รหัสโครงการ SUT1-111-60-12-09

รายงานการวิจัย

ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่มีต่อสภาวะเครียดของออกซิเดชันในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนูทดลอง

Effects of Thai pomegranate juice on oxidative stress in rat skeletal muscle

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT1-111-60-12-09

รายงานการวิจัย

ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่มีต่อสภาวะเครียดของออกซิเดชันในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนูทดลอง

Effects of Thai pomegranate juice on oxidative stress in rat skeletal muscle

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์
สาขาวิชาปรีคลินิก สำนักวิชาวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมโครงการ
นางสาวกุสุมา รวมธรรม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2560
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

สิงหาคม 2562

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความร่วมมือและช่วยเหลือในการปฏิบัติงานวิจัยจากนางสาวกสุมา รวมธรรม รวมทั้งนักศึกษาบัณฑิตศึกษาในห้องปฏิบัติการชีววิทยาระบบประสาทและฮอร์โมน อาคารเฉลิมพระเกียรติ 72 พรรษา บรมราชินีนาถ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

นอกจากนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่อาคารสัตว์ทดลองที่ให้ความอนุเคราะห์การดูแลสัตว์ทดลองตลอดการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2560 ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี งบประมาณที่ได้รับการสนับสนุนเท่ากับ 508,000.00 บาท

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์
หัวหน้าโครงการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาไทย

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการทำให้น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นขึ้น องค์ประกอบทางเคมีองค์ประกอบสารพฤกษเคมี ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ถูกทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการที่แตกต่างกันรวมทั้งศึกษาผลการป้องกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยต่อการเหนี่ยวนำภาวะเครียดออกซิเดชันและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างของหนูขาว พบว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต น้ำตาล (กลูโคสและฟรุกโทส) วิตามิน (ซีและอี) และแร่ธาตุ (แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม โพแทสเซียม และแมกนีเซียม) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ทำให้เข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ และเครื่องไมโครเวฟไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติการให้น้ำทับทิมพันธุ์ไทยทางกระเพาะอาหารในขนาดต่ำ กลาง และสูง หนึ่งชั่วโมงก่อนการไหลกลับของเลือดมีผลต้านอนุมูลอิสระในกล้ามเนื้อโครงร่างหนูขาว โดยดูปริมาณของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส และคะตะเลส) สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ (กลูตาไธโอน) และสารที่บ่งชี้ถึงสภาวะการทำลายของผนังเซลล์ (มาลอนไดดีไฮด์) ที่อยู่ในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียสที่มีการเหนี่ยวนำภาวะเครียดออกซิเดชันโดยอิสคีมิครีเพอฟิวชัน (การเหนี่ยวนำที่หยุดการไหลของเลือดที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อเป็นเวลา 4 ชั่วโมงและปล่อยให้เลือดกลับไปไหลอีกครั้ง 2 ชั่วโมง) ฤทธิ์ของซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสและคะตะเลส และระดับของกลูตาไธโอนในกล้ามเนื้อของกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทย มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ควบคุมที่ได้รับน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และปริมาณของมาลอนไดดีไฮด์ของกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทย มีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสรุปสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยมีส่วนในการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน ดังนั้นการดื่มน้ำทับทิมพันธุ์ไทยอาจมีประโยชน์สำหรับการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นจากหลายสาเหตุ เช่น การออกกำลังกายจนหมดแรงที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The present study aimed to investigate the appropriate method to concentrate Thai pomegranate juice, chemical composition, phytochemical composition, total phenolic content (TPC) antioxidant activity of Thai pomegranate juice (TPJ), and the protective effects of TPJ on oxidative stress and morphological changes of rat skeletal muscle cell induced by ischemia-reperfusion. Fresh TPJ was found to contain protein, carbohydrate, sugars (glucose and fructose), vitamins (E and C) and minerals (calcium, phosphorus, sodium, potassium, and magnesium). The antioxidant activity and total phenolic content (TPC) of concentrated TPJs by rotary vacuum evaporation and microwave evaporation were not significantly different. Intragastric injection of low, middle, and high doses of TPJ 1 h before reperfusion had an effect on antioxidant activity in rat skeletal muscle by measuring the levels of enzyme antioxidants (superoxide dismutase and catalase), non-enzyme antioxidants (glutathione), and the marker of lipid peroxidation (malondialdehyde, MDA) in gastrocnemius muscle induced by ischemia-reperfusion (the muscle was induced 4 h of ischemia and 2 h of reperfusion). The activities of superoxide dismutase and catalase, and the levels of glutathione in skeletal muscle of TPJ-treated groups were significantly higher than vehicle control group. Moreover, MDA levels in skeletal muscle TPJ-treated groups were significantly lower than vehicle control group. In conclusion, the antioxidants in TPJ can contribute to the reduction of oxidative stress. Thus, the drinking of TPJ may be useful for protecting oxidative stress occurring from many causes, such as exhaustive exercise-induced free radicals production.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูปภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ทับทิม.....	5
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	9
3.1 ขั้นตอนการเตรียมทับทิมพันธุ์ไทย.....	9
3.2 ขั้นตอนการเตรียมสัตว์ทดลอง.....	10
3.3 ขั้นตอนการทำการทดลอง	10
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	13
3.5 สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล.....	13
บทที่ 4 ผลการทดลอง	14
4.1 การคัดเลือกน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นที่เหมาะสม...	14
4.2 การทดสอบสารสำคัญในน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้น.....	14
4.2.1 การศึกษาทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย โดยการศึกษาในหลอดทดลอง	14
4.2.2 การศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด โดยการศึกษาเป็นแบบการทดลองในหลอดทดลอง	15
4.2.3 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดโดยวิธีการ Folin-Ciocalteu	17
4.2.4 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging...	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2.5 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี2,2’-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical-scavenging...	18
4.2.6 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)	18
4.3 ผลการป้องกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยต่อการเหนี่ยวนำภาวะเครียดออกซิเดชันโดยอิสคีมิครีเพอฟิวชันในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนู	20
4.3.1 การตรวจทางชีวเคมีในซีรั่ม	20
4.3.2 การต้านออกซิเดชันของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD)	21
4.3.3 การต้านออกซิเดชันของเอนไซม์ catalase (CAT)	21
4.3.4 การต้านออกซิเดชันของ glutathione (GSH)	24
4.3.5 ระดับของ malondialdehyde (MDA)	24
4.3.6 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อโครงร่าง	27
บทที่ 5 บทสรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	33
5.1 ข้อสรุปและเสนอแนะ.....	33
บรรณานุกรม.....	42
ประวัตินักวิจัย.....	47

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์พฤกษเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย น้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ทำให้เข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ และเครื่องไมโครเวฟ 15

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบทางเคมีในน้ำทับทิมพันธุ์ไทย 16

ตารางที่ 3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศและเครื่องไมโครเวฟ 19

ตารางที่ 4 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย และวิตามินอีต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีในซีรั่ม (AST ALT และ CPK) 20

ตารางที่ 5 ผลของความเข้มข้นที่ต่างกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย และวิตามินอี ในการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของกล้ามเนื้อ Soleus จากการเหนี่ยวนำ ischemia reperfusion 28

ตารางที่ 6 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทับทิมจากสถานที่ต่าง ๆ 35

ตารางที่ 7 โมโนเมอร์โพลีฟีนอลของน้ำผลไม้ 10 สายพันธุ์ทับทิมจาก 4 ภูมิภาคที่กำลังเติบโตของจีน (μg/ml) 37

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและวิตามินอีในการทำงานของ SOD ใน ischemia/reperfusion เหนี่ยวนำการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียส (gastrocnemius) 22

รูปที่ 2 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและวิตามินอีในการทำงานของ CAT ใน ischemia/reperfusion เหนี่ยวนำการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียส (gastrocnemius) 23

รูปที่ 3 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและวิตามินอีต่อระดับ GSH ใน ischemia/reperfusion เหนี่ยวนำการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียส (gastrocnemius) 25

รูปที่ 4 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและวิตามินอีต่อระดับ MDA ใน ischemia/reperfusion เหนี่ยวนำการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียส (gastrocnemius) 26

รูปที่ 5 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างในกลุ่ม sham 29

รูปที่ 6 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างในกลุ่ม I/R-DDD water 29

รูปที่ 7 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างใน I/R-1% Tween 80 30

รูปที่ 8 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างใน I/R-Vitamin 30

รูปที่ 9 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง I/R-Low dose TPJ 31

รูปที่ 10 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง I/R-Middle dose TPJ 31

รูปที่ 11 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง I/R-High dose TPJ 32

รูปที่ 12 ผลของการป้องกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ต้านการเปลี่ยนแปลงเมทบอลิซึมเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างในช่วง ischemia reperfusion ระหว่างเกิดช่วง reperfusion สารต้านอนุมูลอิสระจากน้ำทับทิมพันธุ์ไทยอาจจะป้องกัน ROS ซึ่งจะเป็นตัวที่เหนี่ยวนำทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ และอาจจะทำให้สภาวะเครียดออกซิเดชันจากการเหนี่ยวนำโดย I/R ดีขึ้น 41

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในโลกปัจจุบันเราทุกคนกำลังอยู่ในโลกที่เรียกว่า โลกาภิวัตน์ หรือ โลกานุวัตร ซึ่งเป็นผลจากการพัฒนาการติดต่อสื่อสาร การคมนาคมขน ส่ง และเทคโนโลยีสารสนเทศ อันแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตของความสัมพันธ์ทางเศรษฐกิจ การเมือง เทคโนโลยี และวัฒนธรรมที่เชื่อมโยงระหว่างปัจเจกบุคคล ชุมชน หน่วยธุรกิจ และรัฐบาล ทั่วทั้งโลก ขณะที่โลกกำลังขับเคลื่อนไปอย่างรวดเร็ว ประเทศไทยได้มีการส่งเสริมเรื่องของระบบสุขภาพมากขึ้นเพราะต่างก็ตระหนักถึงวิถีชีวิตของคนไทยที่เปลี่ยนแปลงทำให้ความลำบากทางกายลดลง เวลาการเดินทางโดยยวดยานต่างๆ ได้ย่นย่อลงมาก ทำให้คติชีวิต และพฤติกรรมของคนไทยปรับเปลี่ยนไปดังปรากฏเป็นรูปแบบสังคมไทยปัจจุบันภาวะวิกฤตสังคมไทยเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงจากการเป็นอยู่และพฤติกรรมที่เรียบง่ายมาเป็นการเป็นอยู่และพฤติกรรมที่ไม่เหมาะเนื่องจากไปรับเอารูปแบบ การดำเนินชีวิตและ วัฒนธรรมต่างชาติมาเป็นค่านิยมโดยปราศจากการไตร่ตรองและดัดแปลงปรับปรุงให้เหมาะกับภาวการณ์และสภาพสังคม ท้องถิ่น ซึ่งพฤติกรรมสังคมที่ไม่ถูกต้องก่อให้เกิดผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตทั้งด้านสุขภาพ ร่างกายและจิตใจ เกิดเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ สังคมดังกล่าวก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพ ได้แก่ การบริโภคเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นผลให้ระบบต่างๆของร่างกายทำงานมากขึ้นอายุการใช้งานก็จะน้อยลงดังคำเปรียบเปรยที่ว่าร่างกายของคนเราก็ไม่ต่างอะไรจากเครื่องจักรเมื่อมีการทำงานที่มากขึ้นย่อมมีอายุการใช้งานที่สั้นลง สิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุที่หลายคนอาจจะมองข้ามไป

การบริโภคอาหารที่ไม่เหมาะสมซึ่งเป็นผลกระทบจากสังคมในปัจจุบันที่มีการทำงานและการดำรงชีวิตแบบเร่งรีบ เร่งทำงาน รีบรับประทานอาหาร ทำให้ผู้บริโภคต้องการความสะดวก รวดเร็ว หาซื้อได้ง่าย รับประทานได้ทุกที่ทุกเวลา อาหารสำเร็จรูปและอาหารจานเดียวจึงเป็นทางเลือกยอดนิยมจนทำให้คนเหล่านี้ลืมความสำคัญและมองข้ามการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์จนกลายเป็นกิจวัตร ทำให้มีการรับประทานอาหารฟาสต์ฟู้ดกันอย่างแพร่หลาย แต่ในความเป็นจริงเราลืมไปว่าสิ่งที่เรารับประทานไปนั้นเป็นวัตถุดิบอย่างดีในการเก็บสะสมผลเสียและเป็นสาเหตุของโรคหลายๆโรค ปัจจุบันการบริโภคอาหารเป็นสาเหตุที่สำคัญของการเกิดโรคต่างๆของประชากรไทยเช่น โรคมะเร็ง โรคอ้วน โรคความดันโลหิตสูง เป็นต้น

การขาดการออกกำลังกายหรือการออกกำลังกายที่ผิดวิธี มีงานวิจัยพบว่าการออกกำลังกายที่หนักเกินไปเป็นสาเหตุที่ทำให้ร่างกายสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น และถ้าร่างกายไม่สามารถทำลายอนุมูลอิสระได้ทันทีอนุมูลอิสระจะมีมากเกินไปจนร่างกายกำจัดได้ไม่หมด อาจจะเป็นอันตรายทำให้เกิดความเสียหายของเซลล์ได้เช่น การทำลายของผนังเซลล์ (lipid peroxidation) (Mastaloudis et al., 2001; Wang et al., 2011) และยังมีงานวิจัยพบว่าโรคหลายชนิดมาจากการทำลายโดยการเกิดออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมันซึ่งสภาวะเครียดออกซิเดชันอาจเป็นผลสืบเนื่องมาจาก

กระบวนการเกิดโรค และส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ เช่น การติดเชื้อ การบาดเจ็บ การได้รับสารพิษ และ ภาวะอื่นๆ อาจเป็นต้นเหตุของการสร้างและสะสมของอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดพยาธิสภาพของโรคต่อไป โดยภาวะที่ไม่สมดุลระหว่าง อนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระ อาจเสี่ยงต่อการโรคและภาวะต่างๆ ปัจจุบันหน่วยงานต่างๆได้มีการรณรงค์ การประชาสัมพันธ์ ให้คนไทยเลิกกินอาหารขยะ และหันมาเลือกกินอาหารเพื่อสุขภาพแทนและเลือกกินผักผลไม้หลากสี กินอาหารที่มีเส้นใย ซึ่งก็หาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาดเช่น แอปเปิล องุ่น ชาเขียว หัวหอม ถั่วเหลือง แครอท ส้ม มะละกอ พีช พลัม ฟักทอง และแตงโม ซึ่งผลไม้เหล่านี้จะประกอบไปด้วยสารพวก ฟลาโวนอยด์ เบต้าคริปโตแซนตินและอื่นๆอีกมากมาย

ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับสารที่เป็นองค์ประกอบที่พบในผลไม้ต่างๆไว้อย่างมากมาย เช่น การศึกษาในน้ำทับทิมพบว่าในน้ำทับทิมประกอบไปด้วยแร่ธาตุและสารต่างๆที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย จากการศึกษาสารสำคัญที่พบในน้ำทับทิมประกอบด้วยสาร anthocyanins, ellagic acid, phytoestrogenic flavonoids และ tannins ซึ่งเป็นสารจำพวก “Phenolic compound” หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติ ยังมีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ “Antioxidant” สามารถละลายได้ในน้ำ และ สามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอล จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และ ไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย

จากผลเสียหายของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นผู้วิจัยจึงพยายามแสวงหาสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักและผลไม้ เพื่อนำมาใช้ในการยับยั้งและป้องกันอนุมูลอิสระในร่างกาย ลดผลกระทบและป้องกันภาวะเสื่อมสภาพและโรคหลาย ๆ โรคได้ เราทราบกันดีว่าประเทศไทยเป็นประเทศที่อุดมไปด้วยพืชสมุนไพรต่างๆมากมายและยังเป็นประเทศที่มีประชากรทำอาชีพการเกษตรจำนวนมากซึ่งปัจจุบันได้มีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระที่พบทั้งในพืช ผัก และผลไม้ต่างๆ จากการศึกษาดังกล่าวทั้งเพื่อการศึกษาและการสร้างมูลค่าให้กับทรัพยากรที่มีอยู่ในประเทศให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสุด ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยมีความสนใจผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่มีผลต่อสภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อโครงร่าง ซึ่งมีงานวิจัยก่อนหน้านี้เกี่ยวกับ สารต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิมที่มีผลต่อโรคต่างๆ และมีการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิมกับน้ำแอปเปิลพบว่าน้ำทับทิมมีความสามารถในการทำงานต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีกว่าน้ำแอปเปิล (Guo et al., 2008) ด้วยเหตุผลข้างต้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาทับทิมพันธุ์ไทยในส่วนของน้ำทับทิมที่มีผลต่อสภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อโครงร่าง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่มีต่อสภาวะเครียดของออกซิเดชันจากการบาดเจ็บแบบ Ischemia reperfusion ในกล้ามเนื้อโครงร่าง

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการวิจัยที่ทำในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง การทดลองจะดำเนินการในห้องปฏิบัติการ โดยมีขอบเขตของการวิจัยดังนี้

- จัดเตรียมอุปกรณ์ วัสดุ สารเคมีและน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่จำเป็นสำหรับการวิจัย
- จัดหาและเตรียมหนูทดลอง
- หาวิธีการทำให้น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้น
- ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย การศึกษาเป็นแบบการทดลองในหลอดทดลอง (*in vitro*) ด้วยวิธี DPPH assay
- ทำการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย การศึกษาเป็นแบบการทดลองในหลอดทดลอง (*in vitro*) ด้วยวิธี Foin-Ciocalteu method
- ทำการทดลอง in vivo experiment เพื่อศึกษาผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่มีต่อสภาวะเครียดของออกซิเดชันจากการบาดเจ็บแบบ Ischemia reperfusion ในกล้ามเนื้อโครงร่าง
- วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้มาและสรุปผลการทดลอง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

