ICP-OES โดยการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานทุกๆ 10 – 15 ตัวอย่าง

2) การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOD) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ)

นำ Method blank ที่เตรียมได้จากการย่อยตัวอย่างด้วยระบบไมโครเวฟ ไปทำการวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง ด้วยเทคนิค ICP-OES แล้วคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของสัญญาณการวิเคราะห์

(Peak Intensity) ของธาตุ Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu และ Zn โดยสามารถคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้จากสมการข้างล่างนี้

$$\text{LOD} = 3\text{SD}/m$$

$$\text{และ } \text{LOQ} = 10\text{SD}/m$$

โดยที่ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณการวิเคราะห์ที่ได้จากการวิเคราะห์ Method Blank จำนวน 7 ครั้ง และ m คือ Slope ของกราฟมาตรฐานของโลหะหนักที่วิเคราะห์

3.4 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการสกัดสารสำคัญ

สกัดสารออกฤทธิ์ด้วยตัวทำละลายเอทานอลโดยใช้อัตราส่วนพืช 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 5 มิลลิลิตร โดยทำการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการแยกส่วนใส่ออกเก็บไว้ ส่วนที่เป็นตะกอนนำมาเติมตัวทำละลายเอทานอลอีก 5 มิลลิลิตร แช่ตัวอย่างซ้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำส่วนใสมารวมกัน หลังจากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman #1 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45 °C เก็บสารสกัดที่ได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 °C สำหรับการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในขั้นต่อไป

1) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

ทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผักเหียงโดยการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวม โดยวิธี Folin-ciocalteu assay (ดัดแปลงจากวิธีของ Singleton, 1999 และ Waterhouse, 2002) โดยใช้ Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน

ขั้นตอนการวิเคราะห์

ปิเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลาย Folin-ciocalteu reagent 200 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที รอให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นโดยสมบูรณ์ จากนั้นเติมสารละลาย 7.5% Sodium carbonate (w/v) ปริมาตร 2,000 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 1,600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร สำหรับ Blank ใช้เอทานอลแทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้ Gallic acid ที่ความเข้มข้น 0-1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นสารมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยแสดงปริมาณในหน่วยมิลลิกรัมของ Gallic acid equivalent (GAE) ต่อ 100 กรัมของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

2) การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

โดยการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเหลียง 2 วิธี ได้แก่

2.1) วิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay (ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie and Strain, 1996)

ขั้นตอนการวิเคราะห์

ปิเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย FRAP (Ferric reducing antioxidant power) reagent 1,800 ไมโครลิตร [ประกอบด้วย Acetate buffer 300 mM, pH 3.6 และ 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ที่ละลายด้วย HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และ Iron (III) Chloride Hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 v/v] และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 2,000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm สำหรับ Blank ใช้เอทานอลแทนสารสกัดตัวอย่าง และใช้เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ที่ความเข้มข้น 0, 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครโมลาร์ เป็นสารมาตรฐานคำนวณค่าความสามารถในการรีดิวซ์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการรีดิวซ์เหล็กเฟอร์ริกจากกราฟสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต และรายงานในหน่วยไมโครกรัมของสารเฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรตต่อ 100 กรัมของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

2.2) วิธี 2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH)

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ดัดแปลงจากวิธีของ Ronald, 2005)

ขั้นตอนการวิเคราะห์

ปิเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ในเอทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลแทนสารละลายตัวอย่างเป็นสารควบคุม และเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซี (Ascorbic acid) ในช่วง 0-100 $\mu\text{g/ml}$ คำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) ในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำไปทำ Linear regression เพื่อหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการเกิด Oxidation ได้ 50% (IC_{50})

$$\% \text{ Inhibition of DPPH} = \frac{(A \text{ control} - A \text{ sample}) \times 100}{A \text{ control}}$$

โดยที่ A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

- วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้โดยใช้สถิติ เช่น ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าร้อยละ
- วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยสถิติ Analysis of variance (ANOVA) ทดสอบผลต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่โดย Tukey's HSD (Honestly significant difference test) และความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงของข้อมูลจากค่า r (Pearson's correlation) และทดสอบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

บทที่ 4

ผลการวิจัย และอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาค่าทางโภชนาการของผักเหียง ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ประเภทสารประกอบฟีนอลิก (Phenolics) และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในผักเหียง ที่ปลูกในพื้นที่ทำการเกษตรจังหวัดสุราษฎร์ธานี ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง (S1, S2 และ S3) อำเภอบ้านนาสาร (S4, S5 และ S6) และอำเภอคีรีรัฐนิคม (S7, S8 และ S9) ได้เก็บตัวอย่าง ผักเหียงในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 ผลการศึกษาเป็นดังนี้

4.1 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

ได้ศึกษาค่าทางโภชนาการในผักเหียงที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ทำการเกษตร จากพื้นที่ 3 อำเภอ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตามวิธีมาตรฐาน AOAC ผลการศึกษาปริมาณความชื้น เถ้า ใยอาหาร โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต แสดงดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ พบว่า ปริมาณความชื้นของผักเหียงจากทั้ง 9 แหล่ง มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 84.72 - 87.52 ปริมาณเถ้า (ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักสด) ที่วิเคราะห์ในตัวอย่างผักเหียงมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.779 - 1.065 และปริมาณคุณค่าทางโภชนาการ (ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักสด) ได้แก่ ปริมาณใยอาหาร โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ในตัวอย่างผักเหียงมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 3.06 - 3.81, 3.44 - 4.68, 0.647 - 1.078 และ 7.49 - 9.55 ตามลำดับ พบว่าตัวอย่างผักเหียง จากอำเภอบ้านนาสารมีค่าเฉลี่ยสูงสุดของปริมาณเถ้า (ร้อยละ 0.970) โปรตีน (ร้อยละ 4.34) ไขมัน (ร้อยละ 1.003) และคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 8.73) ในขณะที่ตัวอย่างผักเหียงจากอำเภอเมืองมี ค่าเฉลี่ยของปริมาณความชื้น (ร้อยละ 86.91) สูงที่สุด และตัวอย่างผักเหียงจากอำเภอคีรีรัฐนิคมมี ค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหาร (ร้อยละ 3.44) สูงที่สุด สำหรับแหล่งเพาะปลูกที่พบว่ามีปริมาณคุณค่า ทางโภชนาการในผักเหียงต่ำที่สุดเป็นดังนี้ ผักเหียงจากอำเภอเมือง มีปริมาณเฉลี่ยของเถ้า โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 0.850, 3.76 และ 7.77 ตามลำดับ ผักเหียงจากอำเภอบ้านนาสาร มี ปริมาณเฉลี่ยของความชื้น และใยอาหาร ร้อยละ 84.96 และ 3.12 ตามลำดับ ผักเหียงจากอำเภอ คีรีรัฐนิคม มีปริมาณเฉลี่ยของไขมัน ร้อยละ 0.687 เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษานี้กับงานวิจัยที่ผ่านมา (Kongkachuchai et al., 2015) ซึ่งได้มีการศึกษาตัวอย่างผักเหียงที่เก็บจากพื้นที่ภาคใต้ 6 จังหวัด พบว่ามืองค์ประกอบ (ในหน่วยร้อยละน้ำหนักสด) ของความชื้น (ร้อยละ 85.66) โปรตีน (ร้อยละ 4.23) ไขมัน (ร้อยละ 0.58) และคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 8.51) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ ยกเว้น ปริมาณไขมันซึ่งพบว่ามีปริมาณต่ำกว่าผลที่ได้จากงานวิจัยนี้เล็กน้อย

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบโดยประมาณและคุณค่าทางโภชนาการในผักเห็ดซึ่งได้จากพื้นที่ทำการเกษตร จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักสด, %FW, n = 3)

พื้นที่เก็บ ตัวอย่าง*	ความชื้น (%FW)	เถ้า (%FW)	ใยอาหาร (%FW)	โปรตีน (%FW)	ไขมัน (%FW)	คาร์โบไฮเดรต (%FW)
S1	87.52 ± 0.40	0.849 ± 0.002	3.30 ± 0.05	3.44 ± 0.02	0.701 ± 0.003	7.49 ± 0.41
S2	86.90 ± 0.33	0.779 ± 0.003	3.66 ± 0.03	3.77 ± 0.01	0.678 ± 0.007	7.87 ± 0.33
S3	86.30 ± 0.25	0.923 ± 0.006	3.18 ± 0.03	4.06 ± 0.01	0.759 ± 0.004	7.96 ± 0.26
Mean±SD	86.91 ± 0.60 ^c	0.850 ± 0.063 ^a	3.38 ± 0.22 ^b	3.76 ± 0.27 ^a	0.713 ± 0.036 ^a	7.77 ± 0.36 ^a
S4	85.39 ± 0.19	1.065 ± 0.009	3.08 ± 0.07	4.68 ± 0.02	1.078 ± 0.008	7.78 ± 0.21
S5	84.76 ± 0.36	0.880 ± 0.006	3.06 ± 0.05	3.81 ± 0.01	0.998 ± 0.009	9.55 ± 0.36
S6	84.72 ± 0.92	0.964 ± 0.005	3.24 ± 0.07	4.52 ± 0.01	0.934 ± 0.006	8.85 ± 0.92
Mean±SD	84.96 ± 0.60 ^a	0.970 ± 0.080 ^b	3.12 ± 0.10 ^a	4.34 ± 0.40 ^b	1.003 ± 0.063 ^b	8.73 ± 0.92 ^b
S7	86.69 ± 0.34	0.791 ± 0.002	3.18 ± 0.08	3.63 ± 0.01	0.647 ± 0.001	8.24 ± 0.34
S8	85.79 ± 0.76	0.825 ± 0.002	3.81 ± 0.09	4.13 ± 0.02	0.753 ± 0.004	8.50 ± 0.77
S9	85.91 ± 0.24	0.998 ± 0.003	3.34 ± 0.05	4.24 ± 0.02	0.663 ± 0.003	8.19 ± 0.22
Mean±SD	86.13 ± 0.60 ^b	0.872 ± 0.096 ^a	3.44 ± 0.29 ^b	4.00 ± 0.28 ^{ab}	0.687 ± 0.049 ^a	8.31 ± 0.46 ^{ab}

*พื้นที่เก็บตัวอย่าง : อำเภอเมือง (S1, S2 และ S3) อำเภอบ้านนาสาร (S4, S5 และ S6) และอำเภอคีรีรัฐนิคม (S7, S8 และ S9)

a, b, c แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบโดยประมาณและคุณค่าทางโภชนาการในผักเหียงที่ได้จากพื้นที่ทำการเกษตร จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง, %DW, n = 3)

พื้นที่เก็บ ตัวอย่าง*	เถา (%DW)	ใยอาหาร (%DW)	โปรตีน (%DW)	ไขมัน (%DW)	คาร์โบไฮเดรต (%DW)
S1	6.80 ± 0.03	26.46 ± 0.40	27.55 ± 0.16	5.62 ± 0.03	60.03 ± 0.14
S2	5.95 ± 0.03	27.94 ± 0.21	28.78 ± 0.06	5.18 ± 0.05	60.09 ± 0.06
S3	6.74 ± 0.05	23.24 ± 0.23	29.64 ± 0.01	5.54 ± 0.03	58.09 ± 0.06
Mean±SD	6.50 ± 0.41 ^a	25.88 ± 2.09 ^b	28.66 ± 0.91 ^a	5.44 ± 0.20 ^b	59.40 ± 0.99 ^a
S4	7.29 ± 0.06	21.08 ± 0.48	32.06 ± 0.16	7.38 ± 0.05	53.27 ± 0.16
S5	5.78 ± 0.04	20.06 ± 0.31	24.99 ± 0.04	6.55 ± 0.06	62.68 ± 0.02
S6	6.31 ± 0.04	21.18 ± 0.44	29.62 ± 0.06	6.11 ± 0.04	57.96 ± 0.08
Mean±SD	6.46 ± 0.67 ^a	20.77 ± 0.65 ^a	28.89 ± 3.11 ^a	6.68 ± 0.56 ^c	57.97 ± 4.08 ^a
S7	5.94 ± 0.02	23.88 ± 0.57	27.30 ± 0.04	4.86 ± 0.01	61.90 ± 0.03
S8	5.81 ± 0.02	26.79 ± 0.66	29.08 ± 0.12	5.29 ± 0.03	59.82 ± 0.11
S9	7.09 ± 0.02	23.68 ± 0.38	30.07 ± 0.13	4.70 ± 0.02	58.14 ± 0.14
Mean±SD	6.28 ± 0.61 ^a	24.78 ± 1.58 ^b	28.81 ± 1.22 ^a	4.95 ± 0.27 ^a	59.96 ± 1.63 ^a

*พื้นที่เก็บตัวอย่าง : อำเภอเมือง (S1, S2 และ S3) อำเภอบ้านนาสาร (S4, S5 และ S6) และอำเภอคีรีรัฐนิคม (S7, S8 และ S9)

a, b, c แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

4.2 การวิเคราะห์แร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรอง

ได้ศึกษาองค์ประกอบที่เป็นแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองในผักเคลือบที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่ทำการเกษตร จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยการย่อยในระบบไมโครเวฟตามด้วยการนำตัวอย่างผักเคลือบที่ย่อยได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุโดยเทคนิค ICP-OES ผลการศึกษาปริมาณแร่ธาตุหลัก (Na, K, Mg และ Ca) และแร่ธาตุรอง (Fe, Cu, Zn และ Mn) แสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 ในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักสด และ mg/kg น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แร่ธาตุหลักที่พบในตัวอย่างผักเคลือบเรียงลำดับจากปริมาณมากไปน้อยเป็นดังนี้คือ K, Ca, Mg, และ Na ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 354.75 - 558.02, 34.37 - 64.18, 27.50 - 45.33 และ 0.65 - 1.35 mg/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ และปริมาณแร่ธาตุรองในตัวอย่างผักเคลือบเรียงลำดับจากมากไปน้อยเป็นดังนี้คือ Mn, Fe, Zn และ Cu ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 1.76 - 5.18, 0.58 - 0.93, 0.39 - 0.52 และ 0.05 - 0.08 mg/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา (Kongkachuichai et al., 2015) ซึ่งได้มีการศึกษาตัวอย่างผักเคลือบที่เก็บจากพื้นที่ภาคใต้ 6 จังหวัด ได้แก่ ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ภูเก็ต สงขลา และปัตตานี พบว่ามีปริมาณแร่ธาตุหลัก ได้แก่ K, Mg และ Ca เท่ากับ 297.29, 28.00 และ 35.15 mg/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ และมีปริมาณ Fe เท่ากับ 0.40 mg/100g น้ำหนักสด ซึ่งปริมาณ Mg และ Ca สอดคล้องกับงานวิจัยนี้ ในขณะที่ปริมาณ K และ Fe พบว่ามีปริมาณต่ำกว่าผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ ทั้งนี้เนื่องจากแหล่งของผักเคลือบมาจากพื้นที่เพาะปลูกที่แตกต่างกัน มีสภาพแวดล้อมของดินรวมทั้งการจัดการพื้นที่ทำการเกษตร เช่น การใช้ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยชีวภาพที่แตกต่างกัน โดยในงานวิจัยนี้ศึกษาตัวอย่างที่ได้จากพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ส่งผลให้ปริมาณแร่ธาตุบางชนิดที่สะสมในต้นผักเคลือบแตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาปริมาณแร่ธาตุหลัก (Na, K, Mg และ Ca) และแร่ธาตุรอง (Fe, Cu, Zn และ Mn) ที่มีในตัวอย่างผักเคลือบเปรียบเทียบกับปริมาณแร่ธาตุที่แนะนำให้ได้รับจากการบริโภคต่อวัน (US FDA, 2022) โดยคิดเป็นร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน (Daily value, %) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่าแร่ธาตุ Mn ในตัวอย่างผักเคลือบมีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวันอยู่ในระดับสูง (ร้อยละ 30.9 - 105.1) โดยที่ปริมาณที่แนะนำในการบริโภคต่อวันของ Mn เท่ากับ 2.3 mg ในขณะที่มีแร่ธาตุ 6 ชนิด ได้แก่ K, Mg, Ca, Fe, Cu และ Zn มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวันในระดับที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งอยู่ในช่วงร้อยละ 1.0 - 5.2 สำหรับแร่ธาตุ Na มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวันในระดับที่ต่ำมาก อยู่ในช่วงร้อยละ 0.01 - 0.03 ดังนั้นผักเคลือบจึงจัดเป็นแหล่งของแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแร่ธาตุ Mn นอกจากนี้มีรายงานวิจัยพบว่าแร่ธาตุ Mn มีปริมาณค่อนข้างสูงในผักใบเขียวชนิดอื่นๆ เช่น ผักโขม (*Amaranthus blitum*) ที่เพาะปลูกในประเทศญี่ปุ่น (Sarker and Oba, 2020) และผักพื้นเมือง 12 สายพันธุ์ที่พบได้ตามธรรมชาติในหมู่บ้านชาวเขาอำเภอมะแม่ม จังหวัดเชียงใหม่ (Punchay et al., 2020)