หมวดผลผลิตหลัก

- เป็นการพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ให้สามารถเริ่มการวิจัยและพัฒนาได้และดำเนินการวิจัยต่อไปได้อย่างต่อเนื่องในระยะยาว
- สามารถผลิตนักศึกษาระดับปริญญาบัณฑิตได้ 1 คน
- สามารถนำเสนอผลงานในที่ประชุมนานาชาติได้
- สามารถตีพิมพ์บทความในวารสารวิชาการนานาชาติในฐานข้อมูล ISI อย่างน้อย 1 บทความ

หมวดผลผลิตย่อย

- เป็นองค์ความรู้ใหม่ในเชิงวิชาการและในการวิจัยต่อไป เป็นความรู้พื้นฐานทางด้านสรีรวิทยาและจะนำไปสู่องค์ความรู้ใหม่เพื่อที่จะใช้ในการวิจัยสำหรับการรักษาและป้องกันสภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งยังไม่มีผู้ใดทำการศึกษามาก่อน
- การนำเสนอผลงานวิจัยในเวทีในประเทศและต่างประเทศ
- เป็นการพัฒนาความรู้ใหม่ไปต่อยอดในการนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์
- เป็นการให้ความรู้แก่ภาคธุรกิจอุตสาหกรรมในการนำผลิตภัณฑ์ธรรมชาติไปประยุกต์ใช้เป็นยาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร
- เป็นประโยชน์ต่อประชากรกลุ่มเป้าหมาย โดยเฉพาะนักกีฬาและประชาชนทั่วไป ที่สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้ไปใช้เพื่อป้องกันการเกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันหลังจากการ

ออกกำลังกายที่ไม่เหมาะสมหรือหนักเกินไป และป้องกันการบาดเจ็บหรือฟื้นฟูจากการฝึกซ้อมหรือแข่งขัน ทำให้สามารถพัฒนาความสามารถทางด้านกีฬา ก้าวไปสู่ระดับชาติและนานาชาติต่อไป

- ผลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทั้งนักวิจัย บุคคลทั่วไปที่ต้องการสนใจในเรื่องนี้ บุคลากรทางการแพทย์ และผู้ป่วยที่เกิดสภาวะการขาดเลือดเฉพาะที่ (Ischemia) สามารถนำไปใช้

- เป็นการเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกร ซึ่งสามารถขายผลไม้ได้จำนวนมากขึ้นเพราะมีความเป็นไปได้ที่ผู้ซื้อจะซื้อไปบริโภคหรือผลิตนำทับทิมขาย

- ลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์ยาจากต่างประเทศ

- ได้ทราบถึงคุณประโยชน์ของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเพื่อการสร้างมูลค่าให้กับผลไม้ไทย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทับทิม

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Punica granatum* L.
ชื่อสามัญ: Pomegranate, Punica apple
วงศ์: Punicaceae
ชื่ออื่น : พิลา พิลาขาว มะก่องแก้ว มะเก๊าะ หมากจัง ทับทิม

- ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ :

ถ่ายโดย: กุสุมา รวมธรรม **สถานที่:** สวนทับทิมขวัญศรี อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

ไม้พุ่ม สูง 1-5 เมตร กิ่งมักแตกแขนง และมีหนามบริเวณซอกใบใบเดี่ยวออกตรงข้ามรูปใบหอก กว้าง 0.6-3 ซม. ยาว 1-9 ซม. ดอกเดี่ยวออกตามกิ่งก้านดอกสั้นกลีบเลี้ยงปลายแยกเป็นแฉก ยาวประมาณ 1.2 ซม. กลีบดอกรูปไข่กลับ ยาวประมาณ2.5 ซม. ปลายมน ผรูปค่อนข้างกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-15 ซม.ถิ่นกำเนิดบริเวณพื้นที่ระหว่างเชิงเขาหิมาลัยนำเข้ามาปลูกในประเทศไทยเป็นไม้ผล (วิทยา ปองอมรกุล และสันติ วัฒฐานะ, 2553)

ทับทิมมีถิ่นกำเนิดในเปอร์เซียและพื้นที่โดยรอบ นอกจากนี้ยังมีความเชื่อว่าต้นกำเนิดอยู่ในเอเชียกลางโดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของอิหร่าน ทางตอนใต้ของอัฟกานิสถาน และทางตอนเหนือของเทือกเขาหิมาลัย จากนั้นได้แพร่กระจายไปยังพื้นที่ต่างๆทั่ว ทับทิมชอบอากาศหนาวเย็นและอยู่บนพื้นที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลอย่างน้อย 300 เมตร ยิ่งอากาศหนาวเนื้อทับทิมจะมีสีแดงเข้มมากขึ้น และยังเชื่อว่าทับทิมเป็นผลไม้มงคลของจีน กิ่งใบทับทิมเป็นใบไม้สิริมงคลที่ใช้ทุกงานที่มีน้ำมนต์ประกอบพิธีโดยจะใช้พรมน้ำมนต์และ มีไว้ติดตัวเพื่อคุ้มครองกันภัย

ผลทับทิมใช้รับประทานเป็นผลไม้มีรสหวานหรือเปรี้ยวอมหวานทับทิมเป็นผลไม้ที่มีระโยชน์ต่อสุขภาพ ยังพบว่าในน้ำทับทิมมีวิตามินซีสูง และน้ำทับทิมมีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดและมีประสิทธิภาพสูงมากสามารถป้องกันการเกิดมะเร็ง (Wang et al., 2012) ป้องกันภาวะการแข็งตัวของเลือดจากไขมันในเลือดสูง (Fuhrman et al., 2005) บรรเทาความดันโลหิตสูง (Aviram & Dornfeld, 2001) ป้องโรคอ้วน (Rosenblat et al., 2006) ป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Hartman et al., 2006) และพาร์กินสัน (Tapias et al., 2014)

- ในตำรับยาโบราณ (Traditional Uses Of Pomegranates)

ในสมัยโบราณจะใช้น้ำทับทิมในการช่วยรักษาการไหลเวียนของเลือดในร่างกาย ช่วยลดความเสี่ยงของภาวะหัวใจขาดเลือด การบริโภคน้ำทับทิมบ่อยๆสามารถรักษาระบบหมุนเวียนโลหิตในร่างกายได้เป็นอย่างดี พร้อมกับลดลงความเสี่ยงของโรคหัวใจ (Bhowmik et al., 2013)

ผลทับทิมและใบถูกนำมาใช้เพื่อรักษาความผิดปกติของกระเพาะอาหารหรือช่วงแก้ท้องเสีย การดื่มชาที่ทำจากใบของผลไม้ชนิดนี้จะช่วยในการรักษาปัญหาทางเดินอาหาร น้ำทับทิมยังถูกนำมาใช้ในการจัดการปัญหาของโรคบิดและอหิวาตกโรคช่วยป้องกันการสะสมของแบคทีเรียในฟัน ป้องกันคราบจุลินทรีย์ในฟัน ป้องการเกิด มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งเต้านม ลดการพัฒนาของเซลล์มะเร็ง และป้องกันการเจ็บป่วย เป็นต้น (Bhowmik et al., 2013)

ปัจจุบันมีการศึกษาในส่วนของใบทับทิมยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ “antimutagrns” มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ (Negi et al., 2003)

- สารที่สำคัญที่พบในน้ำทับทิม

น้ำทับทิม ที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของ flavonoid polyphenolic ซึ่งประกอบไปด้วย tannin และ anthocyanin สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีศักยภาพมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ อีกมากมายรวมทั้งวิตามินซี, วิตามินอี, โคเอนไซม์คิว 10 และกรดอัลฟาไลโปอิค ระดับสารต้านอนุมูลอิสระใน น้ำทับทิม พบว่าสูงกว่าในน้ำผลไม้ธรรมชาติอื่น ๆ และไวน์แดง (Aviram et al., 2002) จากการศึกษาสารสำคัญที่พบในน้ำทับทิมประกอบด้วยสาร Phenolic compounds anthocyanins, ellagic acid, phytoestrogenic flavonoids and tannins Organic acids gallic acid, protocatechuic acid chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid, o- and p-coumaric acids, catechin, phloridzin quercetin citric acids, malic acids sugars Fructose, glucose Mineral และ Vitamin C K Na Ca Mg และ Vitamin C (El Kar et al., 2011; Fadavi, et al., 2005; Legua et al., 2012; Poyrazoglu et al., 2002; Tezcan et al., 2009)

- ประโยชน์ของน้ำทับทิม

ปัจจุบันมีนักวิทยาศาสตร์จำนวนมากได้สนใจศึกษาประโยชน์ของน้ำทับทิม จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าน้ำทับทิมมีประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Matthaiou et al., 2014) จากการศึกษาพบว่าน้ำทับทิม ผลต่อการรักษาหรือป้องกันหลายๆโรคเช่น โรคหัวใจ (Heart diseases) (Sumner et al., 2005) มะเร็ง (Prostate cancer) (Wang et al., 2012) แก้ไขพฤติกรรมของ Alzheimer's disease (Hartman et al., 2006) โรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases) (Aviram et al., 2004) (Aviram & Dornfeld, 2001) โรคเบาหวาน (diabetes) (Rosenblat et al., 2006) ยับยั้งการเพิ่มขึ้นของ LDL และยับยั้งการสังเคราะห์ cholesterolใน macrophages (Fuhrman et al., 2005) และช่วยลด LDL cholesterol ในพลาสมา (Anoosh et al ., 2010) เป็นต้น

นอกจากนี้มีการศึกษาพบอีกว่า ผู้ป่วยที่ได้บริโภคน้ำทับทิมมีการลดลงของ intima media thickness (IMT) ซึ่งเป็นการลดลงอย่างมีนัยสำคัญถึง 30% หลังจากบริโภค 1 ปี serum Paraoxonase1 (PON 1) เพิ่มขึ้น 83% serum LDL basal oxidative state และ LDL ลดลง 90% และ 59% ตามลำดับหลังจากบริโภคน้ำทับทิม 12 เดือน และ ความดันโลหิตลดลง 21% หลังจากบริโภคน้ำทับทิม 1 ปี (Aviram et al., 2004)

มีการศึกษาพบอีกว่าการบริโภคน้ำทับทิม (50 ml, 1.5 mmol ของโพลีฟีนอลทั้งหมดต่อวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์) จากผลพบว่าผู้ป่วยความดันโลหิตสูงพบว่าความดันโลหิตลดลง 5% ของ systolic blood pressure และ serum angiotensin converting enzyme (ACE) ลดลง 36% (Michael et al., 2001)

จากการศึกษาข้างต้นผู้วิจัยเล็งเห็นประโยชน์ของน้ำทับทิมต่อสภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อโครงร่างซึ่งสภาวะเครียดออกซิเดชั่นนั้นเป็นสาเหตุจากอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งเป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่ประกอบด้วยอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว ได้แก่ Superoxide anion (0_2^-), hydroxyl radical (OH^-), peroxyl radical ซึ่งจะมีความรวดเร็วในการจับกับโมเลกุลอื่นๆส่งผลให้เกิดภาวะเครียดของออกซิเจน (Oxidative stress) สภาวะเครียดของออกซิเจนเป็นสภาวะที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงความสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase (SOD) glutathione (GSH) catalases (CAT)) ถ้าอนุมูลอิสระในระบบต่างๆของร่างกายมีมากเกินแต่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระไม่เพียงพอจะส่งผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างทางชีวะโมเลกุลของเซลล์ในอวัยวะต่างๆซึ่งจะเป็นการทำลายแบบ “Oxidative damage” โมเลกุลเป้าหมายได้แก่ ดีเอนเอ ไขมัน โปรตีน ผลเสียหายที่เกิดจะขึ้นอยู่ถ้าเป็นระยะเวลานานๆต่อเนื่องอาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคตับ (Bartsch & Nair, 2006) โรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases) โรคมะเร็ง (cancer) โรคเบาหวาน (diabetes) โรคทางระบบประสาท (neurological diseases) โรคทางระบบภูมิคุ้มกัน (immune diseases) ภาวะชราภาพ (aging process) เป็นต้น

ในการเกิดอนุมูลอิสระนั้นอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุเช่น ขบวนการเมตาบอลิซึมภายในร่างกาย การออกกำลังกายซึ่งมีการศึกษาพบว่า การเกิด Oxygen radical ระหว่างและหลังการออกกำลังกายได้รับความสนใจมาก และมีหลักฐานที่ชัดเจนเกี่ยวกับการเกิดของ Oxygen radical โดยการออกกำลังกายซึ่งมีผลต่อการทำลายและเกิดความเสียหายต่อกล้ามเนื้อ (Jackson, 1993) การออกกำลังกายเป็นระยะเวลานานๆ ส่งผลให้เกิดการทำงานของเซลล์ที่มากขึ้นและส่งผลให้เกิดการกำจัดของ

เสียที่มากขึ้น ถ้าเมื่อใดความสามารถในการกำจัดของเสียน้อยกว่าการสร้างของเสียก็จะส่งต่อเซลล์ เกิดการทำลายเซลล์กล้ามเนื้อซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับขบวนการอักเสบโดยผ่านขบวนการ Phagocyte (Aoi et al., 2004) และส่งผลต่อการหายใจในไมโตคอนเดรีย (Mitochodrial respiration) ขบวนการทำลายสารพิษ (Xenobiotic detoxification) และการสืบเนื่องของการเกิดโรคซึ่งจะส่งผลให้เกิดโรคอื่นต่อไปเป็นต้น

ในตำรับจีนโบราณจะใช้ประโยชน์จากส่วนต่าง ๆ ของต้นทับทิมเพื่อการรักษาโรคต่างๆไม่ว่าจะเป็นส่วนของ เปลือก เมล็ด ใบ ลำต้น ราก และน้ำทับทิม ในส่วนของ ราก เปลือกของต้นและรากเปลือกแห้งของผลเพื่อรักษา ภาวะเลือดออก ท้องเสีย ถ่ายพยาธิ การติดเชื้อจากจุลินทรีย์ และภาวะกรด (Ajaikumar et al., 2005; Braga et al., 2005; Chidambara Murthy et al., 2004) และยังมีการศึกษาพบว่าในส่วนของดอกและสารสกัดจากผลมีประสิทธิภาพสูงในการลดไขมันในระบบไหลเวียนโลหิตซึ่งส่งผลในการลดปัจจัยเสี่ยงของโรคหัวใจ โรคเบาหวาน และภาวะไขมันในเส้นเลือดสูง (Huang et al., 2005; Kaplan et al., 2001) แต่ยังไม่เป็นที่ทราบอย่างชัดเจนของกลไก

ปัจจุบันมีการศึกษาประโยชน์ของทับทิมพบว่าการบริโภคน้ำทับทิมช่วยเพิ่มระดับ GSH (22.6%) และลดไขมันในเลือดและลดการเกิดออกซิเดชันโปรตีนในเลือดของมนุษย์ ซึ่งในการทดลองนี้มีอาสาสมัคร 14 คนที่มีสุขภาพดีบริโภคน้ำทับทิมทุกๆวัน เป็นระยะเวลา 15 วันและดูการเปลี่ยนแปลงความเครียดออกซิเดชันในเลือดเป็นตัวบ่งชี้ ทำการประเมินสี่จุด คือได้รับการประเมินก่อนการทดลอง หลังจากให้กินน้ำทับทิม 15 วัน และสัปดาห์ที่ 1 และ 3 หลังจากกินน้ำทับทิมหลังจากนั้นทำการตรวจเลือดเพื่อประเมินหาเอนไซม์แอนตี้ออกซิเดนซ์ (Matthaiou et al., 2014) และมีการศึกษาองค์ประกอบของน้ำทับทิมพบว่าในน้ำทับทิมประกอบด้วย น้ำตาล (fructose, glucose) กรดต่างๆ (citric and malic) (Tezcan et al., 2009) และสารจำพวก phenolic, tannins, ellagic acid (Mousavinejad et al., 2009), gallic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid,o- and p-coumaric acids, catechin, phloridzin, quercetin (Poyrazoğlu et al., 2002), anthocyanins, punicalagin (Vegara et al., 2014) จากงานวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าในน้ำทับทิมมีสารประกอบจำพวกฟีนอลสูงมาก เช่น anthocyanins, ellagic acid, phytoestrogenic flavonoids tannins (Gil et al., 2000) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีคุสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และป้องกันการเกิดมะเร็ง (Wang et al., 2012) ป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (Fuhrman et al., 2005) โรคอ้วน (Rosenblat et al., 2006) ป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Hartman et al., 2006) และพาร์กินสัน (Tapias et al., 2014)

จากการศึกษาค้นคว้าพบว่ายังไม่มีวรรณกรรมใดที่นำเอาปัญหาของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่มีผลต่อสภาวะเครียดออกซิเดนชันในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนูมาศึกษา ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้สนใจศึกษา antioxidant ของน้ำทับทิมพันธ์ไทยเนื่องจากพบว่าในองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทับทิมพบสารจำพวก anthocyanin, tannin, ellagic acid สูงซึ่งน่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในกล้ามเนื้อโครงร่างได้

<u>สมมติฐานของงานวิจัย</u>ในครั้งนี้คือ

การได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทยมีผลต้านอนุมูลอิสระในกล้ามเนื้อโครงร่างที่มีสภาวะเครียดของออกซิเดชันจากการบาดเจ็บแบบ Ischemia reperfusion

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ขั้นตอนการเตรียมทับทิมพันธุ์ไทย

- ทับทิม:

ทับทิมที่ใช้ในการทดลองเป็นทับทิมพันธุ์ไทยจากสวนทับทิมขวัญศรี อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา การพิสูจน์เอกลักษณ์สายพันธุ์ของทับทิมจะถูกส่งไปตรวจสอบที่สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุลักษณ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติสัตว์ป่า และพันธุ์พืช กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดย voucher specimen คือ BKF No. 188578

- การเตรียมน้ำทับทิมพันธุ์ไทย:

- **ขั้นตอนการเก็บน้ำทับทิม**

ล้างทับทิมด้วยน้ำสะอาด จากนั้นแกะเปลือกเพื่อนำเมล็ดไปคั้นน้ำโดยใช้เครื่องคั้นน้ำทับทิม กรองด้วยผ้าขาว 8 ชั้น นำน้ำทับทิมที่ผ่านการกรองบรรจุใส่ถุงโดยแบ่งเป็นถุงละ 500 ml. เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ตลอดการทดลอง

- ขั้นตอนการเลือกวิธีดึงน้ำออกจากน้ำทับทิมที่เหมาะสมในการทดลอง

นำน้ำทับทิมที่แช่แข็งออกมาละลายด้วยการเปิดน้ำไหลผ่าน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง 4000 Rcf ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัด °Brix หลังจากนั้นทำให้น้ำทับทิมเข้มข้นโดยการดึงน้ำออกด้วย 2 วิธีการ คือ

1. การดึงน้ำออกด้วยวิธีการ rotary vacuum evaporation
   ใช้เครื่อง rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 65 °C
2. การดึงน้ำออกด้วยวิธีการ microwave evaporation
   ใช้เครื่อง microwave evaporator ที่ 450 W

โดยทั้งสองวิธีจะทำการดึงน้ำออกเพื่อทำให้น้ำทับทิมมีความเข้มข้นที่ 60.50 °Brix จากนั้นคำนวณ % yeld

น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นที่ได้จากทั้งสองวิธีการจะนำไปบรรจุในขวดที่ป้องกันไม่ให้ถูกแสงโดยการห่อ Foil แล้วเก็บไว้ที่ในอุณหภูมิ 4 °C เพื่อป้องกันการเสียสภาพของสารที่สำคัญ

- ขั้นตอนการทดสอบสารสำคัญในน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นจากทั้งสองวิธีการ

- วิเคราะห์หาปริมาณของ total phenolic compounds โดยใช้ Folin-Ciocalteu method (Minussi et al., 2003)

- ทำการทดสอบ Antioxidant activity โดยใช้วิธีการ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Benzie & Strain, 1996; Re et al., 1999; Villano, Fernández-Pachón, Moyá, Troncoso, & García-Parrilla, 2007)

- วิเคราะห์หาพฤษเคมี

- วิเคราะห์หาสารประกอบในน้ำทับทิม

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของ total phenolic compounds และทดสอบ Antioxidant activity ด้วยวิธีการ DPPH ABTS และ FRAP ในน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด และในน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นของทั้งสองวิธีการ (การดึงน้ำออกด้วยวิธี rotary vacuum evaporation และ microwave evaporation) โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ แล้วนำข้อมูลที่ได้จะทำการวิเคราะห์โดยหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและหาความแปรปรวนโดยการใช้โปรแกรม SigmaStat โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ *P*-value มีค่าน้อยกว่า 0.05

การทดสอบปริมาณของ total phenolic compounds และAntioxidant activity (DPPH ABTS และ FRAP) ของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นด้วยการดึงน้ำออกของทั้งสองวิธีการเพื่อเปรียบเทียบและเลือกวิธีการดึงน้ำออกจากน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการทดลองในสัตว์ทดลองต่อไป

3.2 ขั้นตอนการเตรียมสัตว์ทดลอง

หนูทดลองพันธุ์ Wistar rats เพศผู้ 250-350 กรัม อายุ 8-9 สัปดาห์ จำนวน 56 ตัว

หนูทดลองได้จากการเพาะขยายพันธุ์ขึ้นใช้เองในหน่วยงานคืองานสัตว์ทดลอง ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยมีหลักฐานแสดงสืบสายพันธุ์และความคงที่ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ที่ต้องการตรวจสอบและมีหลักฐานตรวจสอบได้ว่าเป็นสัตว์เลี้ยงด้วยระบบอนามัยเข้ม

หนูทดลองจะอาศัยอยู่ในอาคารสัตว์ทดลอง งานสัตว์ทดลอง ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยมีสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม (12:12 h dark light cycle, ambient temperature 20±1°C) โดยจะได้รับน้ำและอาหารตลอดเวลา โดยเลี้ยงหนูในกรงที่ทำด้วย stainless steel ปูรองพื้นด้วนขี้เลื่อยที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อโรคแล้ว เพื่อใช้ดูดซับสิ่งปฏิกูล

การดำเนินการทดลองจะอยู่ภายใต้ข้อกำหนดของคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยคำนึงถึงจรรยาบรรณในการใช้สัตว์ทดลอง และได้รับใบรับรองอนุมัติให้ดำเนินการวิจัย จากคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่อการศึกษาวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.3 ขั้นตอนการทำการทดลอง

การศึกษาผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่มีต่อสภาวะเครียดของออกซิเดชันจากการบาดเจ็บแบบ Ischemia reperfusion ในกล้ามเนื้อโครงร่าง

การทดลองนี้จะดำเนินการทดลองในหนูทดลองพันธุ์ Wistar rats เพศผู้ 250-350 กรัม อายุ 8-9 สัปดาห์ จำนวน 56 ตัว โดยก่อนเริ่มการทดลองจะนำหนูมาปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของห้องทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์

การทดลองจะแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มมีจำนวน 8 ตัวโดยการสุ่มกลุ่มตัวอย่างแบบไม่เจาะจง

- กลุ่มที่ 1 Sham หรือหนูจะได้รับการผ่าตัดแต่ไม่ได้ถูกเหนี่ยวนำ (Sham-operated) และไม่ได้รับสารใดๆ

- กลุ่มที่ 2 I/R-DDD water หรือหนูจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน โดย Ischemia–reperfusion และได้รับ DDD water (13 ml/kg) ทาง intragastric (i.g.) injection

- กลุ่มที่ 3 I/R-1% Tween 80 หรือถูกเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน โดย Ischemia–reperfusion และได้รับ 1% Tween 80 (13 ml/kg) ทาง intragastric (i.g.) injection

- กลุ่มที่ 4 I/R-Positive หรือ I/R-Vitamin E หรือถูกเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน โดย Ischemia – reperfusion และได้รับ วิตามินอี (250 mg/13 ml/kg) ทาง intragastric (i.g.) injection

- กลุ่มที่ 5 I/R-Low dose TPJ หรือถูกเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันโดย Ischemia – reperfusion และได้รับ น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณต่ำ (13 ml/kg) ทาง intragastric (i.g.) injection

- กลุ่มที่ 6 I/R-Middle dose TPJ หรือถูกเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันโดย Ischemia – reperfusion และได้รับ น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณปานกลาง (13 ml/kg) ทาง intragastric (i.g.) injection

- กลุ่มที่ 7 I/R-High dose TPJ หรือถูกเหนี่ยวนำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันโดย Ischemia – reperfusion และได้รับ น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณสูง (13 ml/kg) ทาง intragastric (i.g.) injection

หมายเหตุ

- การเตรียมน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณต่ำ

นำน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณ 5.5 ml. มาผสมกับ DDD water ในปริมาณ 14.5 ml.

- การเตรียมน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณปานกลาง

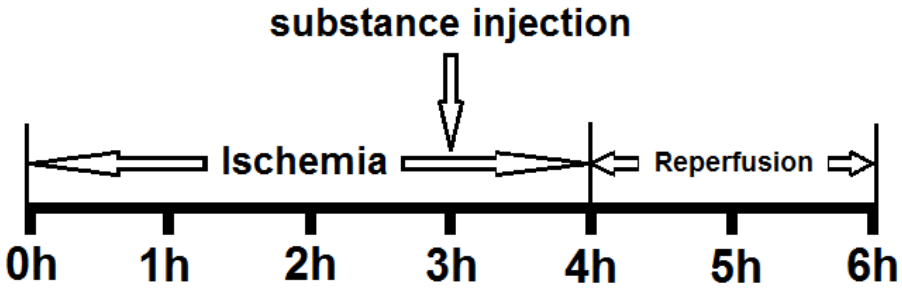
นำน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณ 8.5 ml. มาผสมกับ DDD water ในปริมาณ 11.5 ml.

- การเตรียมน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณสูง

นำน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในปริมาณ 13 ml. มาผสมกับ DDD water ในปริมาณ 7 ml.

การเหนี่ยวนำหนูให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเจน โดย Ischemia – reperfusion

หนูทดลองจะถูกวางยาสลบด้วย pentobarbital sodium (50 mg/kg, i.p.) หลังจากนั้นจะทำการสอดท่อเข้าไปที่กระเพาะอาหารเพื่อให้สารผ่านทาง intragastric (i.g.) injection และต่อท่อผ่านหลอดลมเพื่อช่วยในการหายใจ ต่อมาจะทำการผ่าตัดเพื่อเปิด Femoral artery ทางด้านซ้าย จากนั้นเหนี่ยวนำให้หนูเกิดการบาดเจ็บ (Ischemia–reperfusion) โดยทำให้เกิดภาวะ Ischemia โดยการใช้ Microvascular clamp กดลงไปที่ Femoral artery เพื่อหยุดการไหลของเลือดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำ Microvascular ที่กด Femoral artery ออกเพื่อปล่อยให้เลือดกลับมาไหลอีกครั้งเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง โดยจะให้น้ำทับทิมพันธุ์ไทยและสารต่างๆ ตามที่ระบุในแต่ละกลุ่มผ่านทาง intragastric (i.g.) injection ก่อนการปล่อยให้เลือดไหลกลับ 1 ชั่วโมง (Avci et al., 2012)



เมื่อสิ้นสุดการทดลอง หนูทดลองจะถูกทำให้สลบโดย pentobarbital sodium (50 mg/kg, i.p.) จากนั้นตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บจากหัวใจ (Cardiac puncture) เพื่อนำไปศึกษาส่วนประกอบทางชีวเคมีของเลือด (blood biochemical variables) อันประกอบด้วยระดับ aspartate aminotransferase (AST) alanine aminotransferase (ALT) และ creatine kinase ใน plasma ซึ่งจะถูกวัดโดย automatic analyzer (Wang *et al.*, 2012)

หลังจากนั้นหนูจะถูกทำให้ตายอย่างสงบด้วย pentobarbital sodium แล้วทำการเก็บกล้ามเนื้อ Gastrocnemius และ Soleus ทั้งสองข้าง โดยกล้ามเนื้อด้านซ้ายที่ถูกทำให้บาดเจ็บด้วย Ischemic-reperfusion จะถูกนำไปทดสอบหาเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD) Catalase (CAT) Glutathione (GSH) และ Malondialdehyde (MDA) ตามวิธีการของ Dong และคณะ (2014) ส่วนเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อข้างขวาจะถูกนำมาย้อมด้วย hematoxylin and eosin (H&E) เพื่อศึกษาขนาดพื้นที่หน้าตัดของ muscle fiber (Wang *et al.*, 2012) ซากของหนูทดลองที่เหลือจะนำไปทำลายที่อาคารสัตว์ทดลอง

การประเมินการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา

เนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อข้างขวาจะถูกนำมาย้อมด้วย hematoxylin and eosin (H&E) เพื่อศึกษาขนาดพื้นที่หน้าตัดของ muscle fiber (Wang *et al.*, 2012) โดยกล้ามเนื้อ soleus ถูกตัดด้วยเครื่อง rotary microtome และทำการย้อมสี hematoxylin and eosin (H&E) จากนั้นทำการนับจำนวนเซลล์และดูการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์กล้ามเนื้อ การประเมินการบาดเจ็บของเซลล์เป็นการประเมินกึ่งปริมาณ โดยสังเกตจากจำนวนนิวโทรฟิวที่เคลื่อนที่ไปอยู่รอบๆเซลล์กล้ามเนื้อที่บาดเจ็บ และสังเกตเซลล์ที่มีการบวมขึ้น (เซลล์จะมีขนาดใหญ่เป็นทรงกลมมากกว่าเซลล์ที่อยู่รอบๆ) จากนั้นนับเซลล์กล้ามเนื้อที่ได้รับความเสียหาย และคำนวณเปอร์เซ็นต์ของความเสียหายของเซลล์ในแต่ละฟิลด์ค่าเฉลี่ยที่ได้เป็นค่าตัวแทนของกลุ่ม การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาให้คะแนนจาก 0 ถึง 3 โดย 0 = ไม่มี (ไม่มีการบาดเจ็บหรือการเปลี่ยนแปลงของเซลล์) 1 = mild (น้อยกว่า 15% ของปริมาณการบาดเจ็บและมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง) 2 = ปานกลาง (15-35% ของการบาดเจ็บและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์) 3 = รุนแรง (มากกว่า 35% ของการบาดเจ็บและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์)

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จะถูกวิเคราะห์หาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย Student-Newman-Keuls test (SigmaStat version 3.5, Systat Software, Inc., USA)

ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจะยอมรับเมื่อ *P*-value มีค่าน้อยกว่า 0.05

3.5 สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

- ห้องปฏิบัติการชั้น 4 อาคารเฉลิมพระเกียรติ 72 พรรษา บรมราชินีนาถ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 1 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- อาคารศูนย์สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นที่เหมาะสม

ความเข้มข้นของน้ำตาลในน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดมีค่า 15.53±0.77°Brix และความเข้มข้นสุดท้าย 60.00±0.00°Brix โดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนใช้เวลา 21 นาที และเครื่องไมโครเวฟ 11 นาที ค่า %yield ของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนคือ 16.67±0.60 เปอร์เซ็นต์และเครื่องไมโครเวฟคือ 18.00±1.26 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองพบว่า น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นด้วยเครื่องไมโครเวฟ ใช้เวลาน้อยกว่าเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน และปริมาตรน้ำทับทิมที่ได้จากเครื่องไมโครเวฟมากกว่าเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน

4.2 การทดสอบสารสำคัญในน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้น

4.2.1 การศึกษาทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย โดยการศึกษาในหลอดทดลอง

องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ทำให้เข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 7 ชนิดได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต แทนนิลและฟีนอล ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิล ไกลโคไซด์ และสเตียร์รอยโดยวิธีการทดลองพื้นฐานและประยุกต์จาก Harborne, 1973 การวิเคราะห์องค์ประกอบพฤกษเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด พบโปรตีน แทนนิลและฟีนอล ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน ไกลโคไซด์ และสเตียร์รอยแต่ไม่พบคาร์โบไฮเดรตในทุกๆกลุ่มตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 1

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.2.2 การศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด โดยการศึกษาเป็นแบบการทดลองในหลอดทดลอง

ผลการวิเคราะห์ทางเคมีและปริมาณน้ำตาล วิตามิน และแร่ธาตุที่เป็นส่วนประกอบของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์พฤกษเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย น้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ทำให้เข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน และเครื่องไมโครเวฟ

		วิธีการทำให้น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้น	
	ทับทิมพันธุ์ไทยสด	กลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ	เครื่องไมโครเวฟ
โปรตีน	+	+	+
คาร์โบไฮเดรต	-	-	-
แทนนิน และ ฟีนอล	+	+	+
ฟลาโวนอยด์	+	+	+
ซาโปนิน	+	+	+
ไกลโคไซด์	+	+	+
สเตียรอยด์	+	+	+

หมายเหตุ - หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ, + หมายถึงตรวจสอบพบ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบทางเคมีในน้ำทับทิมพันธุ์ไทย

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
พลังงาน (กิโลแคลรอรี่/มิลลิลิตร)	474.00±11.60
ถ่าน (กรัม/ลิตร)	6.40±0.00
โปรตีน (กรัม/ลิตร)	4.65±0.005
ไขมันทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	-
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	113.85±2.95
น้ำตาล	
น้ำตาลทั้งหมด (กรัม/ลิตร)	112.55±1.05
กลูโคส (กรัม/ลิตร)	62.75±0.35
ฟรุกโตส (กรัม/ลิตร)	49.80±0.70
ซูโคส (กรัม/มิลลิลิตร)	-
วิตามิน	
วิตามินอี (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.14±0.00
วิตามินซี (มิลลิกรัม/100 กรัม)	5.33±0.19
แร่ธาตุ	
แคลเซียม (มิลลิกรัม/ลิตร)	17.15±0.05
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/ลิตร)	309.85±8.15
โซเดียม (มิลลิกรัม/ลิตร)	90.65±2.05
โพแทสเซียม(มิลลิกรัม/ลิตร)	3056.55±63.85
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม/ลิตร)	61.50±2.80

ค่าที่ได้แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย±S.E.M.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.2.3 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดโดยวิธีการ Folin-Ciocalteu

วิธีการ Folin-Ciocalteu เป็นวิธีการหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยน้ำ และที่ทำให้เข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ โดยการใช้น้ำยาของ Folin-Ciocalteau จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ทำให้เข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (6606.30±432.93 มิลลิกรัม GAE/ลิตรของน้ำ) และเครื่องไมโครเวฟ (6675.46±348.54 มิลลิกรัม GAE/ลิตร) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่น้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่เข้มข้นทั้งสองวิธีมีค่าโพลีฟีนอลรวมสูงกว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด (1938.41±207.86 มิลลิกรัม GAE/ลิตรของน้ำ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 3

4.2.4 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging

วิธีการ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging เป็นการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของน้ำพันธุ์ไทยสดและน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ จากผลการทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาไปครึ่งหนึ่ง (IC_{50}, inhibitory concentration) โดยการยับยั้งอนุมูลของ DPPH น้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด (18.60±0.8 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (4.34±0.07 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) และเครื่องไมโครเวฟ (4.82±0.12 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 3 น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (IC_{50}, 3.50±0.05 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เครื่องไมโครเวฟ (IC_{50}, 3.65±0.09 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และวิตามินซี (IC_{50}, 0.23±0.04 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน และเครื่องไมโครเวฟมีค่าสูงกว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากผลการทดลองพบว่าวิตามินซีมีค่า IC_{50} สูงกว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน และเครื่องไมโครเวฟอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 3