งานวิจัยเกี่ยวกับแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองในผักเหลียงมีค่อนข้างจำกัด ดังนั้น จึงได้อภิปรายผลการวิจัยเพิ่มเติมโดยการอ้างอิงจากงานวิจัยเกี่ยวกับผักใบเขียวชนิดต่างๆ มีรายงานผลการศึกษาระดับปริมาณแร่ธาตุในผักโขม 15 สายพันธุ์ ที่เพาะปลูกในโรงเรือนปลูกผักของสถาบันวิจัยในประเทศสหรัฐอเมริกา (Jiménez-Aguilar & Grusak, 2017) พบว่ามีปริมาณแร่ธาตุ Na (0.47 – 15.4 mg/100g น้ำหนักสด) ซึ่งอยู่ในระดับที่สอดคล้องกับงานวิจัยนี้ แต่แร่ธาตุหลัก 3 ชนิด คือ Ca, K และ Mg มีปริมาณเท่ากับ 150 – 350, 550 – 880 และ 180 – 450 mg/100g น้ำหนักสด มีระดับที่สูงกว่าในงานวิจัยนี้ และผลการวิเคราะห์แร่ธาตุรองในผักโขมพบว่า มีปริมาณแร่ธาตุ Cu, Fe และ Zn เท่ากับ 0.056 – 0.24, 0.84 – 2.2 และ 0.81 – 1.6 mg/100g น้ำหนักสด ซึ่งมีระดับที่สูงกว่างานวิจัยนี้ ในขณะที่แร่ธาตุ Mn (0.38 – 1.1 mg/100g น้ำหนักสด) มีระดับต่ำกว่างานวิจัยนี้ นอกจากนี้มีรายงานวิจัยที่ศึกษาในตัวอย่างผักโขม (*Amaranthus blitum*) ในประเทศญี่ปุ่น (Sarker & Oba, 2020) พบว่ามีปริมาณแร่ธาตุ Mn เท่ากับ 132 – 357 mg/kg น้ำหนักแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ และมีปริมาณแร่ธาตุ Ca, Mg, Cu, Fe และ Zn เท่ากับ 15,220 – 32,820, 28,630 – 35,430, 12.09 – 45.12, 881.6 – 2057 และ 601 – 1,474 mg/kg น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณแร่ธาตุเหล่านี้สูงกว่าผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ ในทางตรงกันข้าม พบว่ามีปริมาณแร่ธาตุ K เท่ากับ 950 – 16,280 mg/kg น้ำหนักแห้ง ซึ่งน้อยกว่างานวิจัยนี้ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแร่ธาตุที่มีในผักเหลียงกับผักโขม จะเห็นได้ว่า ผักโขมมีปริมาณของแร่ธาตุหลายชนิดทั้งแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรอง (Ca, Mg, Cu, Fe, Zn) สูงกว่าผักเหลียงที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ และเมื่อไม่นานมานี้ได้มีรายงานผลการศึกษาระดับปริมาณแร่ธาตุในผักพื้นเมือง 12 ชนิด ที่เป็นที่ยอมรับบริโภคของชาวเขาเนื่องจากมีประโยชน์ที่หลากหลาย และเป็นผักที่พบได้ตามธรรมชาติบริเวณป่าดิบเขาและป่ารกร้างที่ไม่ได้ทำการเพาะปลูก โดยเก็บตัวอย่างผักจากหมู่บ้านชาวเขาเผ่ากะเหรี่ยงและเผ่าละว้า อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ (Punchay et al., 2020) ผลการศึกษาพบว่าแร่ธาตุ Ca, K, Mg, Na, Cu, Fe, Mn เท่ากับ 1.0 – 982.9, 221.7 – 1,291.3, 6.0 – 104.4, 0.4 – 21.2, <0.01 – 0.41, 0.3 – 11.1, 0.2 – 15.7 mg/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ ยกเว้นแร่ธาตุ Zn มีค่าเท่ากับ 1.4 – 19.4 mg/100g น้ำหนักสด ซึ่งมีปริมาณสูงกว่างานวิจัยนี้ นอกจากนี้มีรายงานผลการศึกษาระดับปริมาณแร่ธาตุในผักพื้นเมือง 5 ชนิด ที่นิยมบริโภคในประเทศบังคลาเทศ (Satter et al., 2016) พบว่ามีแร่ธาตุ Ca, Mg, Cu, Fe และ Zn เท่ากับ 2,792 – 9,091, 574 – 3,152, 1.5 – 32.5, 35.9 – 735.4 และ 22.9 – 111.4 mg/kg น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ ในขณะที่ปริมาณแร่ธาตุ K เท่ากับ 8,584 – 20,553 mg/kg น้ำหนักแห้ง ซึ่งค่อนข้างต่ำกว่างานวิจัยนี้ ในทางตรงกันข้าม ปริมาณแร่ธาตุ Na ในผักพื้นเมืองมีค่าอยู่ในช่วง 944 – 10,923 mg/kg น้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณที่สูงกว่าผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ ค่อนข้างมาก

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบของแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองในผักเหลียง (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด) และร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน (Daily value, %)

พื้นที่เก็บ	Mean $\pm$ SD (mg/100g FW, n = 3)							
ตัวอย่าง*	Na	K	Mg	Ca	Fe	Cu	Zn	Mn
S1	1.35 $\pm$ 0.06	421.91 $\pm$ 11.27	43.57 $\pm$ 2.07	45.56 $\pm$ 1.57	0.58 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.03	2.00 $\pm$ 0.15
S2	1.04 $\pm$ 0.04	354.75 $\pm$ 11.45	40.28 $\pm$ 1.37	59.39 $\pm$ 4.04	0.68 $\pm$ 0.03	0.08 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.03	2.86 $\pm$ 0.09
S3	0.98 $\pm$ 0.03	440.12 $\pm$ 20.05	40.85 $\pm$ 1.64	59.92 $\pm$ 3.67	0.85 $\pm$ 0.06	0.07 $\pm$ 0.01	0.46 $\pm$ 0.03	3.05 $\pm$ 0.08
Mean $\pm$ SD	1.12 $\pm$ 0.18	405.59 $\pm$ 41.00	41.57 $\pm$ 2.13	54.95 $\pm$ 7.60	0.70 $\pm$ 0.12	0.07 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.05	2.64 $\pm$ 0.49
S4	0.73 $\pm$ 0.06	558.02 $\pm$ 19.44	42.09 $\pm$ 1.75	43.32 $\pm$ 2.60	0.71 $\pm$ 0.07	0.05 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.03	1.93 $\pm$ 0.08
S5	1.09 $\pm$ 0.03	398.44 $\pm$ 12.72	36.95 $\pm$ 1.92	64.18 $\pm$ 3.67	0.93 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.03	3.70 $\pm$ 0.20
S6	0.65 $\pm$ 0.06	504.49 $\pm$ 15.17	40.00 $\pm$ 2.53	42.59 $\pm$ 2.97	0.65 $\pm$ 0.05	0.07 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.02	1.92 $\pm$ 0.08
Mean $\pm$ SD	0.82 $\pm$ 0.21	486.98 $\pm$ 71.69	39.68 $\pm$ 2.88	50.03 $\pm$ 10.95	0.76 $\pm$ 0.14	0.06 $\pm$ 0.01	0.43 $\pm$ 0.04	2.52 $\pm$ 0.89
S7	0.98 $\pm$ 0.05	442.49 $\pm$ 17.51	27.50 $\pm$ 2.35	34.37 $\pm$ 2.82	0.58 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.01	0.44 $\pm$ 0.05	1.76 $\pm$ 0.11
S8	0.90 $\pm$ 0.05	475.10 $\pm$ 14.33	43.94 $\pm$ 2.82	58.59 $\pm$ 2.64	0.58 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.01	0.48 $\pm$ 0.04	1.92 $\pm$ 0.10
S9	1.05 $\pm$ 0.04	505.96 $\pm$ 18.37	45.33 $\pm$ 2.66	54.46 $\pm$ 2.55	0.70 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.01	0.49 $\pm$ 0.05	5.18 $\pm$ 0.43
Mean $\pm$ SD	0.97 $\pm$ 0.07	474.51 $\pm$ 31.11	38.92 $\pm$ 8.88	49.14 $\pm$ 11.46	0.62 $\pm$ 0.06	0.06 $\pm$ 0.01	0.47 $\pm$ 0.04	2.95 $\pm$ 1.68
Daily value, mg	2300	4700	420	1300	18	0.9	11	2.3
mg per serving	0.26 - 0.61	148.06 - 246.21	10.67 - 20.25	13.40 - 29.32	0.23 - 0.42	0.02 - 0.04	0.16 - 0.24	0.71 - 2.42
Daily Value, %**	0.01 - 0.03	3.2 - 5.2	2.5 - 4.8	1.0 - 2.3	1.3 - 2.3	2.2 - 4.0	1.4 - 2.2	30.9 - 105.1

*พื้นที่เก็บตัวอย่าง : อำเภอเมือง (S1, S2 และ S3) อำเภอบ้านนาสาร (S4, S5 และ S6) และอำเภอคีรีรัฐนิคม (S7, S8 และ S9)

** Daily value (%) คำนวณได้จาก ปริมาณแร่ธาตุที่มีในตัวอย่างผักเหลียง / ปริมาณแร่ธาตุที่แนะนำต่อวัน $\times$ 100 กำหนดให้ 1 หน่วยบริโภคของผักเหลียง เท่ากับ 43 กรัม น้ำหนักสด

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบของแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองในผักเหียงที่ได้จากพื้นที่ทำการเกษตร จังหวัดสุราษฎร์ธานี ในหน่วย mg/kg น้ำหนักแห้ง

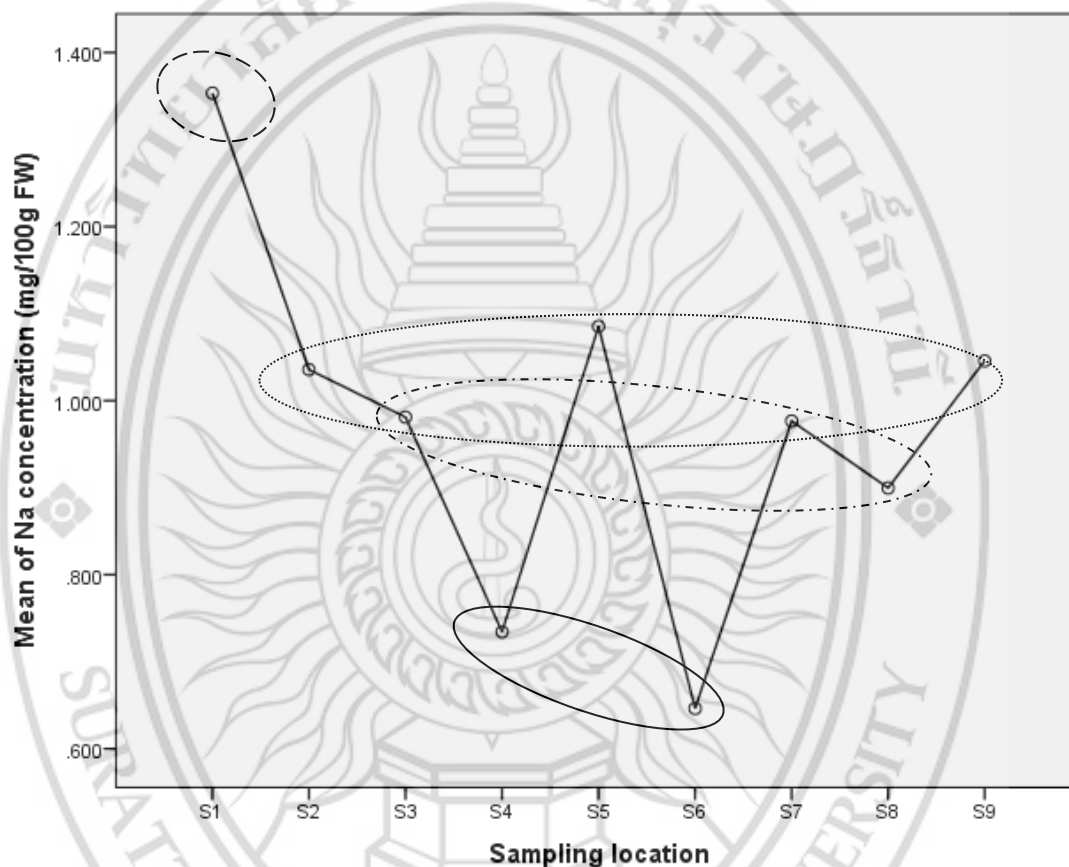
พื้นที่เก็บ	Mean $\pm$ SD (mg/kg DW, n = 3)							
ตัวอย่าง*	Na	K	Mg	Ca	Fe	Cu	Zn	Mn
S1	108.4 $\pm$ 4.5	33,807 $\pm$ 903	3,491 $\pm$ 166	3,650 $\pm$ 126	46.5 $\pm$ 2.1	4.3 $\pm$ 0.5	34.8 $\pm$ 2.7	160.4 $\pm$ 11.9
S2	79.0 $\pm$ 2.7	27,080 $\pm$ 874	3,075 $\pm$ 105	4,533 $\pm$ 308	51.8 $\pm$ 1.9	5.8 $\pm$ 0.6	39.4 $\pm$ 2.5	218.5 $\pm$ 7.1
S3	71.6 $\pm$ 2.3	32,125 $\pm$ 1,464	2,981 $\pm$ 120	4,373 $\pm$ 268	62.2 $\pm$ 4.1	4.9 $\pm$ 0.4	33.2 $\pm$ 2.0	222.5 $\pm$ 5.5
Mean $\pm$ SD	86.4 $\pm$ 17.1	31,004 $\pm$ 3181	3,183 $\pm$ 262	4,186 $\pm$ 460	53.5 $\pm$ 7.3	5.0 $\pm$ 0.8	35.8 $\pm$ 3.5	200.5 $\pm$ 31.0
S4	50.3 $\pm$ 4.3	38,195 $\pm$ 1,330	2,881 $\pm$ 120	2,965 $\pm$ 178	48.4 $\pm$ 5.0	3.6 $\pm$ 0.2	32.2 $\pm$ 1.8	132.3 $\pm$ 5.4
S5	71.2 $\pm$ 2.2	26,144 $\pm$ 835	2,424 $\pm$ 126	4,211 $\pm$ 241	61.1 $\pm$ 3.3	3.8 $\pm$ 0.2	28.4 $\pm$ 2.1	242.9 $\pm$ 13.0
S6	42.3 $\pm$ 3.7	33,016 $\pm$ 993	2,618 $\pm$ 165	2,787 $\pm$ 194	42.5 $\pm$ 3.5	4.5 $\pm$ 0.4	25.6 $\pm$ 1.3	125.8 $\pm$ 5.3
Mean $\pm$ SD	54.6 $\pm$ 13.3	32,452 $\pm$ 5,317	2,641 $\pm$ 232	3,321 $\pm$ 695	50.7 $\pm$ 8.9	3.9 $\pm$ 0.5	28.7 $\pm$ 3.2	167.0 $\pm$ 57.5
S7	73.4 $\pm$ 3.7	33,245 $\pm$ 1,315	2,066 $\pm$ 176	2,582 $\pm$ 212	43.8 $\pm$ 1.5	3.7 $\pm$ 0.3	33.0 $\pm$ 3.4	132.6 $\pm$ 7.9
S8	63.3 $\pm$ 3.3	33,434 $\pm$ 1,009	3,092 $\pm$ 199	4,123 $\pm$ 186	41.0 $\pm$ 2.4	3.8 $\pm$ 0.3	33.6 $\pm$ 2.7	135.2 $\pm$ 6.9
S9	74.2 $\pm$ 2.6	35,909 $\pm$ 1,304	3,217 $\pm$ 189	3,865 $\pm$ 181	49.5 $\pm$ 2.0	4.4 $\pm$ 0.4	35.1 $\pm$ 3.2	367.5 $\pm$ 30.3
Mean $\pm$ SD	70.3 $\pm$ 6.0	34,196 $\pm$ 1,664	2,792 $\pm$ 571	3,523 $\pm$ 734	44.8 $\pm$ 4.1	4.0 $\pm$ 0.5	33.9 $\pm$ 2.8	211.8 $\pm$ 117.9