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.2.5 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical-scavenging

วิธีการ 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical-scavenging เป็นการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดและน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ จากผลการทดลองพบว่าค่า IC_{50} การยับยั้งอนุมูลของ ABTS ของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด (25.85±2.99 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (6.33±1.09 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) และเครื่องไมโครเวฟ (6.86±1.05 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 3 น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (IC_{50}, 5.10±0.88 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เครื่องไมโครเวฟ (IC_{50}, 5.20±0.80 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และวิตามินซี (IC_{50}, 0.14±0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ดังแสดงในตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟมีค่าสูงกว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากผลการทดลองพบว่าวิตามินซีมีค่า IC_{50} สูงกว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 3

4.2.6 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

วิธีการ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) เป็นการทดสอบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดน้ำและน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ จากผลการทดลองพบว่าค่า FRAP มีค่าเท่ากับ 227.14±25.94 273.74±26.06 และ 61.38±6.34 มิลลิโมล Fe^{2+}/ลิตรตามลำดับ น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟดังแสดงในตารางที่ 3 น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟมีค่าสูงกว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 3

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด และเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ

			วิธีการทำให้น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้น	
วิธีการทดลอง	**วิตามินซี**	**น้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด**	**เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน**	**เครื่องไมโครเวฟ**
Total phenolics				
(มิลลิกรัม GAE/ลิตร)	-	1938±207.86[b]	6606.30±432.93[a]	6675.46±348.54[a]
DPPH (IC_{50},ไมโครลิตร/มิลลิลิตร)	-	18.60±0.80[b]	4.34±0.07 [a]	4.82±0.12 [a]
(IC_{50}, ,มิลลิกรรม/มิลลิลิตร)	0.23±0.04[b]		3.50±0.05[a]	3.65±0.09[a]
ABTS (IC_{50}, ไมโครลิตร/มิลลิลิตร)	-	25.85±2.99[b]	6.33±1.09 [a]	6.86 ±1.05 [a]
(IC_{50},มิลลิกรรม/มิลลิลิตร)	0.14±0.15[b]		5.10±0.88[a]	5.20 ±0.80[a]
FRAP (มิลลิโมล Fe^{2+}/ลิตร)	-	61.38±6.34[b]	227.14±25.94[a]	273.74±26.06[a]

หมายเหตุ – คือ ไม่ได้ทำการทดลอง

ค่าในตารางแสดงในรูป mean ± S.E.M. (P<0.05)

ตัวอักษรตัวยกที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) ตัวยกที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ TPC: total phenolic content; DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; ABTS: 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid; FRAP: ferric reducing-antioxidant-power

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3 ผลการป้องกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยต่อการเหนี่ยวนำภาวะเครียดออกซิเดชันโดยอิสคีมิครีเพอฟิวชันในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนู

4.3.1 การตรวจทางชีวเคมีในซีรั่ม

ผลการตรวจระดับพารามิเตอร์ทางชีวเคมีในซีรั่ม (aspartate aminotransferase (AST) alanine transaminase (ALT) และ creatine phosphokinase (CPK หรือ CK) ในหนูที่ได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทย, น้ำ (Double Dionidistril (DDD) water) 1% Tween 80 และ alpha-tocopherol หรือ Vitamin E (กลุ่มควบคุม) แสดงในตารางที่ 4 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในพารามิเตอร์ทางชีวเคมีในพลาสมาทั้งหมดระหว่างกลุ่มทั้งหมด

ตารางที่ 4 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย และวิตามินอีต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีในซีรั่ม (AST ALT และ CPK)

กลุ่ม	AST (ยูนิต/ลิตร)	ALT (ยูนิต/ลิตร)	CPK (ยูนิต/ลิตร)
Sham	170.43±20.58	39.14±4.88	216.00±44.51
I/R-DDD water	219.86±41.80	62.43±9.21	246.33±11.89
I/R-Tween 80	197.50±22.51	44.50±6.09	355.67±32.34
I/R-Positive	177.33±23.57	82.43±11.04	200.00±15.14
I/R-Low dose TPJ	186.43±23.57	50.71±3.13	258.00±28.36
I/R-Middle dose TPJ	176.43±29.76	47.17±7.60	239.67±21.67
I/R-High dose TPJ	227.17±33.64	108.14±17.74	254.67±79.10

ค่าในตารางแสดงในรูป mean ± S.E.M. ($P<0.05$)

TPJ: Thai pomegranate juice

I/R: Ischemia reperfusion

AST: Aspartate aminotransferase

ALT: Alanine transaminase

CPK หรือ CK: Creatine phosphokinase

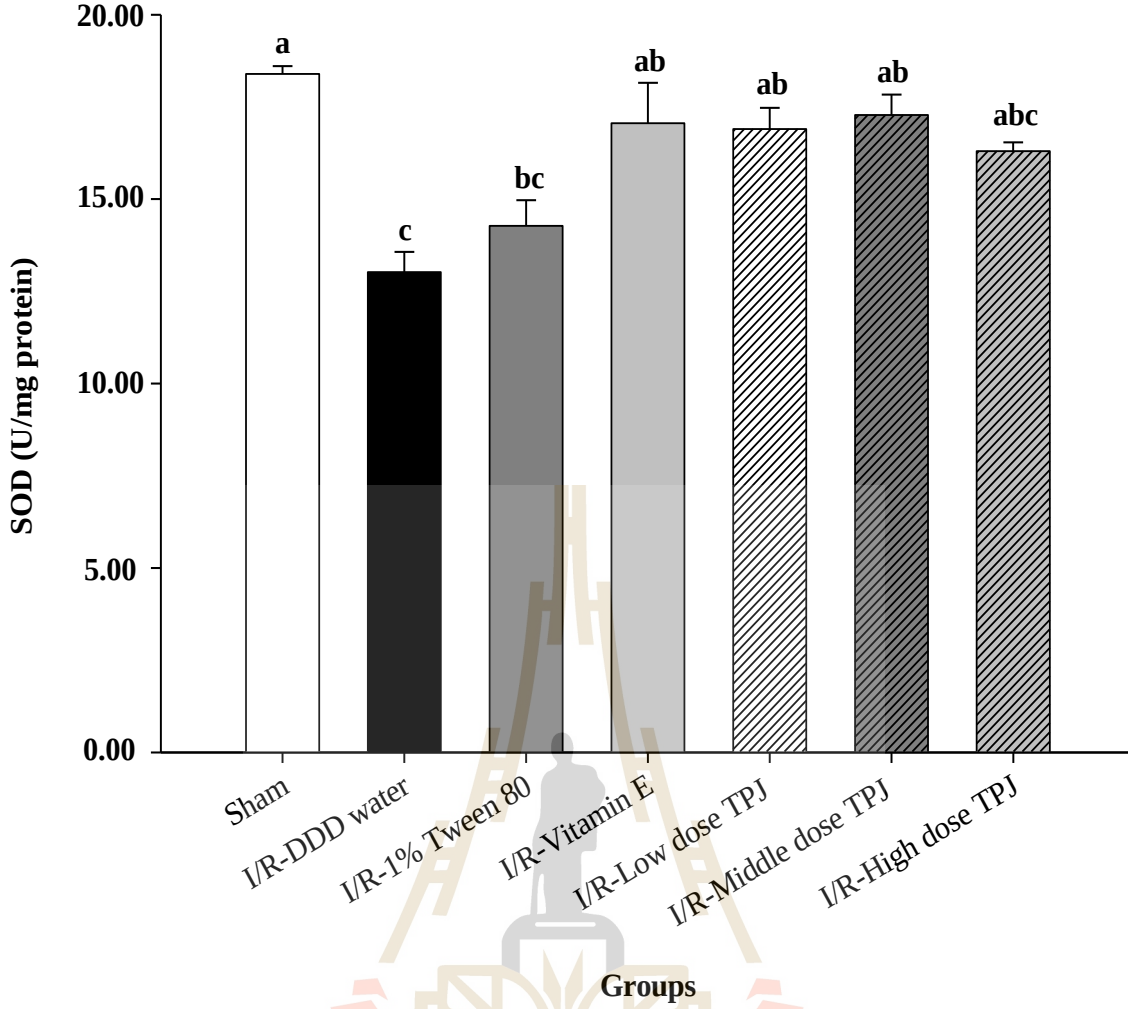
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3.2 การต้านออกซิเดชันของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD)

การทำงานของเอนไซม์ SOD ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างมีค่าดังนี้ กลุ่ม Sham มีค่า 18.39 ± 0.22 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่มน้ำ I/R-DDD water มีค่า 13.02 ± 0.55 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R-1% Tween 80 มีค่า 14.28 ± 0.70 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R-Vitamin E มีค่า 17.06 ± 1.10 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R- Low dose TPJ มีค่า 16.90 ± 0.57 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R- middle dose TPJ มีค่า 17.28 ± 0.55 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และกลุ่ม I/R-High dose TPJ มีค่า 16.3 ± 0.24 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน (รูปที่ 1) กลุ่มที่มีการเหนี่ยวนำ I/R เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดการลดลงของเอนไซม์ SOD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม Sham เอนไซม์ SOD เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) ในกลุ่ม I/R- Low dose TPJ และ กลุ่ม I/R- middle dose TPJ (รูปที่ 1) เอนไซม์ SOD ในเนื้อเยื่อในกลุ่มควบคุม (กลุ่มน้ำ I/R-DDD water และ กลุ่ม I/R-1% Tween 80) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) ในกลุ่ม Sham กลุ่ม I/R-Vitamin E กลุ่ม I/R- Low dose TPJ กลุ่ม I/R- middle dose TPJ แต่ไม่แตกต่างในกลุ่ม I/R-High dose TPJ และไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทยทุกกลุ่ม

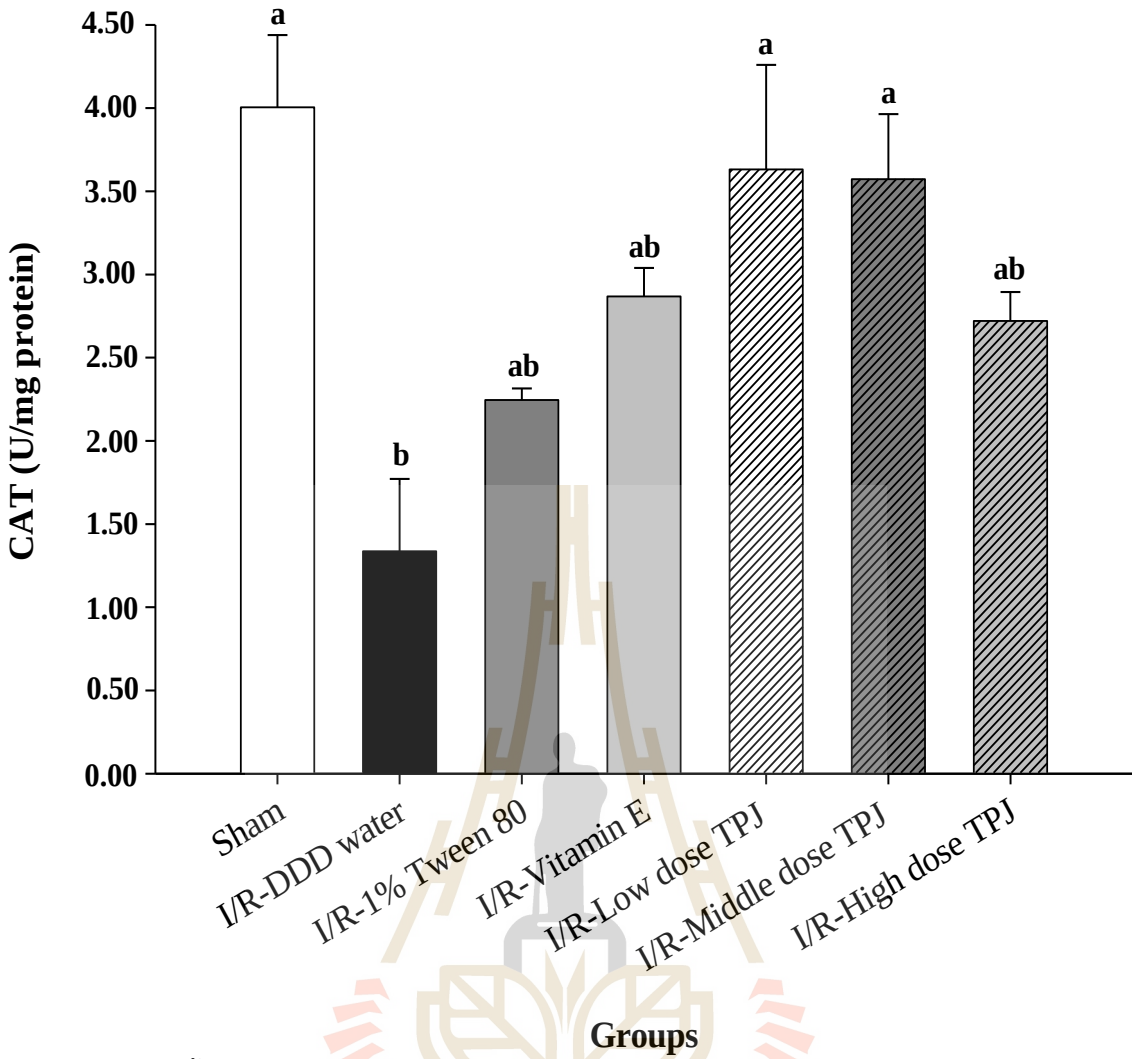
4.3.3 การต้านออกซิเดชันของเอนไซม์ catalase (CAT)

การทำงานของเอนไซม์ CAT ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างมีค่าดังนี้ กลุ่ม Sham มีค่า 4.00±0.43 นิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่มน้ำ I/R-DDD water มีค่า 1.34±0.44 นิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R-1% Tween 80 มีค่า 2.25±0.07 นิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R-Vitamin E มีค่า 2.87±0.17 นิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R- Low dose TPJ มีค่า 3.31±0.70 นิต/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R- middle dose TPJ มีค่า 3.57±0.39 นิต/มิลลิกรัมโปรตีน และกลุ่ม I/R-High dose TPJ มีค่า 2.72±0.17 นิต/มิลลิกรัมโปรตีน (รูปที่ 2) กลุ่มที่มีการเหนี่ยวนำ I/R เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดการลดลงของเอนไซม์ CAT เมื่อเทียบกับกลุ่ม Sham อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) กลุ่ม I/R- Low dose TPJ และ กลุ่ม I/R- middle dose TPJ เอนไซม์ CAT เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 2) แต่ไม่มีความแตกต่างในกลุ่ม I/R-Vitamin E และ I/R-High dose TPJ และไม่มีความแตกต่างกันในกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทยทุกกลุ่ม เอนไซม์ CAT ของเนื้อเยื่อในกลุ่ม I/R-Vitamin E และกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสูงกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 1 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและวิตามินอีในการทำงานของ SOD ใน ischemia/reperfusion เหนี่ยวนำการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียส (gastrocnemius)
ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มอื่น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 2 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและวิตามินอีในการทำงานของ CAT ใน ischemia/reperfusion เหนี่ยวนำการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียส (gastrocnemius)
ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มอื่น

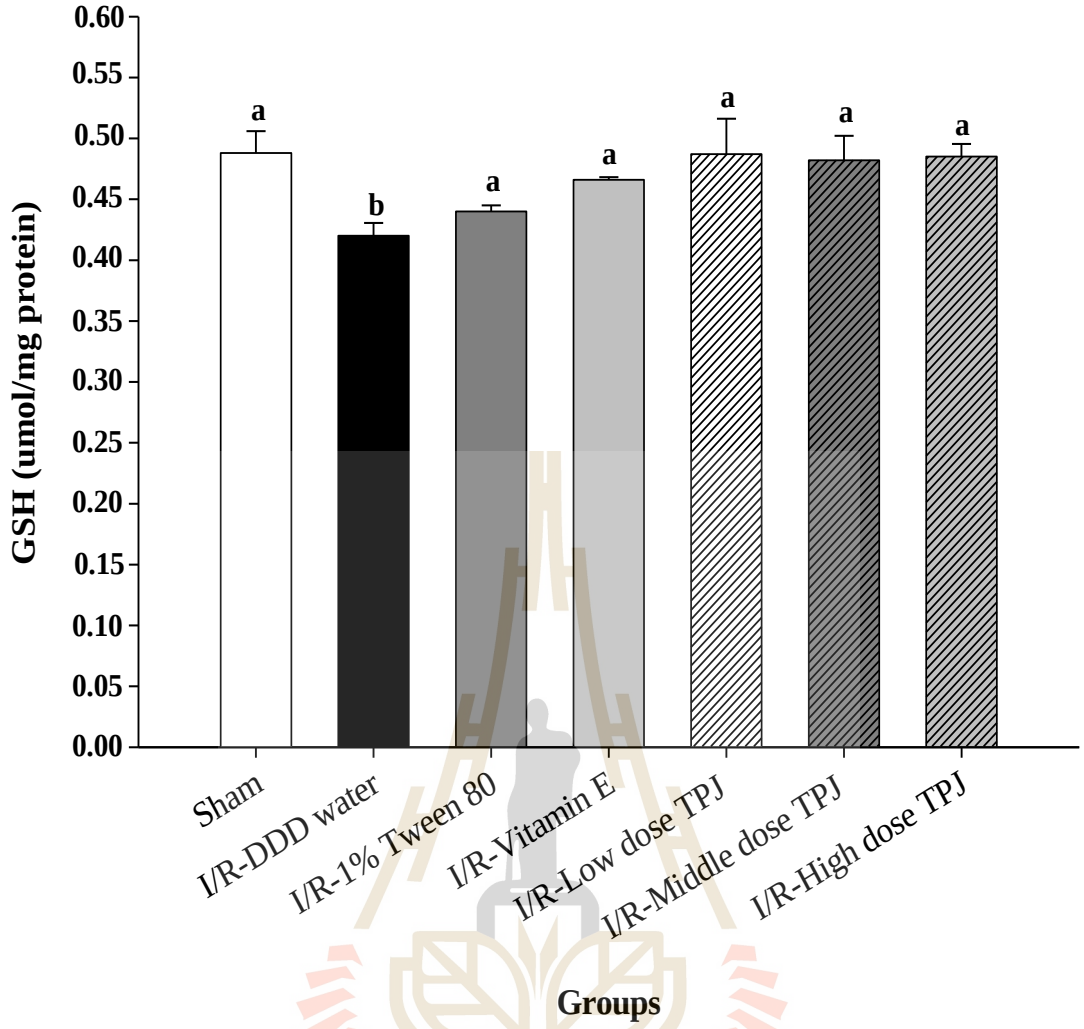
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3.4 การต้านออกซิเดชันของ glutathione (GSH)

การทำงานของเอนไซม์ GSH ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างมีค่าดังนี้ กลุ่ม Sham มีค่า 0.49±0.02 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่มน้ำ I/R-DDD water มีค่า 0.42±0.01 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R-1% Tween 80 มีค่า 0.44±0.01 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R-Vitamin E มีค่า 0.47±0.00 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R- Low dose TPJ มีค่า 0.49±0.03 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน กลุ่ม I/R- middle dose TPJ มีค่า 0.48±0.02 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน และกลุ่ม I/R-High dose TPJ มีค่า 0.49±0.01 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน (รูปที่ 3) กลุ่มที่มีการเหนี่ยวนำ I/R เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดการลดลงของระดับ GSH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม Sham ระดับ GSH ในกลุ่มควบคุม (I/R-DDD water) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม Sham ระดับ GSH ในกลุ่ม I/R-Vitamin E ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม (I/R-1% Tween 80) ระดับ GSH ของทุกกลุ่มของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (I/R-DDD water)

4.3.5 ระดับของ malondialdehyde (MDA)

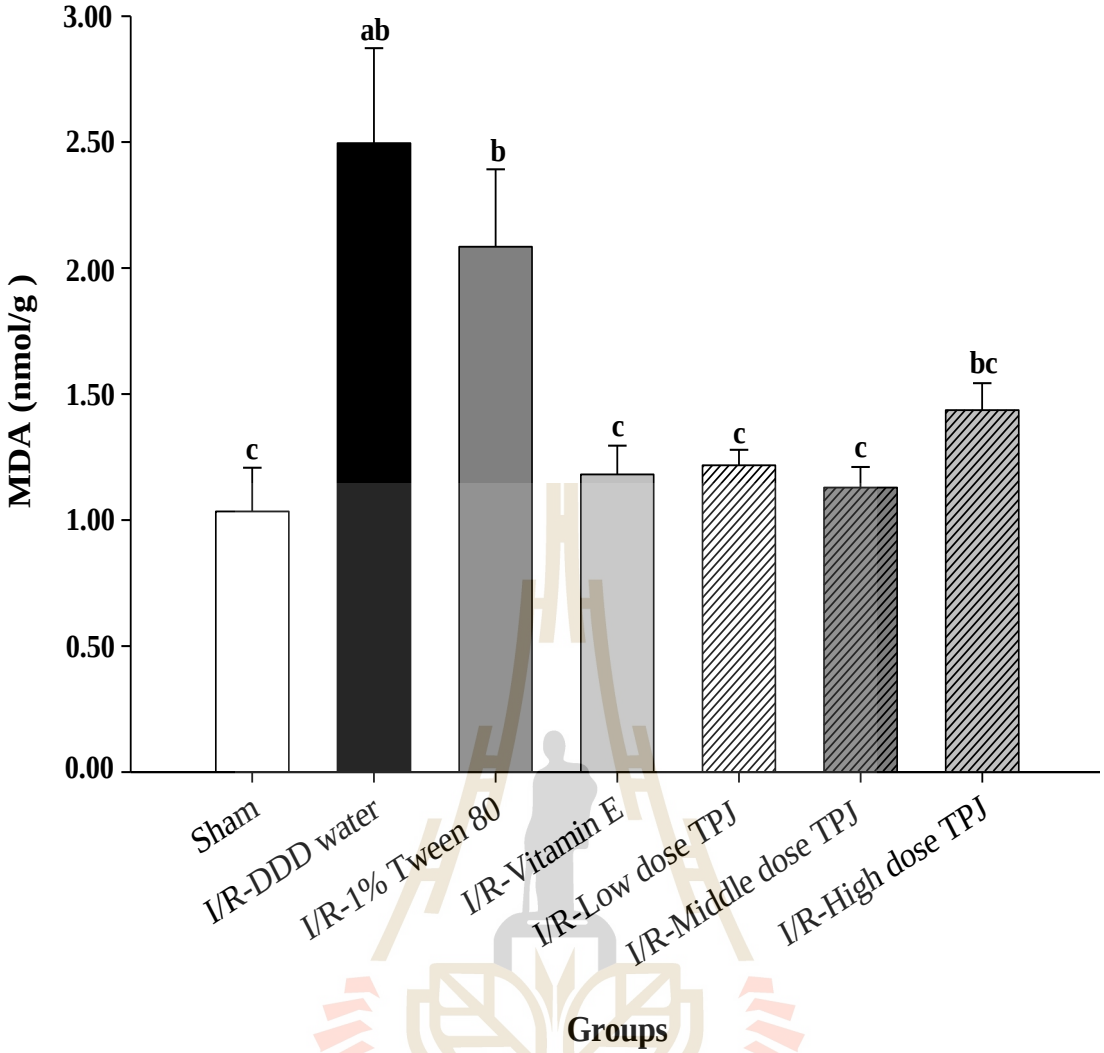
การทำงานของเอนไซม์ GSH ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างมีค่าดังนี้ กลุ่ม Sham มีค่า 01.03±0.17 นาโนโมล/กรัมน้ำหนักเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ กลุ่มน้ำ I/R-DDD water มีค่า 2.50±0.38 นาโนโมล/กรัมน้ำหนักเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ กลุ่ม I/R-1% Tween 80 มีค่า 2.09±0.31 นาโนโมล/กรัมน้ำหนักเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ กลุ่ม I/R-Vitamin E มีค่า 1.18±0.11 นาโนโมล/กรัมน้ำหนักเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ กลุ่ม I/R- Low dose TPJ มีค่า 1.22±0.06 นาโนโมล/กรัมน้ำหนักเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ กลุ่ม I/R- middle dose TPJ มีค่า 1.13±0.08 นาโนโมล/กรัมน้ำหนักเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ และกลุ่ม I/R-High dose TPJ มีค่า 1.44±0.11 นาโนโมล/กรัมน้ำหนักเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (รูปที่ 4) กลุ่มที่มีการเหนี่ยวนำ I/R เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับ MDA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม Sham ระดับ MDA ของทุกกลุ่มของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยยกเว้นกลุ่ม I/R-High dose TPJ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (กลุ่ม I/R-DDD water และกลุ่มI/R-1% Tween 80) ระดับ MDA ของเนื้อเยื่อในกลุ่มควบคุม (กลุ่ม I/R-DDD water และกลุ่มI/R-1% Tween 80) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่ม Sham ระดับ MDA ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P <0.05)ในกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทยทุกกลุ่ม



รูปที่ 3 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและวิตามินอีต่อระดับ GSH ใน ischemia/reperfusion เหนี่ยวนำการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียส (gastrocnemius)

ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มอื่น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 4 ผลของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและวิตามินอีต่อระดับ MDA ใน ischemia/reperfusion เหนี่ยวนำการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อแกสตรอคนีเมียส (gastrocnemius)
ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มอื่น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3.6 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาในเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อโครงร่าง

พบว่าสัณฐานวิทยาของเส้นใยกล้ามเนื้อปกติ และการย้อมสีสม่ำเสมอในกลุ่ม Sham (รูปที่ 5) ในกลุ่ม I/R-DDD water และ กลุ่ม I/R-1% Tween 80 โครงสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อ มีการเรียงตัวไม่เป็นระเบียบจากการสังเกตสัณฐานวิทยาของกล้ามเนื้อที่ผิดปกติ สังเกตการหดตัวและช่องว่างของเซลล์กว้างขึ้น (รูปที่ 6 และ 7) ในกลุ่มของ I/R-Vitamin E I/R-Low dose TPJ I/R-Middle dose TPJ และ I/R-High dose TPJ สัณฐานวิทยาของเส้นใยกล้ามเนื้อเป็นปกติมาก และมีการย้อมสีสม่ำเสมอ สัณฐานวิทยาของเส้นใยกล้ามเนื้อที่ไม่ปกติสังเกตุจากการหดตัว และช่องว่างของเซลล์ที่กว้างขึ้นอย่างเห็นได้ชัด คะแนนของการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อโครงร่างได้แสดงไว้ใน ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง I/R ถูกแสดงผลเป็นจำนวนของเซลล์เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงเซลล์ และคะแนนทางโครงสร้างเนื้อเยื่อ ปริมาณเซลล์ของกล้ามเนื้อโครงร่าง (Soleus) ของทุกกลุ่มมีความคล้ายคลึงกัน กลุ่มที่มีการเหนี่ยวนำ I/R เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของเซลล์ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในกล้ามเนื้อ Soleus เมื่อเทียบกับกลุ่ม Sham เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในกลุ่ม I/R-DDD water และ I/R-1% tween 80 พบว่าสูงกว่ากล้ามเนื้อ Soleus ของกลุ่มอื่น ความเสียหายของเซลล์กล้ามเนื้อระดับปานกลางพบในกลุ่ม I/R-DDD water โดยการให้คะแนนจากการตรวจชิ้นเนื้อของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ Soleus กล้ามเนื้อในกลุ่มนี้ได้คะแนนเป็น 2 ความเสียหายของกล้ามเนื้อโครงร่าง (Soleus) ในกลุ่มอื่น ๆ นั้นไม่รุนแรงเนื่องจากคะแนนการตรวจชิ้นเนื้อได้คะแนนเท่ากับ 1 วิตามินอีและกลุ่มน้ำทับทิมพันธุ์ไทยลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม I/R-DDD water

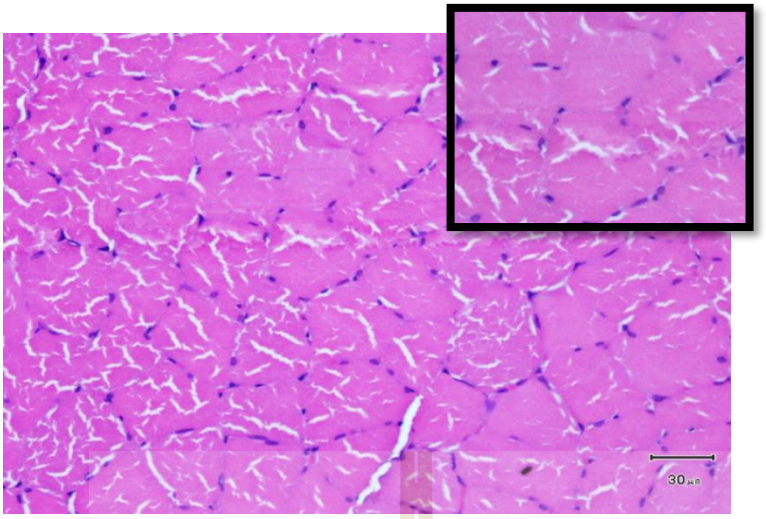
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 5 ผลของความเข้มข้นที่ต่างกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย และวิตามินอี ในการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของกล้ามเนื้อ Soleus จากการเหนี่ยวนำ ischemia reperfusion

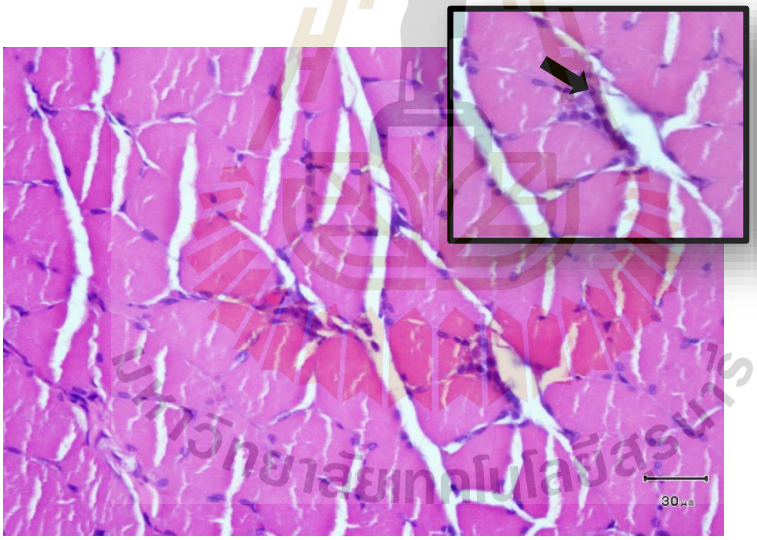
กลุ่ม	จำนวนเซลล์	% การบาดเจ็บของเซลล์	การให้คะแนนทางสัณฐานวิทยา
Sham	81.91±8.89[a]	0.33±0.21[b]	1.0
I/R-DDD water	74.54±6.85[a]	20.38±4.89[a]	2.0
I/R-1% Tween 80	78.49±7.47[a]	7.82±0.854[b]	1.0
I/R-Vitamin E	79.98±7.75[a]	0.80±0.435[b]	1.0
I/R-Low dose TPJ	82.29±5.07[a]	0.36±0.119[b]	1.0
I/R-Middle dose TPJ	91.03±4.72[a]	2.72±0.30[b]	1.0
I/R-High dose TPJ	91.26±6.15[a]	2.00±0.316[b]	1.0

ตัวอักษรที่ยกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มอื่น($P<0.05$) การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาให้คะแนนจาก 0 ถึง 3 โดย 0 = ไม่มี (ไม่มีการบาดเจ็บหรือการเปลี่ยนแปลงของเซลล์) 1 = mild (น้อยกว่า 15% ของปริมาณการบาดเจ็บและมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง) 2 = ปานกลาง (15-35% ของการบาดเจ็บและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์) 3 = รุนแรง (มากกว่า 35% ของการบาดเจ็บและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์)

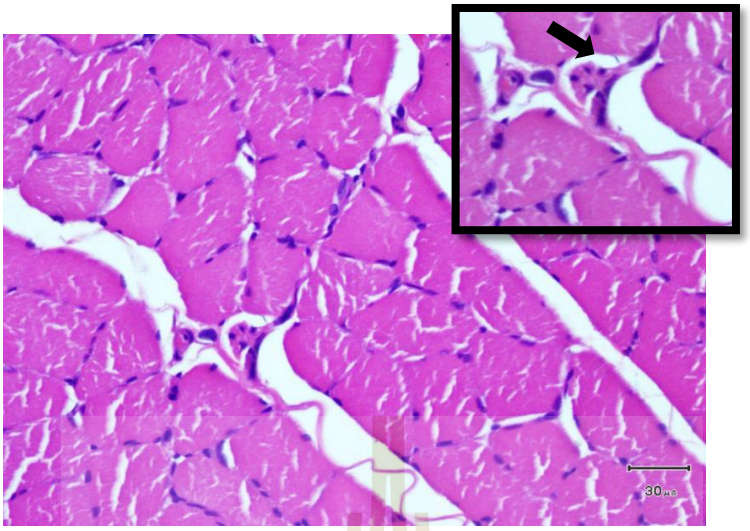
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



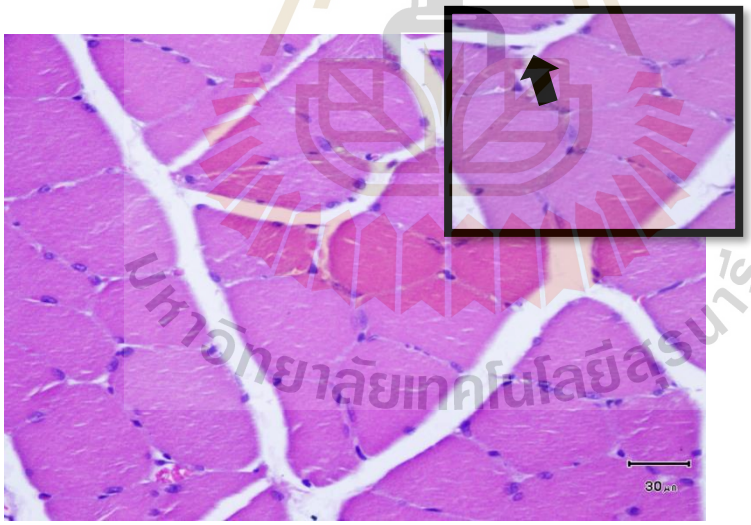
รูปที่ 5 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างในกลุ่ม sham (ย้อม Hematoxylin and eosin (H&E) ที่กำลังขยาย 40X) สัณฐานวิทยาของเส้นใยกล้ามเนื้อและการย้อมสีสม่ำเสมอเหมือนกัน กลุ่ม Sham คะแนนที่ได้คือ 1



รูปที่ 6 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างในกลุ่ม I/R-DDD water (Hematoxylin and eosin (H&E) ที่กำลังขยาย 40X) จุดโฟกัสการกระการการอักเสบของเส้นใยกล้ามเนื้อและ การตายของเซลล์ อยู่ระดับปานกลาง คะแนนที่ได้คือ 2