*พื้นที่เก็บตัวอย่าง : อำเภอเมือง (S1, S2 และ S3) อำเภอบ้านนาสาร (S4, S5 และ S6) และอำเภอคีรีรัฐนิคม (S7, S8 และ S9)

ในการศึกษาปริมาณแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองในผักเคลซึ่งเก็บตัวอย่างจากแหล่งเพาะปลูกในพื้นที่ทำการเกษตรจังหวัดสุราษฎร์ธานี ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง (S1, S2 และ S3) อำเภอบ้านนาสาร (S4, S5 และ S6) และอำเภอคีรีรัฐนิคม (S7, S8 และ S9) ซึ่งเป็นแหล่งเพาะปลูกที่มีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ดังนั้น จึงได้ทำการทดสอบทางสถิติเพื่อพิจารณาพื้นที่เพาะปลูกแต่ละแหล่งที่อาจมีผลต่อปริมาณแร่ธาตุที่ศึกษาโดยใช้สถิติความแปรปรวนทางเดียว (One way-ANOVA) มีผลทำให้ปริมาณแร่ธาตุทั้ง 8 ชนิดในตัวอย่างผักเคลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และสถิติทดสอบผลต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ (Tukey HSD) พบว่า ปริมาณแร่ธาตุที่มีในผักเคลที่ได้จากแหล่งเพาะปลูกแต่ละแหล่งมีความแตกต่างตามพื้นที่ดังแสดงในรูปที่ 4.1-4.8 เนื่องจากสภาพภูมิประเทศที่แตกต่างกันได้แก่ อำเภอเมืองมีภูมิประเทศเป็นที่ราบชายฝั่งทะเล อำเภอบ้านนาสารมีภูมิประเทศเป็นที่ราบสลับกับเนินเขา และอำเภอคีรีรัฐนิคมมีภูมิประเทศเป็นที่ราบสูงภูเขา รวมทั้งการเพาะปลูกพืชบนดิน การใช้ประโยชน์และการจัดการดินในแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกันมาเป็นระยะเวลานาน ดังนั้นดินในแต่ละแหล่งจึงมีองค์ประกอบของอินทรีย์สาร อินทรีย์สาร น้ำ และอากาศแตกต่างกันส่งผลให้ปริมาณแร่ธาตุแต่ละชนิดที่สะสมอยู่ในผักเคลในแต่ละพื้นที่เพาะปลูกมีปริมาณแตกต่างกันไปด้วย

โซเดียม (Na)

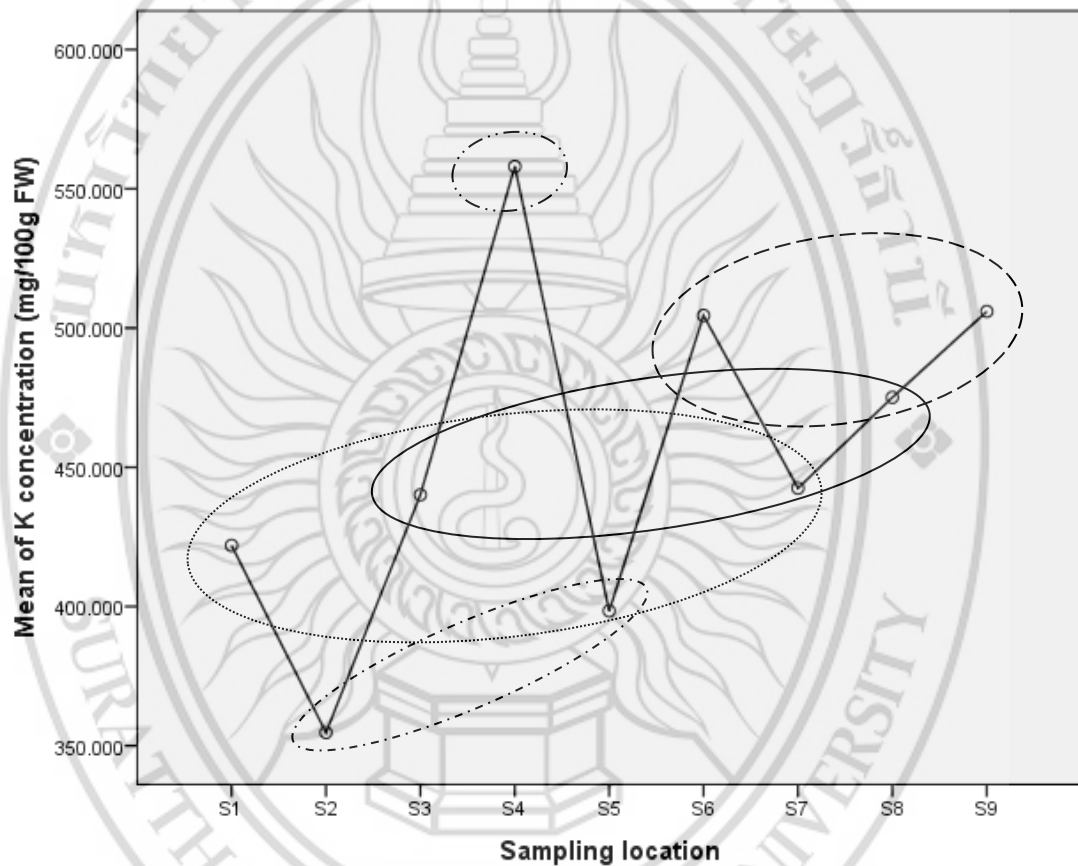
แหล่งเพาะปลูก S6 มีปริมาณโซเดียมต่ำสุด (0.647 mg/100g) และแหล่ง S1 มีปริมาณสูงสุด (1.353 mg/100g) สามารถจัดแหล่งเพาะปลูกได้เป็น 4 กลุ่ม ซึ่งมีปริมาณโซเดียมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีปริมาณโซเดียมเรียงลำดับจากน้อยไปมากดังนี้คือ กลุ่ม S6, S4 กลุ่ม S8, S7, S3 กลุ่ม S7, S3, S2, S9, S5 และกลุ่ม S1 ดังแสดงในภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ปริมาณเฉลี่ยของโซเดียม (Na) ในผักเหลียงจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)

โพแทสเซียม (K)

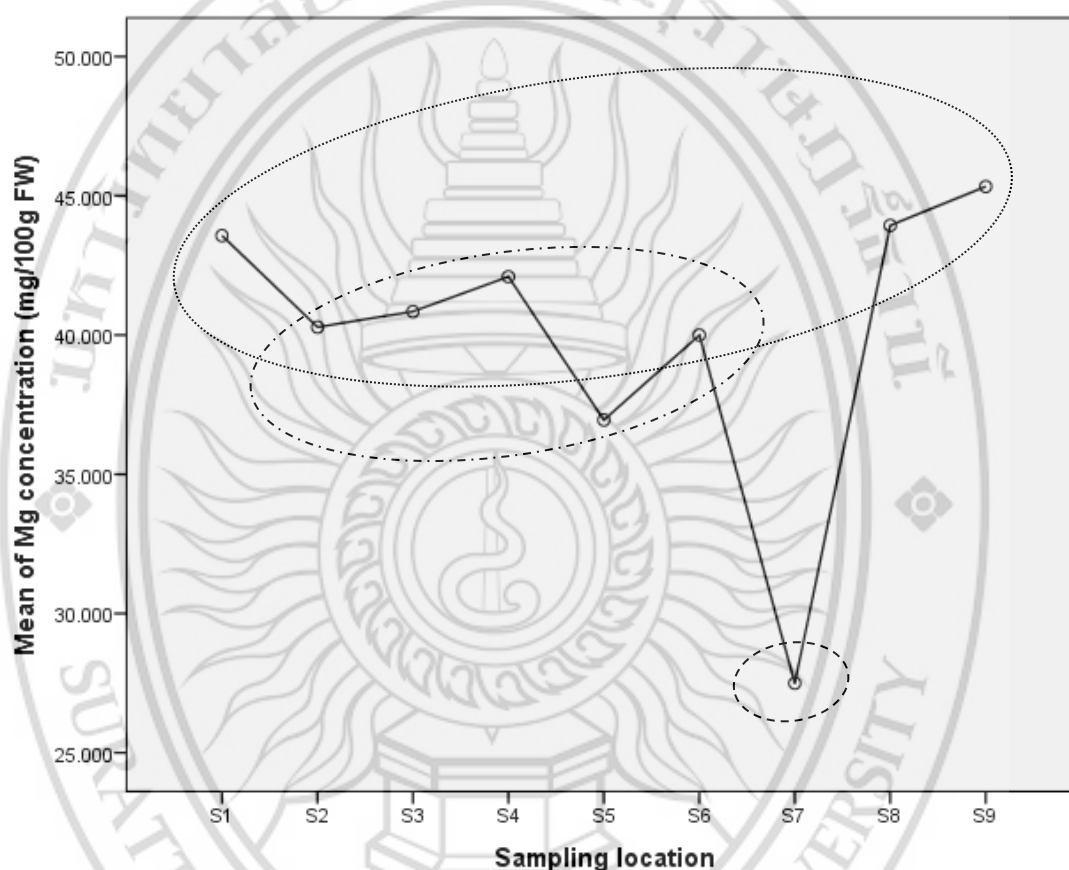
แหล่งเพาะปลูก S2 มีปริมาณโพแทสเซียมต่ำสุด (354.752 mg/100g) และแหล่ง S4 มีปริมาณสูงสุด (558.023 mg/100g) สามารถจัดแหล่งเพาะปลูกได้เป็น 5 กลุ่ม ซึ่งมีปริมาณโพแทสเซียมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีปริมาณโพแทสเซียมเรียงลำดับจากน้อยไปมากดังนี้คือ กลุ่ม S2, S5 กลุ่ม S5, S1, S3, S7 กลุ่ม S3, S7, S8 กลุ่ม S8, S6, S9 และกลุ่ม S4 ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 ปริมาณเฉลี่ยของโพแทสเซียม (K) ในผักเหียงจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)

แมกนีเซียม (Mg)

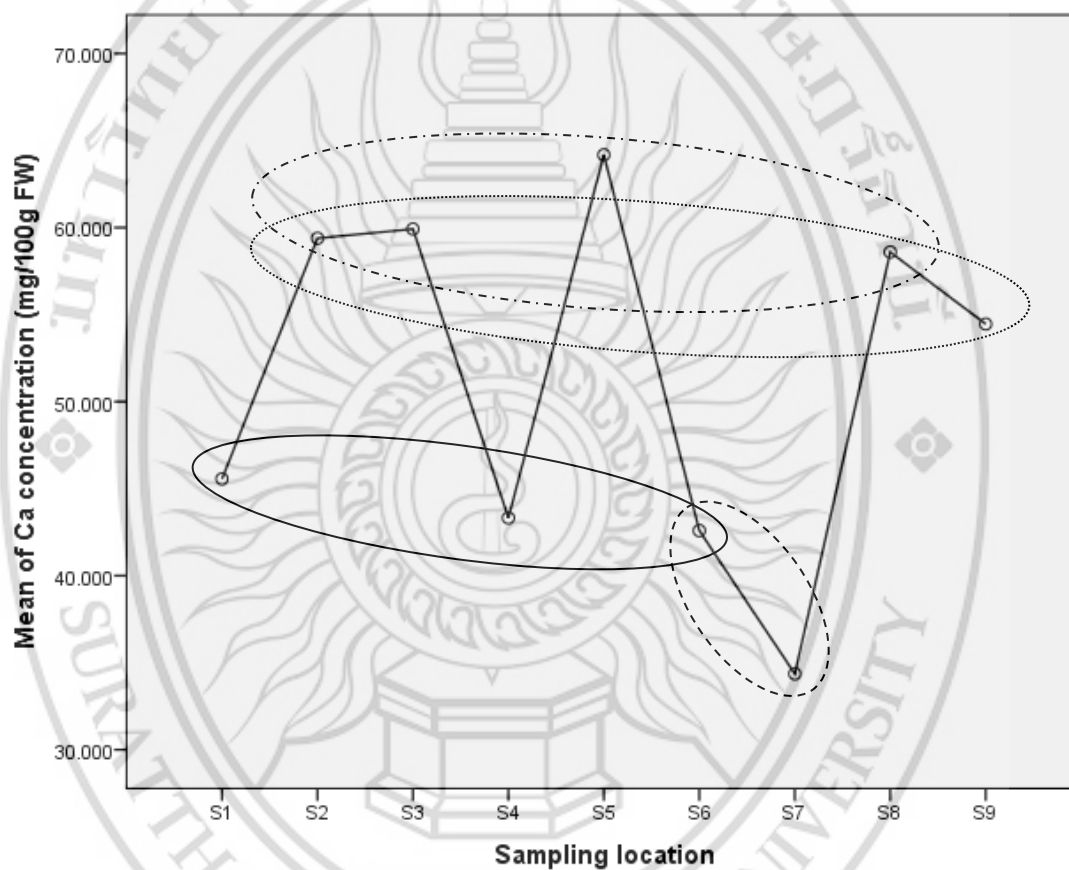
แหล่งเพาะปลูก S7 มีปริมาณแมกนีเซียมต่ำสุด (27.496 mg/100g) และแหล่ง S9 มีปริมาณสูงสุด (45.333 mg/100g) สามารถจัดแหล่งเพาะปลูกได้เป็น 3 กลุ่ม ซึ่งมีปริมาณแมกนีเซียมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีปริมาณแมกนีเซียมเรียงลำดับจากน้อยไปมาก ดังนี้คือ กลุ่ม S7 กลุ่ม S5, S6, S2, S3, S4 กลุ่ม S6, S2, S3, S4, S1, S8, S9 ดังแสดงในภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 ปริมาณเฉลี่ยของแมกนีเซียม (Mg) ในผักเหียงจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)

แคลเซียม (Ca)

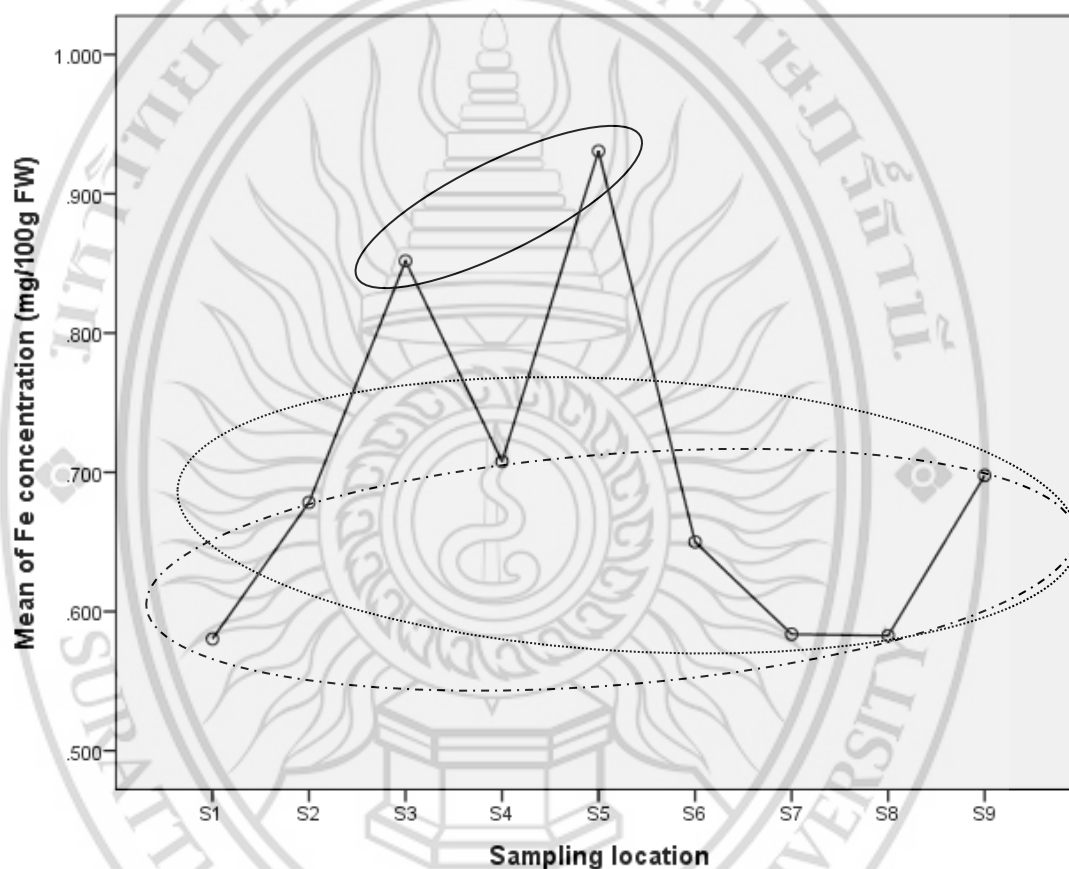
แหล่งเพาะปลูก S7 มีปริมาณแคลเซียมต่ำสุด (34.365 mg/100g) และแหล่ง S5 มีปริมาณสูงสุด (64.180 mg/100g) สามารถจัดแหล่งเพาะปลูกได้เป็น 4 กลุ่ม ซึ่งมีปริมาณแคลเซียมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีปริมาณแคลเซียมเรียงลำดับจากน้อยไปมาก ดังนี้คือ กลุ่ม S7, S6 กลุ่ม S6, S4, S1 กลุ่ม S9, S8, S2, S3 และ S8, S2, S3, S5 ดังแสดงในภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ปริมาณเฉลี่ยของแคลเซียม (Ca) ในผักเห็ดจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)

เหล็ก (Fe)

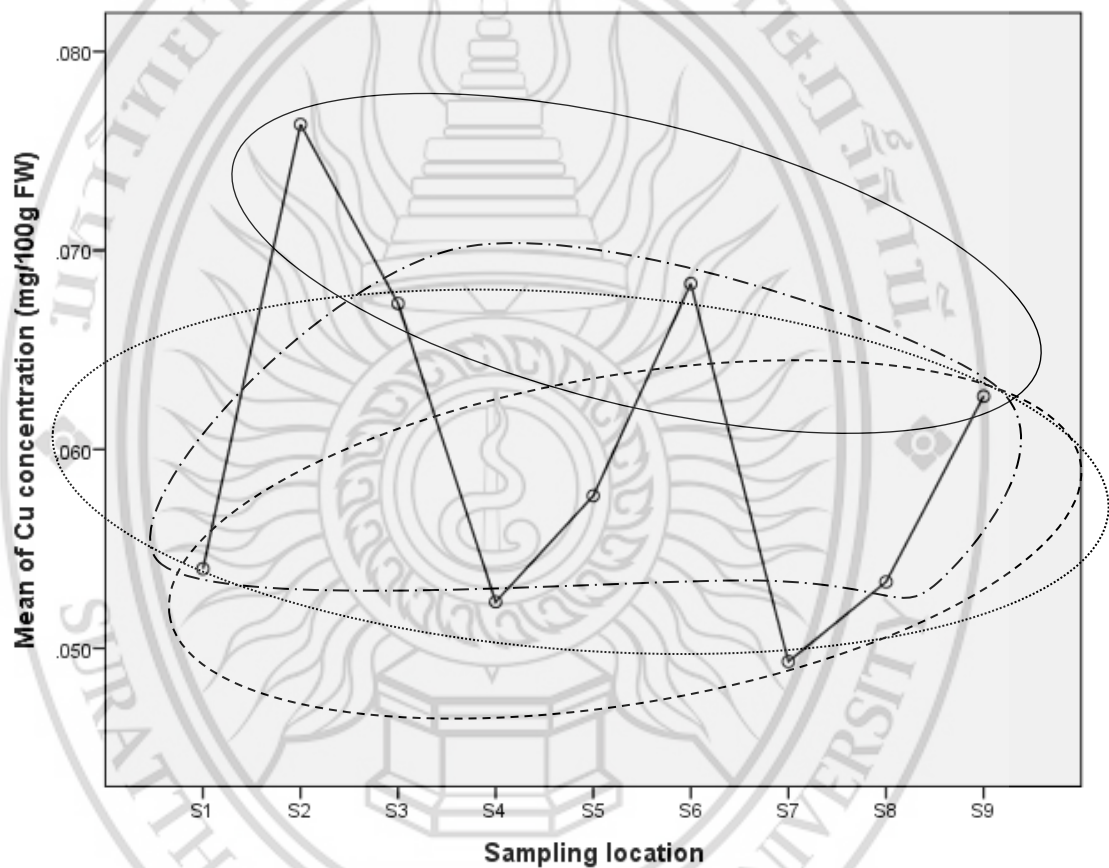
แหล่งเพาะปลูก S1 มีปริมาณเหล็กต่ำสุด (0.580 mg/100g) และแหล่ง S5 มีปริมาณสูงสุด (0.931 mg/100g) สามารถจัดแหล่งเพาะปลูกได้เป็น 3 กลุ่ม ซึ่งมีปริมาณเหล็กไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีปริมาณเหล็กเรียงลำดับจากน้อยไปมากดังนี้คือ กลุ่ม S1, S8, S7, S6, S2, S9 กลุ่ม S8, S7, S6, S2, S9, S4 และ S3, S5 ดังแสดงในภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 ปริมาณเฉลี่ยของเหล็ก (Fe) ในผักเหียงจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)

ทองแดง (Cu)

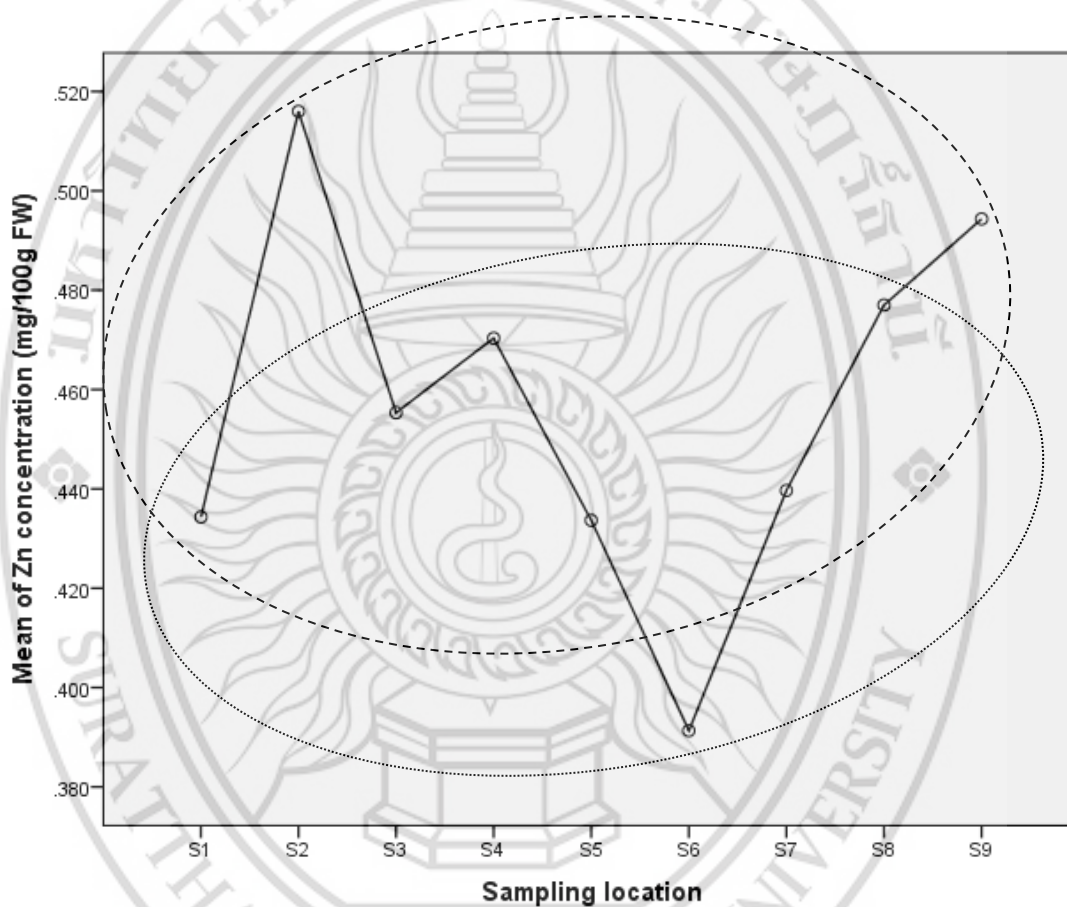
แหล่งเพาะปลูก S7 มีปริมาณทองแดงต่ำสุด (0.049 mg/100g) และแหล่ง S2 มีปริมาณสูงสุด (0.076 mg/100g) สามารถจัดแหล่งเพาะปลูกได้เป็น 4 กลุ่ม ซึ่งมีปริมาณทองแดงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีปริมาณทองแดงเรียงลำดับจากน้อยไปมากดังนี้คือ กลุ่ม S7, S4, S8, S1, S5, S9 กลุ่ม S4, S8, S1, S5, S9, S3 กลุ่ม S8, S1, S5, S9, S3, S6 และ S9, S3, S6, S2 ดังแสดงในภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 ปริมาณเฉลี่ยของทองแดง (Cu) ในผักเหียงจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)

สังกะสี (Zn)

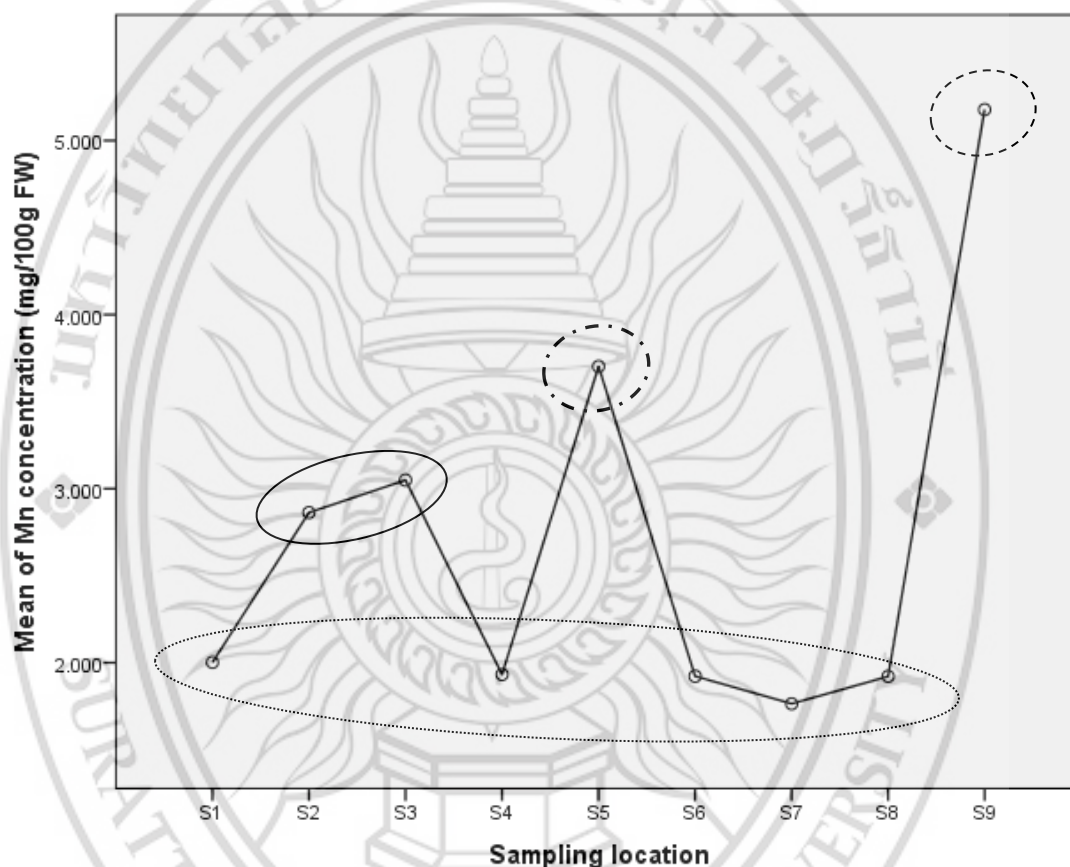
แหล่งเพาะปลูก S6 มีปริมาณสังกะสีต่ำสุด (0.391 mg/100g) และแหล่ง S2 มีปริมาณสูงสุด (0.516 mg/100g) สามารถจัดแหล่งเพาะปลูกได้เป็น 2 กลุ่ม ซึ่งมีปริมาณสังกะสีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีปริมาณสังกะสีเรียงลำดับจากน้อยไปมากดังนี้คือ กลุ่ม S6, S5, S1, S7, S3, S4, S8 และ S5, S1, S7, S3, S4, S8, S9, S2 ดังแสดงในภาพที่ 4.7



ภาพที่ 4.7 ปริมาณเฉลี่ยของสังกะสี (Zn) ในผักเหียงจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)

แมงกานีส (Mn)

แหล่งเพาะปลูก S7 มีปริมาณแมงกานีสต่ำสุด (1.764 mg/100g) และแหล่ง S9 มีปริมาณสูงสุด (5.178 mg/100g) สามารถจัดแหล่งเพาะปลูกได้เป็น 4 กลุ่ม ซึ่งมีปริมาณแมงกานีสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีปริมาณแมงกานีสเรียงลำดับจากน้อยไปมากดังนี้คือ กลุ่ม S7, S8, S6, S4, S1 กลุ่ม S2, S3 กลุ่ม S5 และ S9 ดังแสดงในภาพที่ 4.8



ภาพที่ 4.8 ปริมาณเฉลี่ยของแมงกานีส (Mn) ในผักเหียงจากแหล่งเก็บตัวอย่าง S1 ถึง S9 (ในหน่วย mg/100g น้ำหนักสด)

4.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

4.3.1 ความถูกต้อง (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

ในการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ มีการประเมินความถูกต้องและความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์โดยวิธี Spiked recovery โดยการเติมสารละลายมาตรฐานในปริมาณที่แน่นอนลงในตัวอย่างแล้วย่อยให้เป็นสารละลายด้วยระบบไมโครเวฟ และนำตัวอย่างที่ย่อยได้ไปวิเคราะห์ปริมาณ Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu และ Zn ด้วยเครื่อง ICP-OES และวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง แล้วตรวจสอบความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ โดยการคำนวณค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่แสดงถึงความถูกต้องและความเที่ยง ตามลำดับ ค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยของโลหะหนักทั้ง 8 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 89.7-108.4 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 6.7-9.9 (ดังแสดงในตารางที่ 4.5) ดังนั้น วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิค ICP-OES นี้ให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือได้เนื่องจากมีความถูกต้องและความเที่ยงอยู่ในระดับที่ยอมรับได้