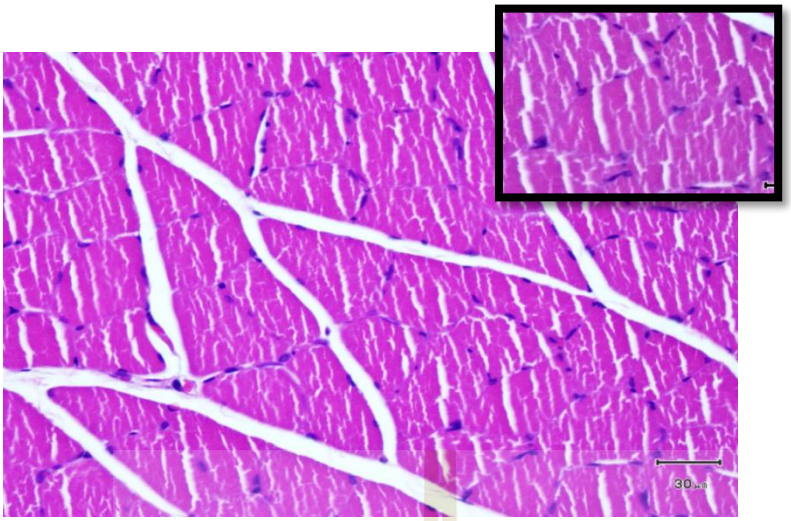


รูปที่ 7 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างใน I/R-1% Tween 80 (Hematoxylin and eosin (H&E) ที่กำลังขยาย 40X) จุดโฟกัสการกระการการอักเสบของเส้นใยกล้ามเนื้อและ การตายของเซลล์ อยู่ระดับปานกลาง คะแนนที่ได้คือ 1

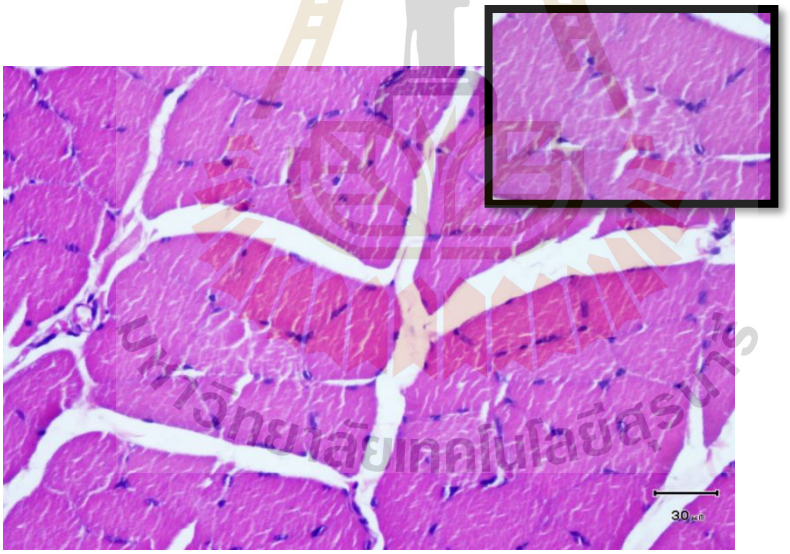


รูปที่ 8 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างใน I/R-Vitamin (Hematoxylin and eosin (H&E) ที่กำลังขยาย 40X) จุดโฟกัสการกระการการอักเสบของเส้นใยกล้ามเนื้อและ การตายของเซลล์ อยู่ระดับปานกลาง คะแนนที่ได้คือ 1

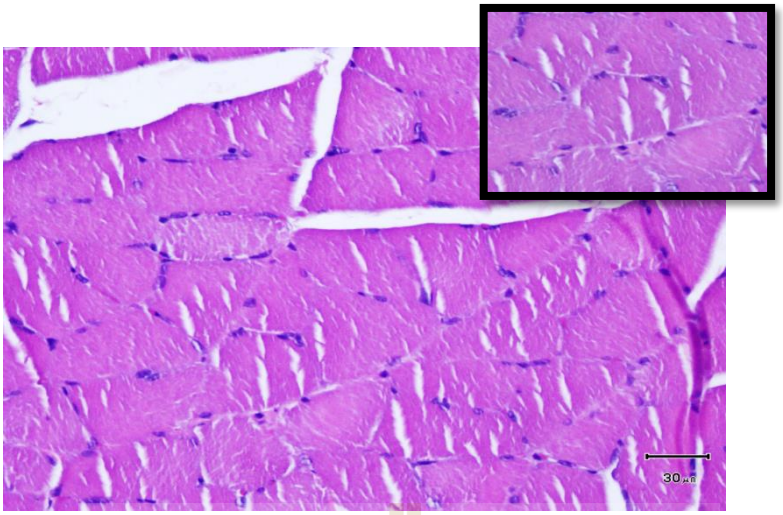
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 9 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง I/R-Low dose TPJ (Hematoxylin and eosin (H&E) ที่ คะแนนที่ได้คือ 1



รูปที่ 10 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง I/R-Middle dose TPJ (Hematoxylin and eosin (H&E) ที่ คะแนนที่ได้คือ 1



รูปที่ 11 ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศ์ของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง I/R-High dose TPJ (Hematoxylin and eosin (H&E) ที่ คะแนนที่ได้คือ 1

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5
บทสรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ข้อสรุปและเสนอแนะ

โพลีฟีนอลจากผลไม้และพืชหลายชนิดเป็นที่รู้กันว่ามีคุณสมบัติที่หลากหลาย เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, โรคหัวใจและหลอดเลือด และต่อต้านมะเร็ง (Wang, Ho, Glackin, and Martins-Green, 2012; Fuhrman, Volkova, and Aviram, 2005) สารประกอบโพลีฟีนอลจำนวนมากสามารถพบได้ในน้ำทับทิม (Gil *et al*., 2000) น้ำทับทิมมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ มีงานวิจัยหลายชิ้นเปิดเผยว่าน้ำทับทิมเป็นแหล่งของโพลีฟีนอล(Tezcan, Gültekin-Özgüven, Diken, Özçelik, and Erim, 2009; Gil *et al*., 2000; Mousavinejad, Emam-Djomeh, Rezaei, and Khodaparast, 2009) ดังนั้นน้ำทับทิมอาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบโพลีฟีนอล การศึกษาครั้งนี้เป็นการประเมินหาวิธีการที่ดีที่สุดที่ทำให้น้ำทับทิมเข้มข้น สำหรับวิธีการทดสอบปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยและผลการป้องกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยต่อการเหนี่ยวนำภาวะเครียดออกซิเดชันโดยอิสคีมิครีเพอฟิวชันในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนูโดยการวัดการเปลี่ยนแปลงตัวบ่งชี้สภาวะเครียดออกซิเดชั่นที่สำคัญทั้งในเลือดและเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำทับทิมสามารถเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระโดยอาจยับยั้งความเครียดออกซิเดชันในกล้ามเนื้อโครงร่างของหนู Wistar ตัวผู้ที่แข็งแรงและอาจเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อขาดเลือดในหนู ผลการศึกษาครั้งนี้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี องค์ประกอบทางพฤกษเคมี ปริมาณโพลีฟีนอลรวม และฤทธิ์ต้านออกซิชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดถูกตรวจสอบในการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งคล้ายกับน้ำทับทิมจาก Tukey และสเปน แต่ปริมาณของแต่ละองค์ประกอบในน้ำทับทิมพันธุ์ไทย มีความแตกต่างจากน้ำทับทิมที่ได้จากตุรกีและสเปน (ตารางที่ 6) ปริมาณของเถ้า วิตามินอี ฟอสฟอรัส โซเดียม โพแทสเซียม และแมงกานีสในทับทิมพันธุ์ไทยสูงกว่าน้ำทับทิมจากกตุรกีและสเปน ปริมาณของ ซูโคสรวม กลูโคส พรุกโตส วิตามินซี และแคลเซียมของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยต่ำกว่าน้ำทับทิมจากตุรกีและสเปน ความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำทับทิมอาจจะเป็นผลมาจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน พื้นที่เพาะปลูกที่ต่างกัน อุณหภูมิที่ต่างกันและสิ่งแวดล้อมในแต่ละพื้นที่เพาะปลูกและวิธีการทดสอบความแตกต่างที่ใช้ในแต่ละห้องปฏิบัติการการตรวจคัดกรององค์ประกอบทางพฤกษเคมีของ น้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด และ น้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ทำให้เข้มข้นโดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ พบว่ามีโปรตีนแทนนินและฟีนอล ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน ไกลโคไซด์ และสเตียรอยด์ ไม่พบคาร์โบไฮเดรตในวิธีการคัดกรองในปัจจุบันอาจเป็นเพราะวิธีการคัดกรองนั้นมีลักษณะเฉพาะสำหรับแป้งไม่ใช่คาร์โบไฮเดรตทุกประเภท พบว่าปริมาณของโพลีฟีนอลจำนวนมากและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่สูง (DPPH, ABTS และ FRAP) ของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย ในการศึกษาครั้งนี้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของทับทิมพันธุ์ไทยสด (1938.41±207.86 มิลลิกรัม GAE/ลิตรน้ำผลไม้) สูงกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้ (144.00±80.00 มิลลิกรัม GAE/ลิตรน้ำผลไม้) ในการศึกษาของ Tezcan และคณะ 2009 น้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดมีค่า 15.53±0.77^{o}Brix ซึ่งไม่แตกต่างจากทับทิมที่เกิด

จากพื้นที่อื่น Li และคณะ 2015 พบว่าค่า Brix ของน้ำทับทิมอยู่ในช่วง 13.97°Brix ถึง16.30°Brix จาก 15 สายพันธุ์ในประเทศจีน จากการศึกษาพบว่าวิธีทำให้เข้มข้นได้ดีที่สุดจากการทดสอบสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย น้ำทับทิมพันธุ์ไทยสด 15.53±0.77°Brix ถูกทำให้เข้มข้นถึง 60.00±0.00°Brix โดยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนและเครื่องไมโครเวฟ (ตามที่อธิบายไว้ก่อนหน้านี้โดย Goula และเพื่อนร่วมงาน (2014) ซึ่งใช้เวลาภายใน 21 และ 11 นาทีตามลำดับ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 6 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทับทิมจากสถานที่ต่าง ๆ

องค์ประกอบ	การทดลองในปัจจุบัน (mean±SEM)	การศึกษาก่อนหน้านี้ ปริมาณ	พื้นที่	อ้างอิง
เถ้า (กรัม/ลิตร)	6.40±0.00	3.90	Turkey	Velioglu *et al*., 1997
ซูโคสรวม (กรัม/ลิตร)	112.55±1.05	148.75	Turkey	Poyrazoglu *et al*., 2002
กลูโคส (กรัม/ลิตร)	62.75±0.35	64.80	Turkey	Velioglu *et al*., 1997
ฟรุกโตส (กรัม/ลิตร)	49.80±0.70	71.50	Turkey	Velioglu *et al*., 1997
แคลเซียม (มิลลิกรัม/ลิตร)	17.15±0.05	20.00	Turkey	Velioglu *et al*., 1997
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/ลิตร)	309.85±8.15	270.00	Turkey	Velioglu *et al*., 1997
โซเดียม (มิลลิกรัม/ลิตร)	90.65±2.05	9.00	Turkey	Velioglu *et al*., 1997
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม/ลิตร)	3056.55±63.85	1209.00	Turkey	Velioglu *et al*., 1997
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม/ลิตร)	61.50±2.80	45.00	Turkey	Velioglu *et al*., 1997

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (6606.30±432.93 มิลลิกรัม GAE/ลิตรน้ำทับทิม) และเครื่องไมโครเวฟ (6675.46±348.54 มิลลิกรัม GAE/ลิตรน้ำทับทิม) พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน เครื่องไมโครเวฟ และน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลของ DPPH ฤทธิ์ต้านอนุมูล ABTS และความสามารถในการลดปริมาณเหล็กโดย ทำการทดสอบ FRAP ค่า IC_{50} ของการทดสอบ DPPH และ ABTS สำหรับน้ำทับทิมยังไม่มีการรายงาน ค่า IC_{50} ของ DPPH ในน้ำผลไม้อื่นๆมีค่าเท่ากับ 2.500±2.88 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (น้ำแอปเปิ้ลสด), 0.156±0.031 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ฝรั่งสด), และ 0.313±0.143 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (มะนาวสด) (Beh, 2012) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน เครื่องไมโครเวฟมีค่าสูงกว่าน้ำผลไม้สดอื่นๆ จากการศึกษาค่า FRAP ของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสูงกว่าการศึกษาของ Tezcan และคณะ 2009 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยในวิธีการ DPPH ABTS และ FRAP มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลรวมที่วัดปริมาณโดยใช้การทดสอบ Folin-ciocalteu มีความคล้ายคลึงกันในฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธีการ DPPH ABTS และ FRAP และการวัดปริมาณฟีนอลิกโดยรวมของวิธีความเข้มข้นสองวิธีสำหรับชี้วัดว่า ทั้งสองวิธีของความเข้มข้นสามารถใช้สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของปริมาณฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทย อย่างไรก็ตามการระเหยของไมโครเวฟอาจเป็นทางเลือกที่ดีที่สุดเนื่องจากสามารถทำให้น้ำทับทิมพันธุ์ไทยเข้มข้นในช่วงเวลาสั้น ๆ และให้ผลผลิตร้อยละมากขึ้น การระเหยด้วยไมโครเวฟมีความได้เปรียบในการให้ความร้อนแก่น้ำทับทิมพันธุ์ไทยอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ ปริมาณฟีนอลทั้งหมดในน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสดมีค่าสูงกว่าน้ำของเปลือกทับทิมจากจอร์เจีย (272.00-849 มิลลิกรัม GAE/ลิตรน้ำทับทิม) Rajasekar และคณะ 2012 แต่มีค่าต่ำกว่าน้ำทับทิมจากอิหร่าน (2376–9.304 มิลลิกรัม GAE/ลิตรน้ำทับทิม) Mousavinejad and co-workers (2009) จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าระดับปริมาณฟีนอลรวมของน้ำทับทิมมีความแตกต่างกันอย่างมากในสายพันธุ์ต่างๆ และในแต่ละภูมิภาค งานวิจัยของ Li และคณะ 2014 พบว่าโพลีฟีนอลโมโนเมอร์ (punicalagin, กรด gallic, catechin, กรด chlorogenic, กรด cafeic, epicatechine, กรด ferulic, กรด ellagic และ kaempferol) พบในน้ำทับทิม 10 สายพันธุ์จากประเทศจีน 4 ภูมิภาค (ตารางที่ 7) Punicalagin เป็นโมโนเมอร์โพลีฟีนอลมากที่สุดที่พบในน้ำผลไม้ทับทิมโดยระบุว่า Punicalagin เป็นโพลีฟีนอลหลักในน้ำทับทิมตามการค้นพบของ Gil et al (2000) Punicalagin และ hydrolyable tannins ได้เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่มีมากที่สุดในน้ำทับทิม tannin และ anthocyaninsพบมากในน้ำทับทิมซึ่งเป็นตัวชี้วัดได้ว่าน้ำทับทิมมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่สูง (Li et al., 2015)

ตารางที่ 7 โมโนเมอร์โพลีฟีนอลของน้ำผลไม้ 10 สายพันธุ์ของทับทิมจาก 4 ภูมิภาคที่กำลังเติบโตของจีน (μg/ml) (Li and co-workers, 2014).

Cultivars	Punicalagin	Gallic acid	catechin	Chlorogenic acid	Caffeic acid	Epicatechin	Ferulic acid	Ellagic acid	Kaempferol
XJ-TSL	396.31 ± 0.02 g	2.14 ± 0.03 f	4.88 ± 0.08 j	9.48 ± 0.03 j	2.32 ± 0.06 c	10.04 ± 0.05 i	0.44 ± 0.03 g	1.02 ± 0.03 a	8.12 ± 0.08 f
XJ-SSL	791.81 ± 0.05 b	14.50 ± 0.02 c	5.63 ± 0.05 i	27.11 ± 0.05 d	1.93 ± 0.01 e	14.04 ± 0.02 f	0.46 ± 0.01 g	0.28 ± 0.01 f	10.66 ± 0.09 e
SD-TSL	1042.93 ± 0.01 a	6.23 ± 0.06 d	40.53 ± 0.04 j	25.56 ± 0.01 e	2.56 ± 0.03 a	9.28 ± 0.03 j	1.72 ± 0.02 a	0.73 ± 0.01 b	1.50 ± 0.02 i
SD-SSL	573.31 ± 0.07 c	3.79 ± 0.04 e	9.70 ± 0.05 g	40.83 ± 0.04 d	2.44 ± 0.05 b	35.65 ± 0.01 a	1.27 ± 0.01 b	0.53 ± 0.02 d	1.67 ± 0.02 h
YN-LZ	264.06 ± 0.02 i	0.70 ± 0.03 h	15.46 ± 0.03 e	23.47 ± 0.02 f	1.37 ± 0.04 g	35.02 ± 0.04 b	0.74 ± 0.01 e	0.25 ± 0.01 g	17.30 ± 0.09 b
YN-SZ	149.85 ± 0.02 j	0.74 ± 0.01 gh	5.98 ± 0.02 h	21.49 ± 0.05 g	1.11 ± 0.02 i	21.26 ± 0.02 e	0.23 ± 0.01 h	0.25 ± 0.00 g	17.79 ± 0.09 a
YN-SSL	479.39 ± 0.01 f	2.09 ± 0.07 f	16.55 ± 0.05 d	44.21 ± 0.03 a	2.19 ± 0.03 d	22.61 ± 0.05 d	0.73 ± 0.02 e	0.65 ± 0.01 c	2.65 ± 0.01 g
SX-JPT	298.99 ± 0.03 h	15.93 ± 0.03 b	9.99 ± 0.07 f	13.96 ± 0.07 i	1.62 ± 0.05 f	25.44 ± 0.06 c	0.81 ± 0.02 d	0.27 ± 0.01 fg	16.89 ± 0.08 d
SX-SBT	504.34 ± 0.01 e	0.80 ± 0.02 c	34.44 ± 0.02 c	21.42 ± 0.03 h	1.22 ± 0.04 h	10.66 ± 0.01 h	1.19 ± 0.04 c	0.53 ± 0.02 d	0.25 ± 0.01 j
SX-SSL	560.83 ± 0.01 d	17.19 ± 0.01 a	41.23 ± 0.01 a	32.26 ± 0.01 c	2.20 ± 0.02 d	12.84 ± 0.03 g	0.59 ± 0.01 f	0.44 ± 0.01 e	17.08 ± 0.08 c

-ข้อมูลที่แสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± SD ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$). XJ, Xinjiang; SD, Shandong; YN, Yunnan; SX, Shaanxi; TSL, SZ, LZ, JPT, SBT ทับทิมหวาน, SSL ทับทิมเปรี้ยว.