4.3.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ)

เมื่อนำสารละลาย Method blank ที่ได้จากวิธีการย่อยด้วยไมโครเวฟไปวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง โดยเทคนิค ICP-OES เพื่อหาสัญญาณการวิเคราะห์ที่ได้ แล้วนำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณการวิเคราะห์ (Peak Intensity) ของ Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu และ Zn ไปคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOD) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ) ตามวิธีการที่ระบุไว้ในข้อ 3.3.7.3 ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.5 ค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ของแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรองที่วิเคราะห์โดยเทคนิค ICP-OES

ครั้งที่	ค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery)							
	Na	K	Mg	Ca	Fe	Cu	Zn	Mn
1	106.0	101.2	117.5	111.0	85.6	84.7	111.8	99.0
2	111.9	96.9	120.4	90.4	105.6	83.0	92.3	101.4
3	109.2	116.5	102.8	112.7	84.6	84.1	106.7	112.7
4	105.7	109.3	108.8	89.6	99.7	81.1	107.9	96.6
5	94.3	110.9	110.9	99.8	87.4	92.1	99.6	104.7
6	103.9	99.4	106.1	108.6	103.3	99.2	111.9	111.8
7	85.6	119.5	92.0	95.3	89.7	104.0	96.5	113.9
ค่าเฉลี่ย	102.4	107.6	108.4	101.1	93.7	89.7	103.8	105.7
SD	9.2	8.7	9.5	9.8	8.9	8.9	7.7	7.1
%RSD	9.0	8.1	8.7	9.7	9.5	9.9	7.4	6.7

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOD) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ)

ธาตุที่วิเคราะห์	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)
Na	32.5	108.3
K	7.0	23.3
Mg	20.8	69.2
Ca	58.9	196.3
Fe	1.6	5.3
Cu	0.9	3.1
Zn	2.0	6.8
Mn	0.2	0.5

4.4 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหียง

4.4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent และวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 765 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เมื่อนำตัวอย่างผักเหียงทั้ง 9 ตัวอย่างจาก 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอศรีรัฐนิคม อำเภอละ 3 พื้นที่ มาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากสมการในรูปของมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (mg Gallic acid/100g dry weight) ดังแสดงผลในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดผักเหียงในพื้นที่ต่าง ๆ ของจังหวัดสุราษฎร์ธานี (n = 3)

ตัวอย่างผักเหียง	พื้นที่	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/100g dry weight)
S1	อำเภอเมือง	126.19 ± 3.57
S2	อำเภอเมือง	121.26 ± 1.67
S3	อำเภอเมือง	149.53 ± 4.50
Mean ± SD		132.33 ± 15.10 ^b
S4	อำเภอบ้านนาสาร	73.21 ± 1.56
S5	อำเภอบ้านนาสาร	102.51 ± 1.99
S6	อำเภอบ้านนาสาร	90.29 ± 2.14
Mean ± SD		88.67 ± 14.72 ^a
S7	อำเภอคีรีรัฐนิคม	127.79 ± 2.70
S8	อำเภอคีรีรัฐนิคม	109.15 ± 1.33
S9	อำเภอคีรีรัฐนิคม	121.33 ± 2.55
Mean ± SD		119.42 ± 9.47 ^b

a, b, c แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

จากการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า สารสกัดเอทานอลของผักเหียงจากอำเภอเมือง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วงระหว่าง 121.26-149.53 mg GAE/100 g DW ในขณะที่สารสกัดเอทานอลจากผักเหียงจากอำเภอบ้านนาสาร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วงระหว่าง 73.21-102.51 mg GAE/100 g DW และสารสกัดเอทานอลของผักเหียงที่เก็บตัวอย่างจากอำเภอคีรีรัฐนิคม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วงระหว่าง 109.15-127.79 mg GAE/100 g DW

4.4.2 ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

การศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์ริก $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ ซึ่งไม่มีสี ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์รัส $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ ซึ่งมีสีน้ำเงินม่วง โดย $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ปริมาณของ

$[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้น สามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูปของ FRAP value

ผลการทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเหลียงจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล จำนวน 9 ตัวอย่างในพื้นที่ 3 อำเภอของจังหวัดสุราษฎร์ธานี ด้วยวิธี FRAP (ตารางที่ 4.8) พบว่า สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมือง มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP value) ในช่วงระหว่าง 128.81 – 132.46 $\mu\text{M FeSO}_4/100 \text{ g DW}$ ในขณะที่สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอบ้านนาสาร มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP value) ในช่วงระหว่าง 89.01–101.59 $\mu\text{M FeSO}_4/100 \text{ g DW}$ และสารสกัดเอทานอลของผักเหลียงที่เก็บตัวอย่างจากอำเภอคีรีรัฐนิคม มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP value) ในช่วงระหว่าง 131.02 – 160.70 $\mu\text{M FeSO}_4/100 \text{ g DW}$

ตารางที่ 4.8 แสดงประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดผักเหลียงในพื้นที่ต่าง ๆ ของจังหวัดสุราษฎร์ธานี (n = 3)

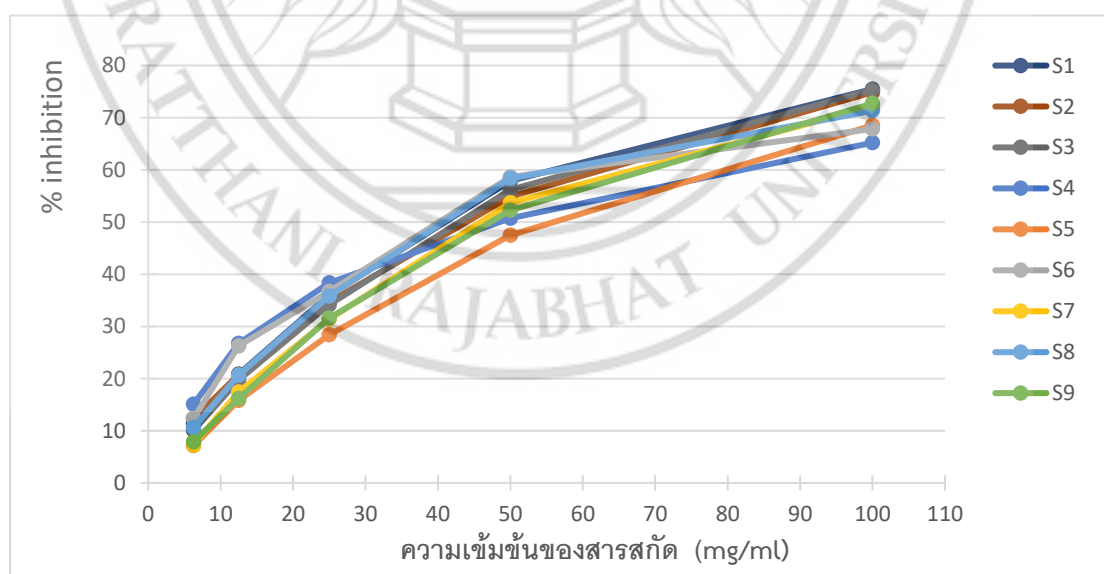
ตัวอย่างผักเหลียง	พื้นที่	ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ ($\mu\text{M FeSO}_4/100\text{g dry weight}$)
S1	อำเภอเมือง	128.81 $\pm$ 4.96
S2	อำเภอเมือง	132.46 $\pm$ 5.50
S3	อำเภอเมือง	129.47 $\pm$ 7.67
Mean $\pm$ SD		130.24 $\pm$ 1.94 ^b
S4	อำเภอบ้านนาสาร	89.01 $\pm$ 4.35
S5	อำเภอบ้านนาสาร	101.59 $\pm$ 0.31
S6	อำเภอบ้านนาสาร	93.03 $\pm$ 2.61
Mean $\pm$ SD		94.55 $\pm$ 6.43 ^a
S7	อำเภอคีรีรัฐนิคม	160.70 $\pm$ 2.80
S8	อำเภอคีรีรัฐนิคม	135.56 $\pm$ 5.33
S9	อำเภอคีรีรัฐนิคม	131.02 $\pm$ 1.86
Mean $\pm$ SD		142.43 $\pm$ 15.99 ^c

a, b, c แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.4.3 ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH)

การศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH อาศัยหลักการของสาร DPPH ที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร (stable free radical) สารละลายนี้จะมีสีม่วงเข้ม ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร (nm) เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปอยู่ในรูปออกซิไดซ์ DPPH สังเกตได้จากการจางลงของสีม่วงในสารละลาย ซึ่งก็คือการลดลงของ DPPH ที่มีผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดผักเหลียงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด โดยที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมือง มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่างร้อยละ 74.86 – 75.47 สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอบ้านนาสาร มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่างร้อยละ 65.20 – 68.52 และสารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอคีรีรัฐนิคม มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่างร้อยละ 71.30 – 72.71 (ภาพที่ 4.9) โดยเมื่อนำมาคำนวณค่า IC_{50} ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดด้วยเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอคีรีรัฐนิคม มีค่าเท่ากับ 54.368 ± 0.911 , 60.573 ± 4.293 และ 57.569 ± 1.702 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9) และเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบ พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลของผักเหลียงมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH น้อยกว่าสารมาตรฐาน ascorbic acid (0.022 ± 0.000 mg/ml) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05



ภาพที่ 4.9 ค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition) ของสารสกัดผักเหลียง

ตารางที่ 4.9 แสดงประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (IC₅₀) ของสารสกัดผักเหลียงในพื้นที่ต่างๆ ของจังหวัดสุราษฎร์ธานีเทียบกับสารมาตรฐาน Ascorbic acid (n = 3)

ตัวอย่างผักเหลียง	พื้นที่	ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ IC ₅₀ (mg/ml)
S1	อำเภอเมือง	53.315
S2	อำเภอเมือง	54.907
S3	อำเภอเมือง	54.880
Mean ± SD		54.368 ± 0.911 ^{a*}
S4	อำเภอบ้านนาสาร	60.774
S5	อำเภอบ้านนาสาร	64.762
S6	อำเภอบ้านนาสาร	56.183
Mean ± SD		60.573 ± 4.293 ^{a*}
S7	อำเภอคีรีรัฐนิคม	59.096
S8	อำเภอคีรีรัฐนิคม	55.735
S9	อำเภอคีรีรัฐนิคม	57.877
Mean ± SD		57.569 ± 1.702 ^{a*}
สารมาตรฐาน Ascorbic acid		0.022 ± 0.000

a, b, c แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* แสดงถึงความแตกต่างจากสารมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ผักเหลียงเป็นผักพื้นบ้านที่พบได้หลายพื้นที่ในภาคใต้ แต่มีรายงานผลการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผักเหลียงค่อนข้างจำกัด การศึกษาของ ดลฤดี พิษย์รัตน์ และ นพรัตน์ มะเห (2557) วิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหลียงจากตลาดในอำเภอต่างๆ ในจังหวัดตรัง ได้แก่ อำเภอย่านตาขาว อำเภอสิเกา อำเภอปะเหลียน และอำเภอนาโยง พบว่า ผักเหลียงในรูปสด มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 180.95 ± 2.84 mg GAE/100 g โดยพบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของผักเหลียงโดยวิธี DPPH และวิธี FRAP เท่ากับ 26.87 ± 0.40 และ 17.08 ± 0.51 mg GAE/100 g น้ำหนักสด ตามลำดับ สำหรับการศึกษาในจังหวัดสุราษฎร์ธานี กามิละห์ ยะโกะ และคณะ (2018) วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของผักเหลียงในเขตพื้นที่อำเภอเมืองโดยวิธี FRAP เปรียบเทียบระหว่างฤดูร้อนและฤดูฝน พบว่า ในฤดูฝน พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยเฉลี่ยในผักเหลียงเท่ากับ 279.23 ± 47.70 mg GAE/100 g โดยมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล

อิสระ (ด้วยวิธี FRAP) เท่ากับ $883.80 \pm 89.66 \mu\text{mol TE}/100\text{g}$ และในฤดูร้อน ผักเหียงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยเท่ากับ $584.73 \pm 53.67 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$ โดยมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เท่ากับ $430.83 \pm 203.20 \mu\text{mol TE}/100\text{g}$ ซึ่งพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่วิเคราะห์ได้จากการศึกษาของกามีละห์ ยะโกะ (2561) สูงกว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการศึกษานี้ ที่พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในผักเหียง (เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนธันวาคม 2564 – มกราคม 2565 ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน) อยู่ในช่วงระหว่าง $88.67 \pm 14.72 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$ (พื้นที่อำเภอบ้านนาสาร) ถึง $132.33 \pm 15.10 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$ (พื้นที่อำเภอเมือง) ทั้งนี้สาเหตุอาจเนื่องมาจากการเตรียมและกรรมวิธีการสกัดตัวอย่างที่แตกต่างกันระหว่างการศึกษ โดยการศึกษาวิจัยนี้ใช้วิธีการอบแห้งโดยใช้ Hot air oven ซึ่งอาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนสูญเสียคุณค่าไปในระหว่างการทำแห้ง ส่งผลให้การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมมีค่าต่ำกว่าการศึกษาของกามีละห์ ยะโกะ (2018) ที่ใช้วิธีการทำแห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง แต่อย่างไรก็ตาม ผลจากการศึกษานี้ พบว่า ผักเหียงซึ่งเป็นผักพื้นบ้านทางภาคใต้ มีสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าผักพื้นบ้านอื่นๆ ในพื้นที่ เช่น หัวปลี ($23.5 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$) มะระขี้นก ($69.5 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$) เป็นต้น (Pranprawit, A., 2019) และผักพื้นบ้านหลากหลายชนิดในพื้นที่อื่นๆ เช่น ผักหนาม ($50.14 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$) และเฒ่าไขปลา ($64.03 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$) ในพื้นที่จังหวัดตรัง (ดลฤดี พิษย์รัตน์ และ นพรัตน์ มะเห, 2557) รวมถึงผักทั่วไปที่นิยมบริโภค เช่น กะหล่ำดอก ($81 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$) กะหล่ำปลี ($46 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$) และแตงกวา ($17 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$) (Isabelle, M., et. al., 2010) เป็นต้น ดังนั้น ผลจากการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นว่า ผักเหียงจัดเป็นผักพื้นบ้านที่เป็นแหล่งที่ดีที่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณภาพสูง จึงมีความเหมาะสมสำหรับนำมาบริโภคในชีวิตประจำวันหรือนำไปใช้ในการประกอบอาหาร เพื่อประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพสำหรับผู้บริโภคในชุมชนท้องถิ่นต่อไป

นอกจากนั้น ในการศึกษาวิจัยยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในระดับปานกลาง ($r = 0.748, p < 0.01$) และพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในระดับสูง ($r = 0.915, p < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 4.10 ซึ่งรายงานความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยที่ผ่านมาจำนวนมากที่ศึกษาเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในพืชหลากหลายชนิด (Charoenteeraboon et.al., 2019; Pranprawit A., 2014; วรานนท์ ทองอินลา และคณะ, 2557; นฤวัตร ภักดี และคณะ, 2021)

ตารางที่ 4.10 ค่า Pearson's correlation แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างผักเหළียง

	FRAP	DPPH
TPC	0.748*	0.915*

* แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่เป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งสารกลุ่มนี้ประกอบด้วยสารหลายชนิดที่ทำงานเสริมกัน มีความแตกต่างกันตามแต่ลักษณะและองค์ประกอบของสาร สามารถสกัดออกมาด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกัน (Ramamoorthy and Bono, 2007) ซึ่งจากการศึกษาวิจัยด้านสารต้านอนุมูลอิสระในพืช พบว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอลจะให้ปริมาณสารสกัดที่มากและมีความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี ดังนั้นในการศึกษาวิจัยนี้จึงเลือกใช้การสกัดด้วยเอทานอล ซึ่งนอกจากจะได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพแล้ว สารละลายเอทานอลยังมีความปลอดภัยมากกว่าสารละลายชนิดอื่นๆ ที่นิยมใช้ในการสกัด เช่น เฮกเซน เอทิลอะซิเตต หรือเมทานอล ฯลฯ จึงสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปต่อยอดการนำสารสกัดดังกล่าวไปใช้ในงานด้านเภสัชวิทยาหรือด้านผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่อไป

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารประกอบฟีนอลิก และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างผักเหียงที่เพาะปลูกใน จังหวัดสุราษฎร์ธานี ได้เก็บตัวอย่างผักเหียงส่วนที่เป็นยอดอ่อน ในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 โดยวิธีการสุ่มจากพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอบ้านนาสาร และอำเภอคีรีรัฐนิคม ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการตามวิธีมาตรฐาน AOAC ผลการศึกษาปริมาณ ความชื้น เถ้า โยอาหาร โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต พบว่าปริมาณความชื้นของผักเหียง มีค่า ร้อยละ 84.72 - 87.52 ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักสด) มีค่าร้อยละ 0.78 - 1.07 และปริมาณ คุณค่าทางโภชนาการ (ร้อยละโดยน้ำหนักสด) ได้แก่ ปริมาณโยอาหาร โปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรต มีค่าร้อยละ 3.06 - 3.81, 3.44 - 4.68, 0.65 - 1.08 และ 7.49 - 9.55 ตามลำดับ และพบว่าตัวอย่างผักเหียงจากอำเภอบ้านนาสารมีค่าเฉลี่ยสูงสุดของปริมาณเถ้า (ร้อยละ 0.97) โปรตีน (ร้อยละ 4.34) ไขมัน (ร้อยละ 1.00) และคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 8.73) ในขณะที่ตัวอย่างผัก เหียงจากอำเภอเมืองมีค่าเฉลี่ยของปริมาณความชื้น (ร้อยละ 86.91) สูงที่สุด และตัวอย่างผักเหียง จากอำเภอคีรีรัฐนิคมมีค่าเฉลี่ยของปริมาณโยอาหาร (ร้อยละ 3.44) สูงที่สุด แหล่งเพาะปลูกที่พบว่ามี ปริมาณคุณค่าทางโภชนาการในผักเหียงต่ำสุดเป็นดังนี้ ผักเหียงจากอำเภอเมือง มีปริมาณเฉลี่ย ของเถ้า โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 0.85, 3.76 และ 7.77 ตามลำดับ ผักเหียงจากอำเภอบ้านนาสาร มีปริมาณเฉลี่ยของความชื้น และโยอาหาร ร้อยละ 84.96 และ 3.12 ตามลำดับ ตัวอย่าง ผักเหียงจากอำเภอคีรีรัฐนิคม มีปริมาณเฉลี่ยของไขมัน ร้อยละ 0.69 ในการศึกษาปริมาณแร่ธาตุใน ตัวอย่างผักเหียง ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยการย่อยในระบบไมโครเวฟ ตามด้วยการวิเคราะห์ ปริมาณแร่ธาตุโดยเทคนิค ICP-OES ผลการศึกษาพบว่า แร่ธาตุหลักในตัวอย่างผักเหียงเรียงลำดับ จากปริมาณมากไปน้อยเป็นดังนี้คือ K, Ca, Mg, และ Na ซึ่งมีค่า 354.75 - 558.02, 34.37 - 64.18, 27.50 - 45.33 และ 0.65 - 1.35 mg/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ แร่ธาตุหลักที่มีปริมาณสูงที่สุด คือ K และแร่ธาตุหลักที่มีปริมาณน้อยที่สุด คือ Na และปริมาณแร่ธาตุรองในตัวอย่างผักเหียงเรียงลำดับ จากมากไปน้อยเป็นดังนี้คือ Mn, Fe, Zn และ Cu ซึ่งมีค่า 1.76 - 5.18, 0.58 - 0.93, 0.39 - 0.52 และ 0.05 - 0.08 mg/100g น้ำหนักสด ตามลำดับ โดย Mn มีเป็นปริมาณสูงที่สุด ในขณะที่ Cu มี ปริมาณน้อยที่สุดของแร่ธาตุรองทั้งหมดที่ได้วิเคราะห์ เมื่อพิจารณาปริมาณแร่ธาตุหลัก (Na, K, Mg และ Ca) และแร่ธาตุรอง (Fe, Cu, Zn และ Mn) ที่มีในตัวอย่างผักเหียงเปรียบเทียบกับปริมาณแร่

ธาตุที่แนะนำให้ได้รับจากการบริโภคต่อวัน โดยคิดเป็นร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ต่อวัน (Daily value, %) พบว่า Mn ในตัวอย่างผักเหียงมีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ต่อวันอยู่ในระดับสูง (ร้อยละ 30.9 – 105.1) ในขณะที่มีแร่ธาตุ 6 ชนิด ได้แก่ K, Mg, Ca, Fe, Cu และ Zn มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ต่อวันในระดับที่ค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 1.0 – 5.2) สำหรับแร่ธาตุ Na มีค่าร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ต่อวันในระดับที่ต่ำมาก (ร้อยละ 0.01 – 0.03) ดังนั้นผักเหียงจึงจัดเป็นแหล่งของแร่ธาตุที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแร่ธาตุ Mn ในการศึกษาปริมาณแร่ธาตุในผักเหียง ซึ่งเก็บตัวอย่างจากแหล่งเพาะปลูกในพื้นที่ทำการเกษตรจังหวัดสุราษฎร์ธานี ทั้ง 9 แหล่ง เป็นแหล่งเพาะปลูกที่มีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ดังนั้น จึงได้ทดสอบทางสถิติเพื่อพิจารณาพื้นที่เพาะปลูกแต่ละแหล่งที่อาจมีผลต่อปริมาณแร่ธาตุที่ศึกษาโดยใช้สถิติความแปรปรวนทางเดียว (One way-ANOVA) พบว่าแหล่งเพาะปลูกซึ่งมีสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน มีผลทำให้ปริมาณแร่ธาตุทั้ง 8 ชนิดในผักเหียงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และสถิติทดสอบผลต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ (Tukey HSD) พบว่า ปริมาณแร่ธาตุที่มีในผักเหียงที่ได้จากแหล่งเพาะปลูกแต่ละแหล่งแตกต่างกัน

ในการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ มีการประเมินความถูกต้องและความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์โดยวิธี Spiked recovery และวิเคราะห์ปริมาณ Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu และ Zn ด้วยเทคนิค ICP-OES แล้วตรวจสอบความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ โดยการคำนวณค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ที่แสดงถึงความถูกต้องและความเที่ยง ตามลำดับ ค่าร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยของโลหะหนักทั้ง 8 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 89.7-108.4 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 6.7-9.9 และผลการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจหาปริมาณได้ (LOQ) สำหรับแร่ธาตุ Na, K, Mg, Ca, Fe, Cu, Zn และ Mn มีค่าเท่ากับ 108.3, 23.3, 69.2, 196.3, 5.3, 3.1, 6.8 และ 0.5 ng/g ตามลำดับ

การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent และวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 765 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เมื่อนำตัวอย่างผักเหียงทั้ง 9 แหล่งเพาะปลูก มาวัดค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากสมการในรูปของมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (mg gallic acid/100g dry weight) ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเอทานอลของผักเหียงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 73.21-149.53 mg GAE/100 g Dry weight โดยผักเหียงที่เพาะปลูกในพื้นที่อำเภอบ้านนาสาร มีปริมาณฟีนอลิกรวมต่ำกว่าในพื้นที่อำเภอศรีรัฐนิคม และพื้นที่อำเภอเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ผลการทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเหียง จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเอทานอลของผักเหียงจากอำเภอบ้านนาสารมี

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP value) ต่ำที่สุด อยู่ในช่วงระหว่าง 89.01–101.59 $\mu\text{M FeSO}_4/100 \text{ g Dry weight}$ รองลงมา คือ สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมือง 128.81 –132.46 $\mu\text{M FeSO}_4/100 \text{ g Dry weight}$ และสูงที่สุดในอำเภอคีรีรัฐนิคม ที่พบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP value) ในช่วงระหว่าง 131.02 –160.70 $\mu\text{M FeSO}_4/100 \text{ g Dry weight}$ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ที่พบผลการศึกษว่าสารสกัดผักเหลียงที่สกัดด้วยเอทานอล มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด โดยที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอบ้านนาสาร มีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่างร้อยละ 65.20 – 68.52 ซึ่งต่ำกว่าสารสกัดเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอเมืองและอำเภอคีรีรัฐนิคม ซึ่งมีค่าร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่างร้อยละ 71.30 – 75.47 โดยเมื่อนำมาคำนวณค่า IC_{50} ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดด้วยเอทานอลของผักเหลียงจากอำเภอบ้านนาสาร อำเภอคีรีรัฐนิคม และอำเภอเมือง จะมีค่าเท่ากับ 60.573 ± 4.293 , 57.569 ± 1.702 และ 54.368 ± 0.911 , มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบ พบว่า สารสกัดด้วยเอทานอลของผักเหลียงทั้ง 9 แหล่งเพาะปลูก มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH น้อยกว่าสารมาตรฐาน Ascorbic acid ($0.022 \pm 0.000 \text{ mg/ml}$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยในการศึกษานี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในระดับปานกลาง ($r = 0.748$, $p < 0.01$) และพบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกับประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในระดับสูง ($r = 0.915$, $p < 0.01$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 1) ควรมีการนำข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการสำหรับการนำพืชผักพื้นบ้านในท้องถิ่นมาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และใช้ประโยชน์ในการแนะนำการบริโภคในชุมชนเพื่อการป้องกันและรักษาโรคเรื้อรัง
- 2) ควรมีการขยายขอบเขตการศึกษาวิจัยในพื้นที่อำเภออื่นๆ ของจังหวัดสุราษฎร์ธานี รวมทั้งจังหวัดอื่นๆ ในภาคใต้ที่มีการเพาะปลูกต้นเหลียง เพื่อให้ผลการศึกษามีความครอบคลุมกลุ่มตัวอย่างมากที่สุด
- 3) ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการปนเปื้อนของโลหะหนักที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ เช่น ตะกั่ว แคดเมียม สารหนู เป็นต้น ที่อาจเกิดการสะสมในต้นผักเหลียงในบางพื้นที่ที่อาจมีการปนเปื้อนของสารมลพิษเหล่านั้น เพื่อเป็นข้อมูลในการประเมินความเสี่ยงต่อผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

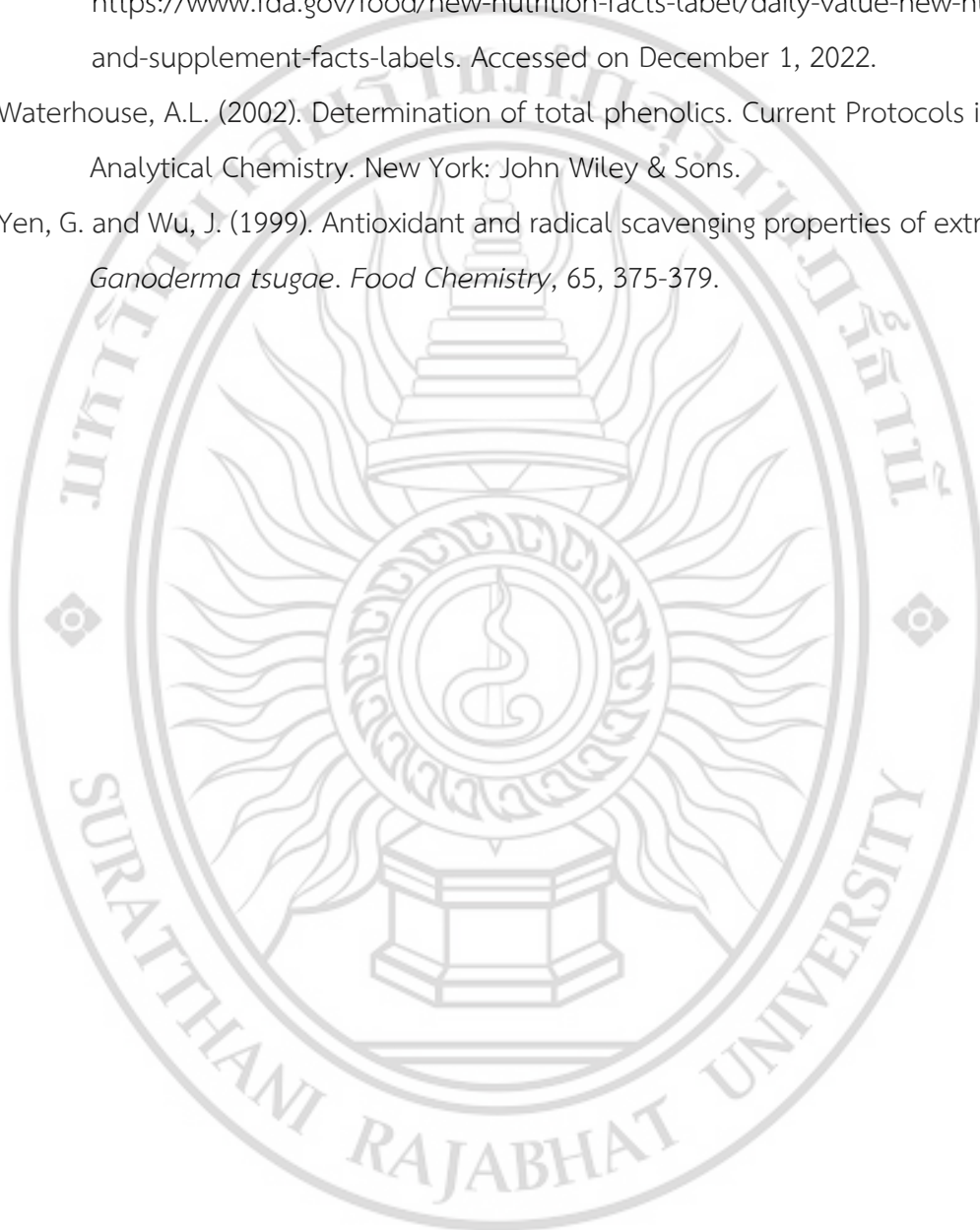
- กามีละห์ ยะโกะ. (2560). ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านในจังหวัดสุราษฎร์ธานี. รายงานการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติและนานาชาติ, 1(8), 233-243.
- กามีละห์ ยะโกะ, ทศนพรรณ เวชศาสตร์ และ ภูษิยา สุวรรณโชติ. (2561). สารประกอบฟีนอลิกของผักพื้นบ้าน 10 ชนิดในจังหวัดสุราษฎร์ธานี. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, 16(2), 185-194.
- ดลฤดี พิชัยรัตน์ และ นพรัตน์ มะเห. (2557). ผลของการลวกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของผักพื้นบ้านภาคใต้บางชนิด. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 6(2): 36-46.
- นฤวัตร ภักดี, รณชัย ภูวนันนา และ จตุพร ประทุมเทศ. (2564). การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมจากเมล็ดแตงโม. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 7(2), 52-60.
- บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21(3): 275-286.
- พนิดา แสนประกอบ. (2561). การศึกษาสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านในจังหวัดร้อยเอ็ด. วารสารวิชาการเกษตร, 36(3): 293-301.
- พีรดา แซ่เตี้ยว. (2555). วิจัยนิพนธ์ การใช้เกษตรกรที่เหมาะสมในการผลิตผักเลี้ยงของเกษตรกรในตำบลราชกรูด อำเภอเมือง จังหวัดระนอง. เกษตรศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.
- วรานนท์ ทองอินลา, ชลธิชา วรณวิมลรักษ์ และ ภารดี ช่วยบำรุง. (2557). ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลไม้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DMPD กับปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, 19(2): 93-104.
- วินัย ดะห์ลัน, สุจิตรา บุญหยง, ทิพยเนตร อริยปิณฑ์, ไพลิน สิริวิเชียรวงศ์ และ วนิดา นพพรพันธ์. (2544). อาหาร โภชนาการและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร. คณะสหเวชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศรมณ สุทิน. (2559). วิตามินกับอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 2(1): 80-92.

- อนงนาฏ ไพนุพงศ์. (2560). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. วารสารวิชาการชายันต์ เทค มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต, 1(2): 20-27.
- อบเชย วงศ์ทอง. (2542). “พฤติกรรมกรรมการบริโภคอาหารพื้นบ้านภาคใต้” ใน ผักพื้นบ้านและอาหารพื้นบ้าน 4 ภาค. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพฯ.
- อุบลวรรณ อุโพธิ์. (2539). รายงานวิจัย การศึกษาทางสัณฐานวิทยาและทางกายวิภาคของผักเหลียง. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒภาคใต้.
- เอกราช บำรุงพืชน์. (2563). สมุนไพรและสารพฤกษเคมี. [Online] เข้าถึงได้จาก: <https://www.dpu.ac.th/antiaging/upload/content/files>. สืบค้นเมื่อ 1 กุมภาพันธ์ 2563.
- Aletor, O., Oshodi, A.A., Ipinmoroti, K. (2002). Chemical compositions of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. *Food Chemistry*, 78, 63-68.
- Arias, A., Feijoo, G., & Moreira, M.T. (2022). Exploring the potential of antioxidants from fruits and vegetables and strategies for their recovery. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 77, 102974.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Charoenteeraboon, J., Ngawhirunpat, T., Chaidedgumjorn, A., Asavapichayont, P., Mahadlek, J., & Tuntarawongsa, S. (2019). Total phenolic content and antioxidant activities of different parts of hom thong banana extract and extraction related factors. *Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 47-60.
- Dean, J. R. (2003). *Methods for Environmental Trace Analysis*. Chichester: John Wiley & Sons.
- Hernandez, D. F., Cervantes, E. L., Luna-Vital, D. A., & Mojica, L. (2020). Food-derived bioactive compounds with anti-aging potential for nutricosmetic and cosmeceutical products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7, 1-16.
- Isabelle, M., Lee, B.L., Lim, M.T., Koh, W.P., Huang, D., & Ong, C.N. (2010). Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. *Food Chemistry*, 120, 993-1003.

- Jiménez-Aguilar, D.M. & Grusak, M.A. (2017). Minerals, vitamin C, phenolics, flavonoids and antioxidant activity of *Amaranthus* leafy vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 33-39.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61, 1361779.
- Kongkachuichai, R., Charoensiri, R., Yakoh K., Kringkasemsee, A., & Insung, P. (2015). Nutrients value and antioxidant content of indigenous vegetables from Southern Thailand. *Food Chemistry*, 173, 838-846.
- Latimer, G.W. (2012). Official methods of analysis of AOAC, International 19th edition, AOAC International, Maryland, USA.
- Latimer, G.W. (2016). Official methods of analysis of AOAC, International 20th edition, AOAC International, Maryland, USA.
- Molan, A. L., Lila, M. A., Mawson, J., & De, S. (2009). *In vitro* and *in vivo* evaluation of the prebiotic activity of water-soluble blueberry extracts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(7), 1243-1249.
- Ozcan, T., Akpinar-Bayazit, A., Yilmaz-Ersan, L., & Delikanli, B. (2014). Phenolics in human health. *International Journal of chemical engineering and applications*, 5(5), 393-396.
- Pourmorad, F., Hosseini-mehr, S.J. & Shahabimajid, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1142-1145.
- Pranprawit, A., Heyes, J. A., Molan, A. L., & Kruger, M. C. (2015). Antioxidant activity and inhibitory potential of blueberry extracts against key enzymes relevant for hyperglycemia. *Journal of Food Biochemistry*, 39(1), 109-118.
- Pranprawit, A. (2019). Local Vegetables Traditionally Used for Lowering Hyperglycemia in Surat thani Province, Thailand. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(S3), 3-6.
- Punchay, K., Inta, A., Tiansawat, P., Balslev, H., & Wangpakapattanawong, P. (2020). Nutrient and mineral compositions of wild leafy vegetables of the Karen and Lawa communities in Thailand. *Foods*, 9, 1748.

- Ramamoorthy, P.K. & A. Bono. (2007). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda Citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. *Journal of Engineering Science & Technology*, 2, 70-80.
- Ronald L. Prior, X. W. and Karen Schaich. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chemistry*, 53: 4290-4302.
- Sarker, U. & Oba, S. (2020). Nutrients, minerals, pigments, phytochemicals, and radical scavenging activity in *Amaranthus blitum* leafy vegetables. *Scientific Reports*, 10, 3868.
- Satter, M. M. A., Khan, M. M. R. L., Jabin, S. A., Abedin, N., Islam, M. F., & Shaha, B. (2016). Nutritional quality and safety aspects of wild vegetables consume in Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(2), 125-131.
- Schreinemachers, P., Simmons, E.B., & Wopereis, M.C.S. (2018). Tapping the economic and nutritional power of vegetables. *Global Food Security*, 16, 36-45.
- Sik, B., Ajtony, Z., Lakatos, E., & Szekelyhidi, R. (2022). The effects of extraction conditions on the antioxidant activities, total polyphenol and monomer anthocyanin contents of six edible fruits growing wild in Hungary. *Heliyon*, 8, e12048.
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sultanbawa, Y. and Sivakumar, D. (2022). Enhanced nutritional and phytochemical profiles of selected underutilized fruits, vegetables, and legumes. *Current Opinion in Food Science*, 46, 100853.
- Turati, F., Rossi, M., Pelucchi, C., Levi, F., & La Vecchia, C. (2015). Fruit and vegetables and cancer risk: a review of southern European studies. *British Journal of Nutrition*. 113(S2), S102-S110.

- USEPA. (1996). *Method 3052: Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices*.
- US FDA. (2022). *Daily value on the new nutrition and supplement facts labels*. [Online] <https://www.fda.gov/food/new-nutrition-facts-label/daily-value-new-nutrition-and-supplement-facts-labels>. Accessed on December 1, 2022.
- Waterhouse, A.L. (2002). Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons.
- Yen, G. and Wu, J. (1999). Antioxidant and radical scavenging properties of extract from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry*, 65, 375-379.

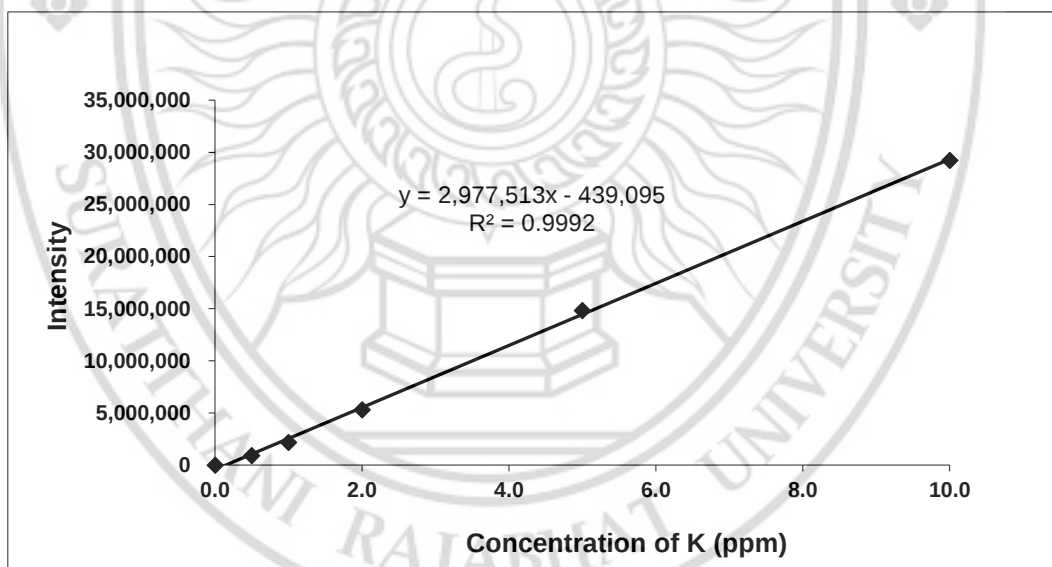
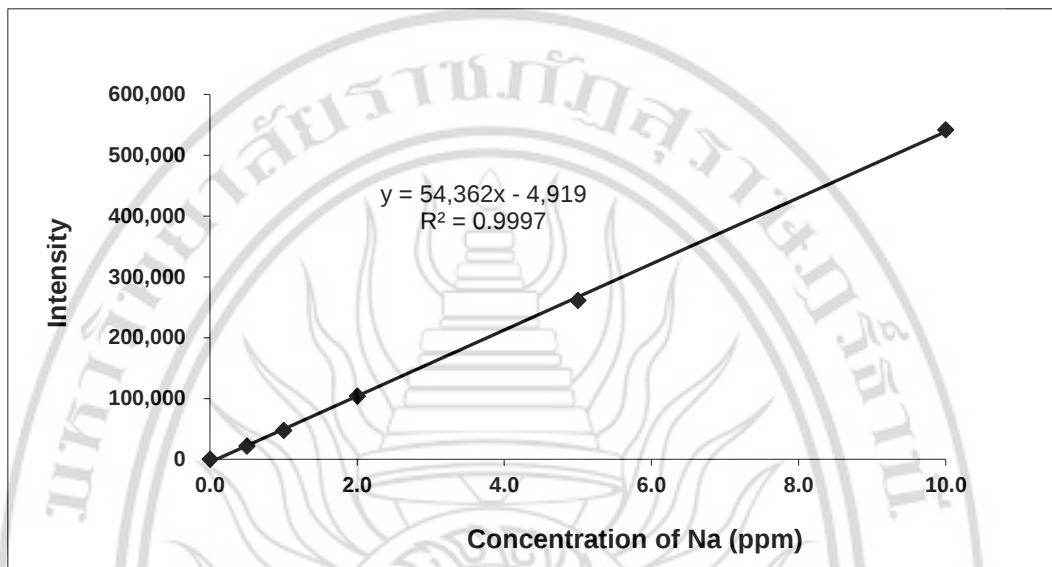


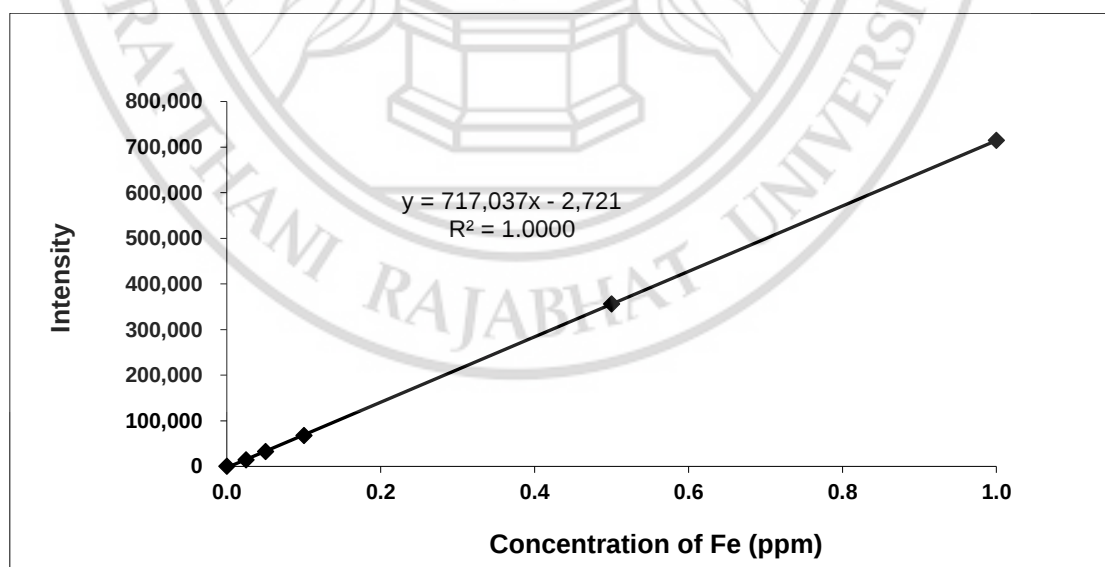
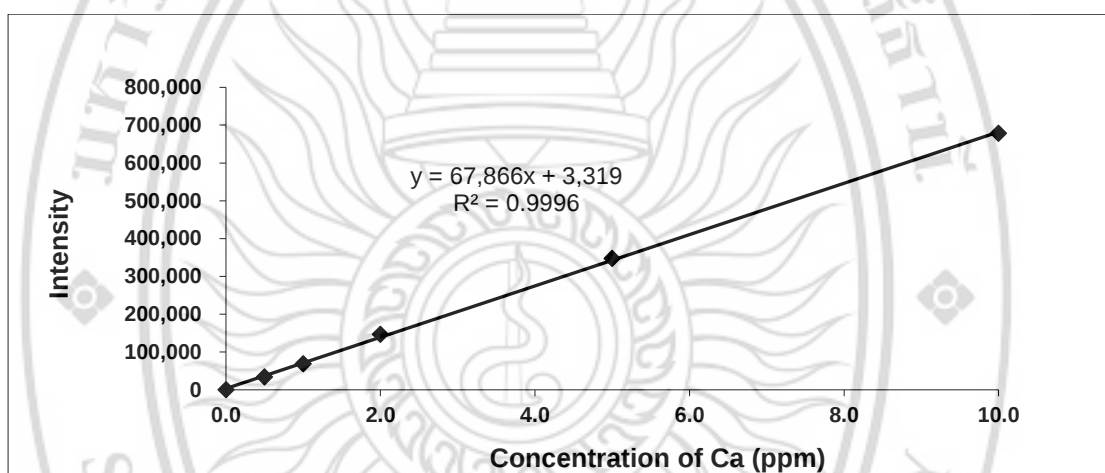
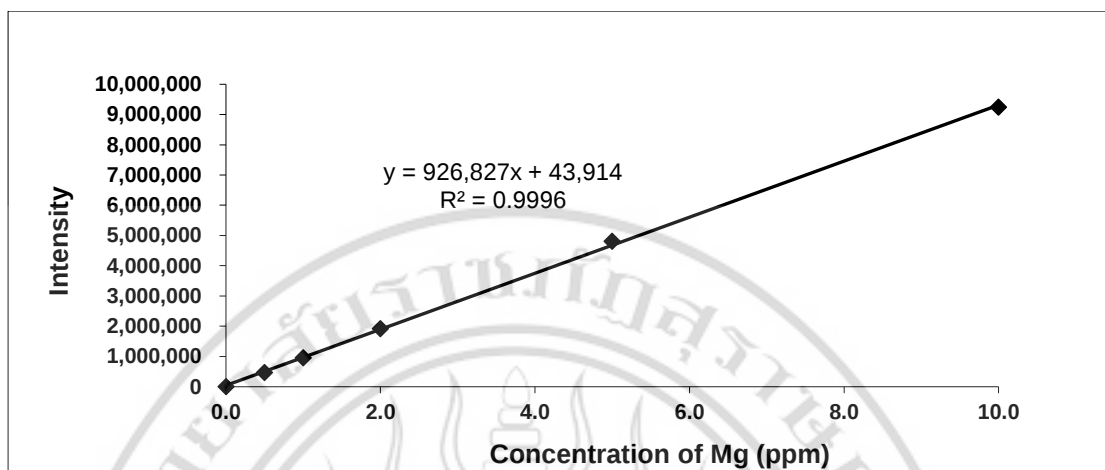
ภาคผนวก