ระดับพารามิเตอร์ทางชีวเคมีในซีรั่มเช่น aspartate aminotransferase (AST), alanine transaminase (ALT) และ creatine phosphokinase (CPK หรือ CK) ได้รับการพิจารณาในหนู I/R ที่ได้รับน้ำทับทิมที่ทำให้เข้มข้น ระดับ AST และ ALT ที่ปล่อยออกมาในเลือดของมนุษย์และสัตว์เป็นเอนไซม์ที่มีความไวปานกลางสำหรับการบ่งชี้ว่าตับถูกทำลายหรือเป็นพิษต่อตับ หนูที่ได้รับการเหนี่ยวนำ I/R ได้รับน้ำทับทิม 3 ความเข้มข้น น้ำ 1% tween 80 และวิตามินอีโดยการฉีดผ่านทางกระเพาะ 60 นาทีก่อนการปล่อยเลือดกลับมาไหลอีกครั้ง การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในพารามิเตอร์ทางชีวเคมีในซีรั่มทั้งหมดระหว่างหนู I/R ทุกกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิม 3 ความเข้มข้น และวิตามินอีระดับ AST ซีรั่มในทุกกลุ่มสูงกว่าช่วงปกติ (74-143 ยูนิต/ลิตร) ของพารามิเตอร์ห้องปฏิบัติการทางคลินิก (Giknis และ Clifford, 2008) ระดับ ALT เซรั่มในกลุ่ม I/R-DDD water IR-vitamin E I/R-Low dose TPJ I/R-Middle dose TPJ และ I/R-High dose TPJ สูงกว่าช่วงปกติ (18-45 ยูนิต/ลิตร) ของพารามิเตอร์ห้องปฏิบัติการทางคลินิก (Giknis และ Clifford, 2008) เซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างปกติมีเอนไซม์ CPK มากมาย เอนไซม์ cytosolic CPK นั้นพบได้ในกล้ามเนื้อโครงร่างเป็นหลักและเป็นตัวบ่งชี้ของความเสียหายของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่าง (Carter et al., 1998) ระดับ CPK ในซีรั่มอยู่ในช่วงปกติ (162-1184 ยูนิต/ลิตร) ของพารามิเตอร์ห้องปฏิบัติการทางคลินิก (Giknis และ Clifford, 2008) ระดับ CPK ในซีรั่ม 1318 ± 208 พบในกลุ่ม I/R โดย 2 ชั่วโมงของ ischemia และ 24 reperfusion ในการศึกษาของ Takhtfooladi และเพื่อนร่วมงาน (2014) ซึ่งสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Sham และ กลุ่มที่ให้สาร และ I/R ผลของระดับซีรั่ม CPK ในการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างหนู I/R ที่ได้รับสารที่ความเข้มข้นต่างกันของทุกกลุ่มและวิตามินอี ผลที่แตกต่างในการศึกษาครั้งนี้อาจจะเป็นผลจากเวลาที่ใช้ในการเหนี่ยวนำแบบ I/R สั้นกว่าการศึกษาของ Takhtfooladi และ เพื่อนร่วมงาน 2014

อนุพันธ์ที่ว่องไวของออกซิเจน (Reactive oxygen species, ROS) ประกอบไปด้วยอนุมูลอิสระและไม่ใช่อนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นตัวกลาง ROS เป็นโมเลกุลที่ทำปฏิกิริยาทางเคมีที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ ประกอบด้วยเปอร์ออกไซด์ (peroxide) ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide) ไฮดรอกซิลเรดิคอล (hydroxyl radical) ไฮโดรเพอร์ไซด์ (hydroperoxide) และเปอร์รอกุลแรดิคอล (peroxyl radical)อนุมูลอิสระมีปฏิกิริยาสูงและพร้อมที่ทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบของเซลล์หลายอย่าง เช่นไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและ ดีเอ็นเอ สภาวะเครียดออกซิเดชัน หมายถึงการเปลี่ยนแปลงสมดุลที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วระหว่าง ROS และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย (Frei, 1994) อนุมูลอิสระของออกซิเจนนั้นถือว่าเป็นองค์ประกอบสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสรีรวิทยาของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นในระหว่างการ ischemia-reperfusion การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าเนื้อเยื่อมีการสะสมของอนุมูลอิสระภายในไม่กี่นาทีแรกของ reperfusion (Kloner et al., 1989) และเอ็นโดเธเลียมเป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ผลของความเสียหายที่สำคัญมากของอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อ คือปฏิกิริยาลิปิดเปร์ออกซิเดชั่น (lipid peroxidation) (Avci, 2012) Ischemia-reperfusion ที่เกิดขึ้นอาจนำไปสู่การผลิตอนุมูลอิสระและทำให้เกิด lipid peroxidation เพิ่มขึ้นซึ่งจะนำไปสู่การสร้างผลิตภัณฑ์ของ lipid peroxidation นั้นคือ malondialdehyde (MDA) จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าระดับ MDA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มการทดลองที่ได้รับน้ำทับทิมที่มีความเข้มข้นที่ต่างกัน (Turk *et al*., 2008) จากการศึกษาของ Novelli

และคณะ (1997) พบว่าระดับ MDA ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อลาย (gastrocnemius muscle) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจากการ ischemia 2 ชั่วโมงและ reperfusion 4 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ MDA ในเซลล์กล้ามเนื้อลายลดลงเมื่อได้รับวิตามินอีในกลุ่มตัวอย่างหลังจากการได้รับการเหนี่ยวนำแบบ ischemia reperfusion การได้รับน้ำทับทิมและวิตามินอีมีผลช่วยลงระดับ lipid peroxidation และฤทธิ์ต้านออกซิดันในกล้ามเนื้อลายของหนูทดลอง ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการบาดเจ็บจากภาวะ ischemia-reperfusion ทำให้มีระดับ MDA เพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อโครงร่างการเกิด Ischemia reperfusion เป็นสาเหตุของการเพิ่มขึ้นของระดับ MDA ในกลุ่ม control groups (I/R-DDD water and I/R-1% tween 80) กลุ่มที่ได้รับได้รับวิตามินอีและ น้ำทับทิมพันธุ์ไทยทั้งสามความเข้มข้นมีผลต่อการลดลงของระดับ MDA ของเนื้อเยื่อมากกว่ากลุ่มควบคุม (I/R-DDD water and I/R-1% tween 80) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.05$ การค้นพบนี้ชี้ให้เห็นว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสามารถป้องกันการเกิด lipid peroxidation จากการเหนี่ยวนำจากสภาวะ ischemia reperfusion

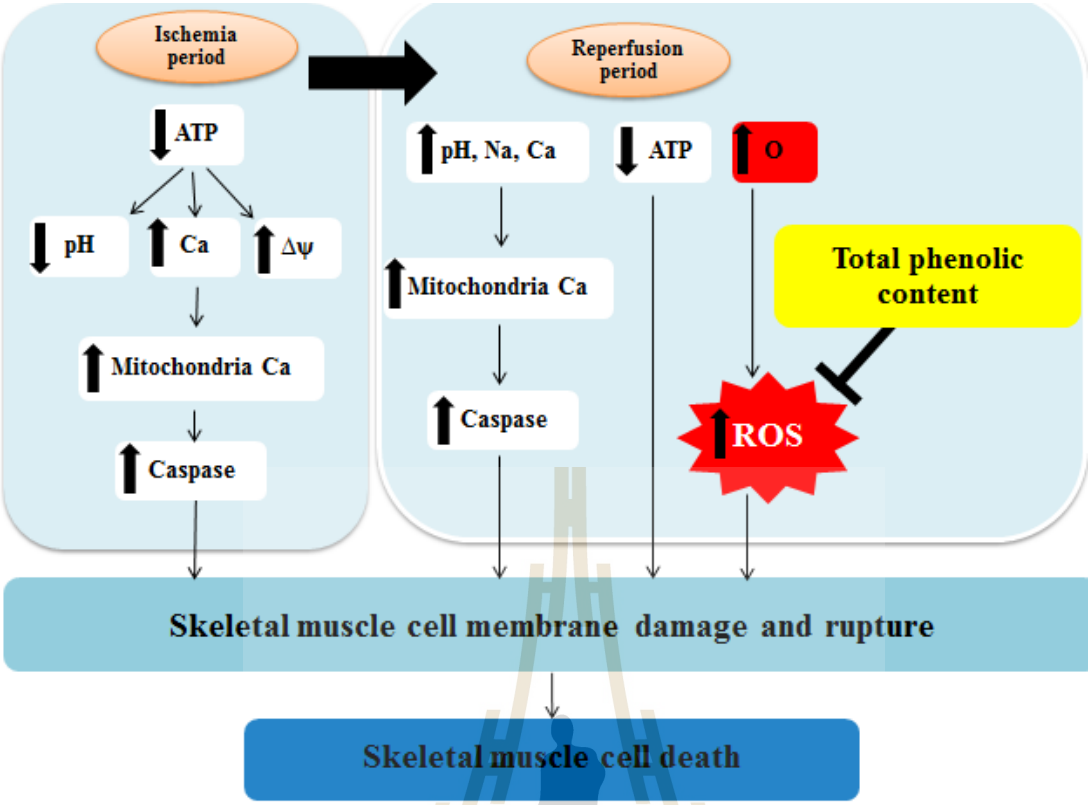
เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ SOD CAT และสารต้านอนุมูลอิสระ GSH มีส่วนช่วยเสริมระบบป้องกันการต้านออกซิเดชัน เอนไซม์สารต้านอนุมูลอิสระ SOD CAT และสารต้านอนุมูลอิสระ GSH ถูกนำมาประเมินเพื่อทดสอบสถานะสารต้านอนุมูลอิสระของเอนไซม์และไม่ใช่เอนไซม์ในกล้ามเนื้อโครงร่างหลังจาก ischemia reperfusion (Xu et al., 2005) จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าระดับ GSH and CAT เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มการทดลองที่ได้รับน้ำทับทิมที่มีความเข้มข้นที่ต่างกัน (Turk *et al*., 2008) นอกจากนี้ยังพบว่าการดื่มน้ำทับทิมเป็นระยะเวลานานมีผลต่อการเพิ่มขึ้นการทำงานของ SOD มีการศึกษาพบว่าวิตามินอีเป็นหนึ่งในสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดที่สามารถป้องกันเซลล์จากสภาวะเครียดออกซิเดชัน การบาดเจ็บของเอ็นโดเธเลียม อาการบวมน้ำของกล้ามเนื้อและการบาดเจ็บที่สำคัญของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าวิตามินอีมีผลต่อการป้องกันการบาดเจ็บของกล้ามเนื้อออกซิเดทีฟหลังจากการเหนี่ยวนำแบบ ischemia reperfusion ในมนุษย์ (Novelli *et al*., 1997) จากการศึกษาในครั้งนี้ได้พิสูจน์แล้วว่ามีการลดลงการทำงานของ SOD CAT ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อลายและมีการลดลงของระดับ GSH ในการเหนี่ยวนำแบบ ischemia reperfusion ในกลุ่มควบคุม (I/R-DDD water and I/R-1% tween 80) เมื่อเปรียบเทียบกับ Sham และกลุ่มที่ได้รับสาร (วิตามินอีและน้ำทับทิมทั้งสามกลุ่ม) นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มที่ได้รับสาร (วิตามินอีและน้ำทับทิมทั้งสามกลุ่ม) มีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ SOD CAT และมีการเพิ่มขึ้นของระดับ GSH ในเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อลายเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ SOD CAT และระดับ GSH ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อเป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสามารถป้องกันสภาวะเครียดจากการเหนี่ยวนำโดย ischemia reperfusion นอกจากนั้นยังพบว่า น้ำทับทิมพันธุ์ไทยทั้งสามความเข้มข้นและวิตามินอีมีความสามารถคล้ายกันในการทำงานต้านอนุมูลอิสระในกล้ามเนื้อโครงร่าง

โดยทั่วไปมักใช้กล้ามเนื้อโซเรียส (Soleus muscle) สำหรับการศึกษาจุลพยาธิวิทยาของกล้ามเนื้อลาย โดยการเหนี่ยวนำ ischemia reperfusion (Karpati *et al*., 1974; Carmo-Araujo *et al*., 2007) เส้นใยกล้ามเนื้อที่มีการหดตัวแบบช้าที่มีการเผาผลาญแบบแอโรบิค (soleus muscle) ได้ถูกเลือกนำมาใช้ศึกษาเกี่ยวกับจุลกายวิภาคศาสตร์เนื้อเยื่อเพราะว่าเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดที่หดตัวช้ามีความไวมากต่อภาวะ ischemia มากกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดที่หดตัวเร็ว (Jennische, Amundson, and Haljame, 1979; Turoczi *et al*., 2014) จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบกว่าการเหนี่ยวนำ ischemia 4 ชั่วโมงในกล้ามเนื้อลายที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดหดตัวช้าเป็นองค์ประกอบพบว่า มีการตาย

ของเซลล์ (necrosis cell) ถึง 21% ในเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างที่มีเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดหดตัวเร็วเป็นองค์ประกอบมีความสำคัญต่อการเกิดตายของเซลล์ (necrosis) มากกว่าเส้นใยกล้ามเนื้อชนิดหดตัวช้า (Petrasek *et al*., 1994) จากการศึกษาจุลพยาธิวิทยาแสดงให้เห็นว่า มีการตายของเซลล์แบบ necrosis ของเซลล์เส้นใยกล้ามเนื้อ soleus ในกลุ่มควบคุม (I/R-DDD water and I/R-1% Tween 80) สูงมากขึ้นกว่ากลุ่ม Sham และ กลุ่มที่ได้รับสาร (วิตามิน E และ น้ำทับทิมพันธุ์ไทยทั้งสามความเข้มข้น) ปริมาณของเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มสูงขึ้นมากกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมระดับปานกลางและระดับสูง จากการศึกษาที่พบคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Takhtfooladi (2014) จากผลการทดลองที่พบน้ำทับทิมพันธุ์ไทยสามารถป้องกันการบาดเจ็บของเซลล์จากสภาวะเครียดออกซิเดชันโดยการเหนี่ยวนำแบบ ischemia reperfusion

จากการศึกษาแสดงให้เห็นถึงผลของการป้องกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ต้านการเปลี่ยนแปลงเมทบอลิซึมเซลล์เซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างในรูปแบบ ischemia reperfusion I/R เป็นสาเหตุของการเกิด ROS และการบาดเจ็บจากการแตกของเยื่อหุ้มเซลล์ และเกิดการตายของเซลล์ในที่สุด น้ำทับทิมพันธุ์ไทยมีผลต่อการป้องกันการต้านสภาวะเครียดออกซิเดชัน และการบาดเจ็บของเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างโดยการเหนี่ยวนำโดย I/R โดยมีผลเทียบเท่ากับวิตามินอี ผลการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vivo*) และในร่างกาย (*in vitro*) แสดงให้เห็นว่าผลของการป้องกันมีความเป็นไปได้มาก เพราะว่าความสามารถในการทำงานจับอนุมูลอิสระของการต้านอนุมูลอิสระที่พบในน้ำทับทิมพันธุ์ไทย ระหว่างช่วงเวลาของการเกิด reperfusion สารต้านอนุมูลอิสระในน้ำทับทิมพันธุ์อาจป้องกันการต้าน ROS ที่เหนี่ยวนำการเกิดการบาดเจ็บของเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่าง และทำให้สภาวะเครียดออกซิเดชันจากการเหนี่ยวนำโดย I/Rให้ดีขึ้น (รูปที่ 11) ผลของกลุ่มที่ได้รับน้ำทับทิมพันธุ์ไทยทั้งสามความเข้มข้นแสดงให้เห็นถึงผลการป้องกันสภาวะเครียดออกซิเดชันแต่ไม่ใช่ทุกกลุ่มจะเป็นกลุ่มที่มีความเข้มข้นที่ดี จากผลการทดลองที่แสดงออกมาพบว่าแนวโน้มที่ความเข้มข้นต่ำและปานกลางของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยจะเป็นความเข้มข้นที่ดี แต่พบว่าที่ความเข้มข้นที่สูงความสามารถลดลงมากกว่าความเข้มข้นอื่นๆ ที่ผลออกมาเป็นเช่นนั้นอาจเป็นไปได้ว่าในน้ำทับทิมที่มีความเข้มข้นสูงอาจจะมีค่าพีเอชค่อนข้างสูงนั้นอาจจะเป็นสาเหตุให้ความสามารถของน้ำทับทิมที่ความเข้มข้นสูงลดลง

สรุปผล จากผลการศึกษาบ่งชี้ว่าน้ำทับทิมพันธุ์ไทยเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลรวมที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย น้ำทับทิมพันธุ์ไทยอาจจะมีผลของการป้องกันการต้านการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อโครงร่างซึ่งเป็นสาเหตุจาก I/R นั้นอาจจะผ่านระบบป้องกันการต้านอนุมูลอิสระจากความเสียหายที่ทำให้เกิดการบาดเจ็บ การศึกษาต้องมีการศึกษาเพื่อยืนยันผลของการป้องกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยต่อสภาวะเครียดออกซิเดชันที่เหนี่ยวนำโดยรูปแบบอื่น เช่นการออกกำลังกายแบบเหนื่อยล้า เป็นต้น



รูปที่ 12 ผลของการป้องกันของน้ำทับทิมพันธุ์ไทยที่ต้านการเปลี่ยนแปลงเมทบอลิซึมเซลล์กล้ามเนื้อโครงร่างในช่วง ischemia reperfusion ระหว่างเกิดช่วง reperfusion สารต้านอนุมูลอิสระจากน้ำทับทิมพันธุ์ไทยอาจจะป้องกัน ROS ซึ่งจะเป็นตัวที่เหนี่ยวนำทำให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ และอาจจะทำให้สภาวะเครียดออกซิเดชันจากการเหนี่ยวนำโดย I/R ดีขึ้น Ca; calcium, Δψ; membrane potential, Mito Ca; mitochondria calcium, Na; sodium, ATP; adenosine triphosphate, และ O; oxygen

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

Ajaikumar, K.B, Asheef, M., Babu, B., & Padikkala, J. (2005). The inhibition of gastric mucosal injury by Punicagranatum L.(pomegranate) methanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology, 96*(1), 171-176.