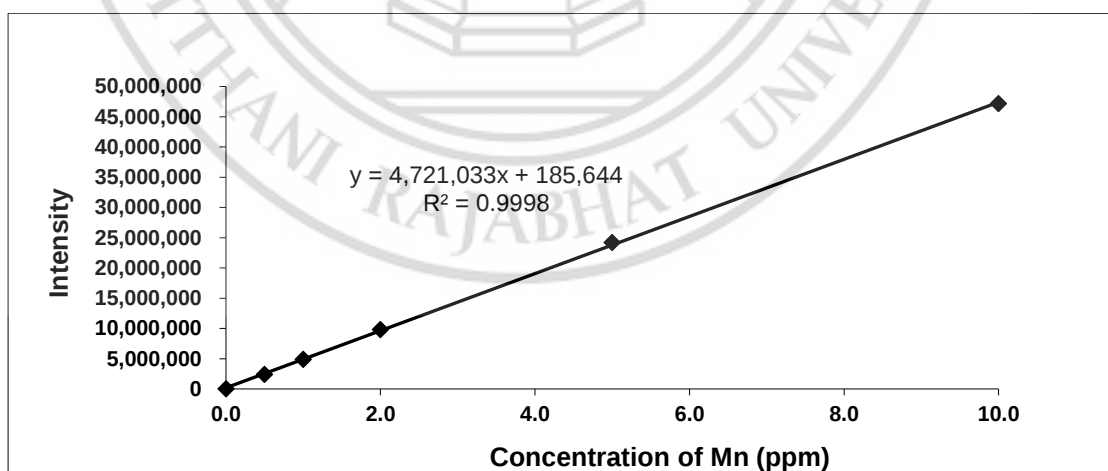
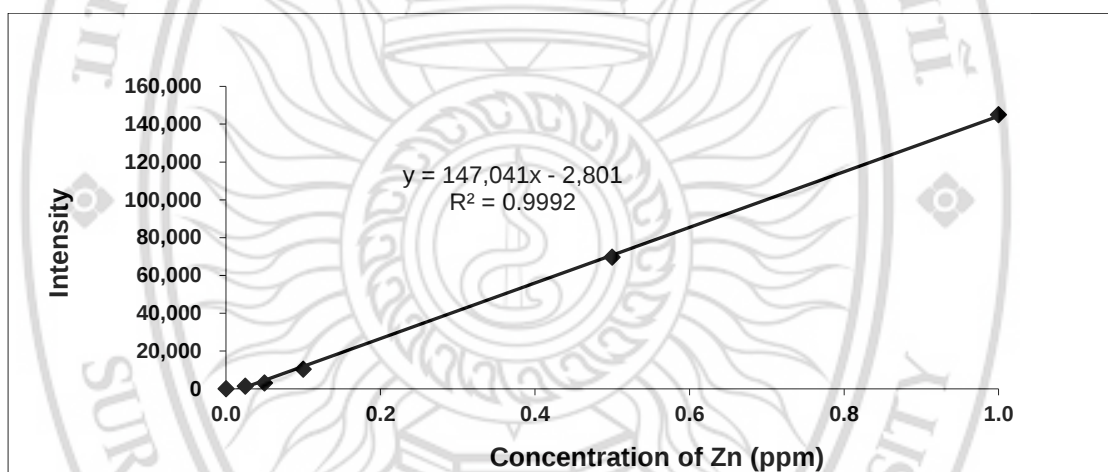
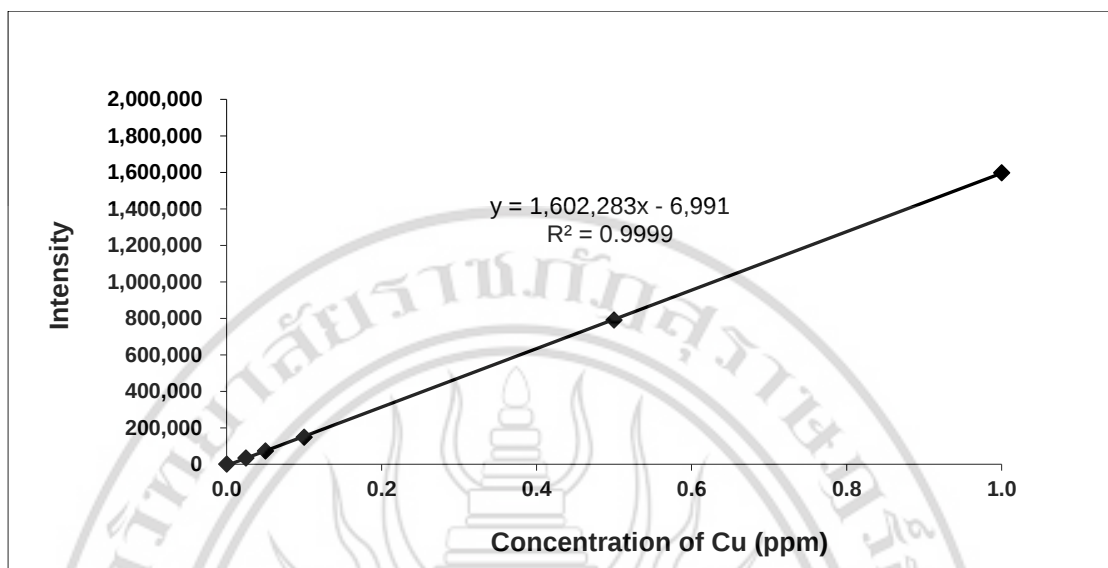


ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์แร่ธาตุ







ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์โดยใช้ สถิติความแปรปรวนทางเดียว (One way-ANOVA)

1) คุณค่าทางโภชนาการ

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Ash	Between Groups	.241	2	.121	.365	.698
	Within Groups	7.936	24	.331		
	Total	8.177	26			
Fiber	Between Groups	130.063	2	65.032	26.686	.000
	Within Groups	58.486	24	2.437		
	Total	188.549	26			
Protein	Between Groups	.250	2	.125	.031	.969
	Within Groups	95.924	24	3.997		
	Total	96.175	26			
Fat	Between Groups	14.272	2	7.136	50.132	.000
	Within Groups	3.416	24	.142		
	Total	17.688	26			
Carbohydrate	Between Groups	18.860	2	9.430	1.396	.267
	Within Groups	162.172	24	6.757		
	Total	181.032	26			

Ash

Tukey HSD^a

Location	N	Subset for alpha = 0.05
		1
7	9	6.28000
4	9	6.45889
1	9	6.49667
Sig.		.707

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

Fiber

Tukey HSD^a

Location	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4	9	20.77333	
7	9		24.78222
1	9		25.88000
Sig.		1.000	.312

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

Protein

Tukey HSD^a

Location	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1	9	28.65778
7	9	28.81444
4	9	28.88889
Sig.		.967

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

Fat

Tukey HSD^a

Location	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7	9	4.95111		
1	9		5.44556	
4	9			6.68000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

Carbohydrate

Tukey HSD^a

Location	N	Subset for alpha = 0.05
		1
4	9	57.97111
1	9	59.40222
7	9	59.95444
Sig.		.257

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

2) แร่ธาตุหลักและแร่ธาตุรอง

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Na concentration (mg/100g FW)	Between Groups	1.007	8	.126	58.179	.000
	Within Groups	.039	18	.002		
	Total	1.046	26			
K concentration (mg/100g FW)	Between Groups	92343.362	8	11542.920	45.572	.000
	Within Groups	4559.233	18	253.291		
	Total	96902.595	26			
Mg concentration (mg/100g FW)	Between Groups	682.440	8	85.305	18.035	.000
	Within Groups	85.139	18	4.730		
	Total	767.579	26			
Ca concentration (mg/100g FW)	Between Groups	2483.460	8	310.432	33.789	.000
	Within Groups	165.371	18	9.187		
	Total	2648.830	26			
Fe concentration (mg/100g FW)	Between Groups	.362	8	.045	23.005	.000
	Within Groups	.035	18	.002		
	Total	.398	26			
Cu concentration (mg/100g FW)	Between Groups	.002	8	.000	8.053	.000
	Within Groups	.001	18	.000		
	Total	.003	26			
Zn concentration (mg/100g FW)	Between Groups	.033	8	.004	3.535	.012
	Within Groups	.021	18	.001		
	Total	.055	26			
Mn concentration (mg/100g FW)	Between Groups	31.366	8	3.921	121.423	.000
	Within Groups	.581	18	.032		
	Total	31.947	26			

Na concentration (mg/100g FW)

Tukey HSD^a

Sampling location	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
6	3	.64633			
4	3	.73433			
8	3		.89967		
7	3		.97667	.97667	
3	3		.98100	.98100	
2	3			1.03567	
9	3			1.04567	
5	3			1.08533	
1	3				1.35333
Sig.		.382	.478	.164	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

K concentration (mg/100g FW)

Tukey HSD^a

Sampling location	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
2	3	354.75200				
5	3	398.43767	398.43767			
1	3		421.91000			
3	3		440.11767	440.11767		
7	3		442.48867	442.48867		
8	3			475.09500	475.09500	
6	3				504.48767	
9	3				505.96000	
4	3					558.02333
Sig.		.066	.062	.218	.352	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Mg concentration (mg/100g FW)

Tukey HSD^a

Sampling location	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7	3	27.49600		
5	3		36.94900	
6	3		39.99800	39.99800
2	3		40.28367	40.28367
3	3		40.84533	40.84533
4	3		42.09400	42.09400
1	3			43.56800
8	3			43.93767
9	3			45.33233
Sig.		1.000	.154	.128

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Ca concentration (mg/100g FW)

Tukey HSD^a

Sampling location	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
7	3	34.36500			
6	3	42.58800	42.58800		
4	3		43.32333		
1	3		45.56267		
9	3			54.45667	
8	3			58.59167	58.59167
2	3			59.38567	59.38567
3	3			59.91600	59.91600
5	3				64.17967
Sig.		.071	.946	.442	.413

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Fe concentration (mg/100g FW)

Tukey HSD^a

Sampling location	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	3	.58033		
8	3	.58267	.58267	
7	3	.58367	.58367	
6	3	.65000	.65000	
2	3	.67833	.67833	
9	3	.69767	.69767	
4	3		.70767	
3	3			.85167
5	3			.93067
Sig.		.083	.055	.455

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Cu concentration (mg/100g FW)

Tukey HSD^a

Sampling location	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
7	3	.04933			
4	3	.05233	.05233		
8	3	.05333	.05333	.05333	
1	3	.05400	.05400	.05400	
5	3	.05767	.05767	.05767	
9	3	.06267	.06267	.06267	.06267
3	3		.06733	.06733	.06733
6	3			.06833	.06833
2	3				.07633
Sig.		.139	.071	.071	.122

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Zn concentration (mg/100g FW)

Tukey HSD^a

Sampling location	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6	3	.39133	
5	3	.43367	.43367
1	3	.43433	.43433
7	3	.43967	.43967
3	3	.45533	.45533
4	3	.47033	.47033
8	3	.47700	.47700
9	3		.49433
2	3		.51600
Sig.		.117	.144

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Mn concentration (mg/100g FW)

Tukey HSD^a

Sampling location	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
7	3	1.76433			
8	3	1.92167			
6	3	1.92233			
4	3	1.93233			
1	3	2.00200			
2	3		2.86267		
3	3		3.04900		
5	3			3.70200	
9	3				5.17800
Sig.		.783	.928	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระ

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Phenolics	Between Groups	9054.008	2	4527.004	32.626	.000
	Within Groups	3330.108	24	138.755		
	Total	12384.116	26			
FRAP	Between Groups	11147.769	2	5573.884	61.858	.000
	Within Groups	2162.580	24	90.107		
	Total	13310.348	26			
DPPH	Between Groups	57.785	2	28.893	3.912	.082
	Within Groups	44.312	6	7.385		
	Total	102.097	8			

Phenolics

Tukey HSD^a

Area	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4.00	9	88.6722	
7.00	9		119.4244
1.00	9		132.3278
Sig.		1.000	.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

FRAP

Tukey HSD^a

Area	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
4.00	9	94.5444		
1.00	9		130.2456	
7.00	9			142.4289
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

DPPH

Tukey HSD^a

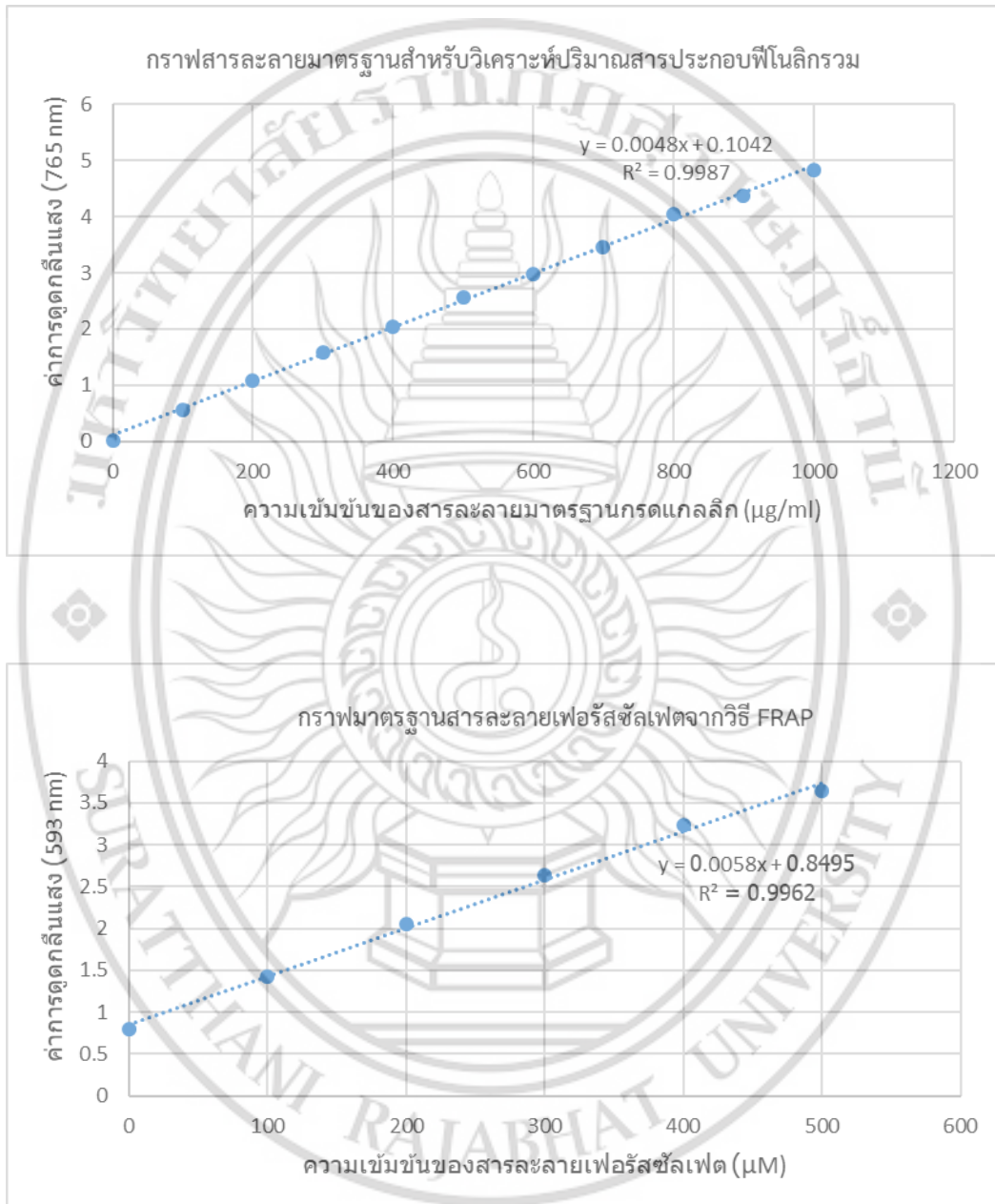
Area	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
1.00	3		54.3673
7.00	3		57.5693
4.00	3		60.5730
Sig.			.070

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวมและสารต้านอนุมูลอิสระ



กราฟมาตรฐานสารละลาย Ascorbic acid จากวิธี DPPH