Anoosh, E., Mojtaba, E., & Fatemeh, S. (2010). Study the effect of juice of two variety of pomegranate on decreasing plasma LDL cholesterol. *Procedia - Social and Behavioral Sciences, 2*(2), 620-623.

Aoi, W., Naito, Y., Takanami, Y., Kawai, Y., Sakuma, K., Ichikawa, H., . . . Yoshikawa, T. (2004). Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. *Free Radical Biology and Medicine, 37*(4), 480-487.

Avci G., Kadioglu H., Sehirli A.O., Bozkurt S., Guclu O., Arslan E., & Muratli S.K. (2012) Curcumin protects against ischemia/reperfusion injury in rat skeletal muscle. J Surg Res. 172(1), e39-46.

Aviram, M., & Dornfeld, L. (2001). Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis, 158*(1), 195-198.

Aviram, M., Dornfeld, L., Kaplan, M., Coleman, R., Gaitini, D., Nitecki, S., . . . Presser, D. (2002). Pomegranate juice flavonoids inhibit LDL oxidation and cardiovascular diseases: studies in atherosclerotic mice and in humans. *Drugs Under Exp Clini Res*, 49-62.

Aviram, M., Rosenblat, M., Gaitini, D., Nitecki, S., Hoffman, A., Dornfeld, L., . . . Liker, H. (2004). Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clinical Nutrition, 23*(3), 423-433.

Bartsch, H., & Nair, J. (2006). Chronic inflammation and oxidative stress in the genesis and perpetuation of cancer: role of lipid peroxidation, DNA damage, and repair. *Langenbeck's Archives of Surgery, 391*(5), 499-510.

Beh, L. K., Zakaria, Z., Beh, B. K., Ho, W. Y., Yeap, S. K., and Alitheen, N. B. M. (2012). Comparison of total phenolic content and antioxidant activities of freeze-dried commercial and fresh fruit juices. *Journal of Medicinal Plants Research*, *6*(48), 5857-5862.

Benzie, I. F., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry, 239*(1), 70-76.

Bhowmik, D., Gopinath, H., Kumar, B. P., S. Duraivel, G, A., & Kumar, K. P. S. (2013). Medicinal Uses of Punica granatum and Its Health Benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1*(5), 28-35.

Braga, L., Shupp, J., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J., Carmo, L., . . . Nascimento, A. (2005). Pomegranate extract inhibits Staphylococcus aureus growth and subsequent enterotoxin production. *Journal of Ethnopharmacology, 96*(1), 335-339.

Carmo-Araújo, E. M., Dal-Pai-Silva, M., Dal-Pai, V., Cecchini, R., & Anjos Ferreira, A. L. (2007). Ischaemia and reperfusion effects on skeletal muscle tissue: morphological and histochemical studies. *International journal of experimental pathology*, *88*(3), 147-154.

Carter, W. O., Bull, C., Bortolon, E., Yang, L., Jesmok, G. J., and Gundel, R. H. (1998). A murine skeletal muscle ischemia-reperfusion injury model: differential pathology in BALB/c and DBA/2N mice. Journal of Applied Physiology, *85*(5), 1676-1683.

Chidambara Murthy, K., Reddy, V. K., Veigas, J. M., & Murthy, U. D. (2004). Study on wound healing activity of Punica granatum peel. *Journal of Medicinal Food, 7*(2), 256-259.

Dong X., Xing Q., Li Y., Han X., & Sun L. (2014). Dexmedetomidine protects against ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle. J Surg Res. 186(1), 240-245.

El Kar, C., Ferchichi, A., Attia, F., & Bouajila, J. (2011). Pomegranate (Punica granatum) Juices: Chemical Composition, Micronutrient Cations, and Antioxidant Capacity. *Journal of Food Science, 76*(6), C795-C800.

Fadavi, A., Barzegar, M., Azizi, M., & Bayat, M. (2005). Note. Physicochemical composition of ten pomegranate cultivars (Punica granatum L.) grown in Iran. *Food Science and Technology International, 11*(2), 113-119.

Frei, B. (1994). Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *The American Journal of Medicine*, *97*(3), S5-S13.

Fuhrman, B., Volkova, N., & Aviram, M. (2005). Pomegranate juice inhibits oxidized LDL uptake and cholesterol biosynthesis in macrophages. *The Journal of Nutritional Biochemistry, 16*(9), 570-576.

Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food chemistry, 48*(10), 4581-4589.

Giknis, M. L. A., and Clifford, C. B. (2008). *Clinical laboratory parameters for Crl: WI (Han) rats,* Massachusetts, Charles River Laboratories International.

Goula, A. M., Tzika, A., and Adamopoulos, K. G. (2014). Kinetic Models of Evaporation and Total Phenolics Degradation during Pomegranate Juice Concentration. *International Journal of Food Engineering*, *10*(3), 383-392.

Guo, C., Wei, J., Yang, J., Xu, J., Pang, W., & Jiang, Y. (2008). Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. *Nutrition Research, 28*(2), 72-77.

Hartman, R. E., Shah, A., Fagan, A. M., Schwetye, K. E., Parsadanian, M., Schulman, R. N., . . . Holtzman, D. M. (2006). Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease, 24*(3), 506-515.

Huang, T. H. W., Peng, G., Kota, B. P., Li, G. Q., Yamahara, J., Roufogalis, B. D., & Li, Y. (2005). Pomegranate flower improves cardiac lipid metabolism in a diabetic rat model: role of lowering circulating lipids. *British Journal of Pharmacology, 145*(6), 767-774.

Jackson, M. (1993). Free radicals and muscle damage. *British medical bulletin, 49*(3), 630-641.

Kaplan, M., Hayek, T., Raz, A., Coleman, R., Dornfeld, L., Vaya, J., & Aviram, M. (2001). Pomegranate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis. *The Journal of nutrition, 131*(8), 2082-2089.

Kloner, R. A., Przyklenk, K., and Whittaker, P. (1989). Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. *Resolved and Unresolved Issues, Circulation*, *80*(5), 1115-1127.

Legua, P., Melgarejo, P., Martinez, J., Martínez, R., & Hernández, F. (2012). Evaluation of Spanish pomegranate juices: organic acids, sugars, and anthocyanins. *International Journal of Food Properties, 15*(3), 481-494.

Li, X., Wasila, H., Liu, L., Yuan, T., Gao, Z., Zhao, B., and Ahmad, I. (2014). Physicochemical characteristics, polyphenol compositions and antioxidant potential of pomegranate juices from 10 Chinese cultivars and the environmental factors analysis. *Food Chemistry*, *175*(1), 575-584.

Mastaloudis, A., Leonard, S. W., & Traber, M. G. (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology and Medicine, 31*(7), 911-922.

Matthaiou, C. M., Goutzourelas, N., Stagos, D., Sarafoglou, E., Jamurtas, A., Koulocheri, S. D., Haroutounianb, S. A., Tsatsakisd, A. M., Kouretas, D. (2014). Pomegranate juice consumption increases GSH levels and reduces lipid and protein oxidation in human blood. *Food and Chemical Toxicology, 73*(0), 1-6.

Minussi, R. C., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L. v., Rotilio, D., Pastore, G. M., & Durán, N. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry, 82*(3), 409-416.

Mousavinejad, G., Emam-Djomeh, Z., Rezaei, K., & Khodaparast, M. H. H. (2009). Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. *Food Chemistry, 115*(4), 1274-1278.

Negi, P., Jayaprakasha, G., & Jena, B. (2003). Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry, 80*(3), 393-397.

Novelli, G. P., Adembri, C., Gandini, E., Orlandini, S. Z., Papucci, L., Formigli, L., Manneschi, L. I., Quattrone, A., Pratesi, C., and Capaccioli, S. (1997). Vitamin E protects human skeletal muscle from damage during surgical ischemia-reperfusion. *The American Journal of Surgery, 173*(3), 206-209.

Poyrazoğlu, E., Gökmen, V., & Artik, N. (2002). Organic Acids and Phenolic Compounds in Pomegranates (*Punica granatum* L.) Grown in Turkey. *Journal of food composition and analysis, 15*(5), 567-575.

Rajasekar, D., Akoh, C. C., Martino, K. G., and MacLean, D. D. (2012). Physico-chemical characteristics of juice extracted by blender and mechanical press from pomegranate cultivars grown in Georgia. *Food Chemistry*, *133*(4), 1383-1393.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine, 26*(9), 1231-1237.

Rosenblat, M., Hayek, T., & Aviram, M. (2006). Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis, 187*(2), 363-371.

Sumner, M. D., Elliott-Eller, M., Weidner, G., Daubenmier, J. J., Chew, M. H., Marlin, R., Raisin, C., Ornish, D. (2005). Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *The American journal of cardiology, 96*(6), 810-814.

Tapias, V., Cannon, J. R., & Greenamyre, J. T. (2014). Pomegranate juice exacerbates oxidative stress and nigrostriatal degeneration in Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging, 35*(5), 1162-1176.

Takhtfooladi, H. A., Takhtfooladi, M. A., Karimi, P., Asl, H. A., and Mobarakeh, S. Z. (2014). Influence of tramadol on ischemia-reperfusion injury of rats' skeletal muscle. *International Journal of Surgery*, *12*(9), 963-968.

Tezcan, F., Gultekin-Ozguven, M., Diken, T., Ozcelik, B., & Erim, F. B. (2009). Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chemistry, 115*(3), 873-877.

Turk, G., Sonmez, M., Aydin, M., Yuce, A., Gur, S., Yuksel, M., and Aksoy, H. (2008). Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clinical Nutrition*, *27*(2), 289-296.

Velioglu, S., Unal, C., and Cemeroglu, B. (1997). Chemical characterization of pomegranate juice. *Fruit Processing*, *8*, 307-310.

Vegara, S., Marti, N., Lorente, J., Coll, L., Streitenberger, S., Valero, M., & Saura, D. (2014). Chemical guide parameters for Punica granatum cv. 'Mollar' fruit juices processed at industrial scale. *Food Chem, 147*, 203-208.

Villano, D., Fernández-Pachón, M., Moyá, M., Troncoso, A., & García-Parrilla, M. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta, 71*(1), 230-235.

Wang, L., Ho, J., Glackin, C., & Martins-Green, M. (2012). Specific Pomegranate Juice Components as Potential Inhibitors of Prostate Cancer Metastasis. *Translational Oncology, 5*(5), 344-IN345.

Wang, W. Z., Fang, X. H., Stephenson, L. L., Zhang, X., Khiabani, K. T., & Zamboni, W. A. (2011). Melatonin attenuates I/R-induced mitochondrial dysfunction in skeletal muscle. *J Surg Res, 171*(1), 108-113.

Xu J., & Li Y. (2012) Effects of salidroside on exhaustive exercise-induced oxidative stress in rats. Mol Med Rep. *6*(5), 1195-1198.

Xu, J., Guo, C. J., Yang, J. J., Wei, J. Y., Li, Y. F., Pang, W., and Cheng, S. (2005). Intervention of antioxidant system function of aged rats by giving fruit juices

วิทยา ปองอมรกุล และสันติ วัฒฐานะ. (2553). พืชสมุนไพร. พรรณไม้เมืองไทย. *1*(1). 48-49.

ประวัตินักวิจัย

- นักวิจัยหลัก

ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รุ่งฤดี ศรีสวัสดิ์

วันเดือนปี 13 ตุลาคม 2511 **สถานที่เกิด** จังหวัดอุดรธานี

การศึกษา/คุณวุฒิ: ปริญญาเอก: 2543 Ph.D. (Physiology), The University of Edinburgh, UK

ปริญญาโท: 2538 วท.ม. (ประสาทวิทยาศาสตร์) มหาวิทยาลัยมหิดล

ปริญญาตรี: 2533 วท.บ. (กายภาพบำบัด) มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ที่อยู่ สาขาวิชาปรีคลินิก สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถ. มหาวิทยาลัย ต.สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

Telephone: 044-224674, Fax: 044-224185, E-mail: srisawat@sut.ac.th

ประวัติการทำงาน:

2559 - ปัจจุบัน: หัวหน้าสาขาวิชาปรีคลินิก สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2556 - 2059: หัวหน้าสาขาวิชาสรีรวิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รักษาการแทนหัวหน้าสาขาวิชากายวิภาคศาสตร์ สาขาวิชาเภสัชวิทยา สาขาวิชาปรสิตวิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2555 - 2556: รักษาการแทนหัวหน้าสาขาวิชากายวิภาคศาสตร์ สาขาวิชาสรีรวิทยา สาขาวิชาเภสัชวิทยา สาขาวิชาปรสิตวิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2548 - ปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาสรีรวิทยา

2543 - 2548: อาจารย์ สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รางวัลและเกียรติประวัติ:

2004: International Brain research organization (IBRO) Fellowship for the 4th IBRO School of Neuroscience, Hong Kong, China.

1989-1994: Postdoctoral researcher: Division of Biomedical and Clinical Laboratory Science, The University of Edinburgh, UK.

1996- 2000: The Royal Thai Government Scholarship for Ph.D. Program at Division of Biomedical and Clinical Laboratory Science, The University of Edinburgh, UK

ผลงานวิจัย:

- Tiamyom K, Sirichaiwetchakoon K, Hengpratom T, Kupittayanant S, Srisawat R, Thaeomor A, Eumkeb G. (2019) The Effects of Cordyceps sinensis (Berk.) Sacc. and Gymnema inodorum (Lour.) Decne. Extracts on Adipogenesis and Lipase Activity *In Vitro*. ***Evid Based Complement Alternat Med.*** 2019 Apr 1;2019:5370473. doi:10.0055/2019/5370473. eCollection 2019.
- Teethaisong, Y., Pimchan, T., Srisawat, R., Hobbs, G. and Eumkeb, G. (2017) Boesenbergia rotunda (L.) Mansf. extract potentiate the antibacterial activity of some β-lactams against β-lactam-resistant Staphylococci. ***Journal of Global Antimicrobial Resistance.*** 2017 Nov 1. pii: S2213-7165(17)30206-0.
- Thinkratok A., Suwannaprapha P., Srisawat R. (2014) Safety assessment of hydroethanolic rambutan rind extract: Acute and sub-chronic toxicity studies. ***Indian Journal of Experimental Biology***. 52 (10): 989-995.
- Supkamonseni N., Thinkratok A., Meksuriyen D., Srisawat R. (2014) Hypolipidemic and hypoglycemic effects of Centella asiatica extract *in vitro* and *in vivo*. **Indian *Journal of Experimental Biology***. 52 (10): 965-971.
- Johnstone LE, **Srisawat R**, Kumarnsit E, Leng G (2005). Hypothalamic expression of NPY mRNA, vasopressin mRNA and CRF mRNA in response to food restriction and central administration of the orexigenic peptide GHRP-6. **Stress** 8: 59-67.
- **Srisawat R**, Bishop VR, Bull PM, Douglas AJ, Russell JA, Ludwig M, Leng G (2004). Regulation of neuronal nitric oxide synthase mRNA expression in the rat magnocellular neurosecretory system. **Neuroscience Letters** 369: 191-196.

- **Srisawat R**, Ludwig M, Bull PM, Douglas AJ, Russell JA, Leng G (2000). Nitric oxide and the oxytocin system in pregnancy. **The Journal of Neuroscience** 20: 6721-6727.
- **Srisawat R**, Srikiatkhachorn A, Kotchabhakdi N, Meksuriyen D (1994). Optimization of ion-pair high performance liquid chromatography for separation of endogenous amines and their metabolites in rat brain tissue. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences** 18: 118-134.

- นักวิจัยร่วม

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) กุสุมา รวมธรรม
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss. Kusuma Ruamthum
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 1-3109-00099-20-3
3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรสาขาวิชาชีวเวชศาสตร์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

70 หมู่ 7 บ้านดอนตูม ต. บ้านยาง
อ. พุทไธสง จ. บุรีรัมย์ 31120
โทรศัพท์ +669-3892-1311
E-mail: Kusuma_24406@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

2552-2555 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์การกีฬา)
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
2556-ปัจจุบัน กำลังศึกษาในระดับปริญญามหาบัณฑิต (ชีวเวชศาสตร์)
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- วิทยาศาสตร์สุขภาพ
- วิทยาศาสตร์การออกกำลังกาย

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1 ผู้ร่วมวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

-

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน

-

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ

-

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี