



# วารสารนเรศวรพะเยา

วิทยาศาสตร์สุขภาพ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

## Naresuan Phayao Journal

Health Science, Science and Technology

# วารสารนเรศวรพะเยา

เป็นวารสารแลกเปลี่ยนและเผยแพร่องค์ความรู้ทางวิชาการทั้งทฤษฎีปฏิบัติ และ ผลการศึกษาวิชาการด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

บทความวิชาการที่ดีมีค่าเป็นผลงานและมุมมองแสดงออกของผู้นิพนธ์/คณะผู้ นิพนธ์ และไม่อาจอ้างเหตุว่าเป็นความเห็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

เจ้าของ  
มหาวิทยาลัยพะเยา

ที่ปรึกษา  
อธิการบดี มหาวิทยาลัยพะเยา  
รองอธิการบดี ฝ่ายวิจัยและประกันคุณภาพ  
ศ.เกียรติคุณ ดร.ไมตรี สุทธิจิตต์

บรรณาธิการ  
ศ.นพ. วีระพล จันทน์ดี

รองบรรณาธิการ  
รศ.ดร.บุษบง จำเริญดงารักษ์  
รศ.ดร.มนัส ทิตยวรรณ  
รศ.ดร.ปราโมทย์ วณิดย์ธนาคม  
รศ.ดร.เชวศักดิ์ รักเป็นไทย  
ผศ.ดร.อัยเรศ เอี่ยมพันธ์

## กองบรรณาธิการ

ศ.ดร.เกตุ กรุดพันธ์ (มช)	ศ.ดร.นพ.คม สุนทรสวรรค์ (มช)
ศ.ดร.นิวัฒน์ มณีกาญจน์ (มช)	ศ.ดร.นิสันต์ สัตยาชัย (มพ)
ศ.นพ.ปัญจะ กุลพงษ์ (มช)	ศ.ดร.มาลิน จุลศิริ (S & J Inter Co.)
ศ.นพ.วชิร คชการ (มม)	ศ.ดร.สุเชษฐ์ ลิขิตเลอสรวง (จพ)
ศ.ดร.สายสมร ลายอง (มช)	ศ.ดร.อานวย ชนนไทย (มช)
ศ.ดร.อานวย ธิฐาพันธ์ (มม)	ศ.ดร.โกสินทร์ จานงไทย (มจร)
รศ.ดร.ธีระพงษ์ ว่องรัตนไพศาล (มช)	รศ.ดร.นวัตร วิศวรุ่งโรจน์ (มพ)
รศ.ดร.นิมิตร มรกต (มช)	รศ.พญ.รัตนา พันธุ์พานิช (มช)
รศ.ดร.สมบูรณ์ อนันตลาโกชัย (มพ)	ผศ.ดร.ประกอบศิริ ภักดีพินิจ (มพ)
ผศ.ดร.ยุพธนา หมั่นดี (มพ)	ผศ.ดร.สุชาติ แยมเม่น (มน)
ผศ.ดร.เอกชัย ชูเกียรติโรจน์ (มฟล)	ดร.สุพล ดารงกิตติกุล (มพ)

เลขานุการ  
นายชำนาญ แสงแก้ว

ผู้ช่วยเลขานุการ  
นางสาวรัชฎาภรณ์ แก้วสืบ

## เทคโนโลยีสารสนเทศ

นายชัยรัช บุญยัง    นายพลรบ สวัสดิ์    นายวุฒิภัทร ศรีสมบุรณ์

## สำนักงานกองบรรณาธิการ

กองบริหารงานวิจัยและประกันคุณภาพการศึกษา  
มหาวิทยาลัยพะเยา ตำบลแม่กา อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา 56000  
โทรศัพท์ 0-5446-6666 ต่อ 1047, 1048 โทรสาร 0-5446-6714  
E-mail : j.nu.phayao@gmail.com  
Website : <http://journal.up.ac.th>

## ที่ปรึกษากองบรรณาธิการ

ศ.ดร.ศักดิ์ดา จงแก้ววัฒนา  
ศ.ดร.สมนึก บุญเกิด  
ศ.ดร.อรรณพ มโนสร้อย  
รศ.ดร.เอก ไชยสวัสดิ์  
ผศ.ดร.ไชยวัฒน์ รุ่งเรืองศรี  
Prof. Dr. Jeffrey C. Miller (USA)  
Prof. Dr. Hirota Fujiki (Japan)  
Prof. Dr. Michael Burgett (USA)  
Prof. Dr. Young Joon Surh (Korea)

## ผู้ทรงคุณวุฒิทบทวนประจำฉบับ

ศ.นพ.วีระพล จันทน์ดี (มพ)  
รศ.ดร.เสมอ ถาน้อย (มน)  
ผศ.ดร.หทัยรัตน์ เครือไวยวรรณ (มน)  
ดร. ศิริวรรณ ณะวงษ์ (สช)  
ศ.ดร.ไมตรี สุทธิจิตต์ (มพ)  
ผศ.ดร.ไชยวัฒน์ ไชยสุต (มช)  
ผศ.ดร.วัลยา ทัศนพงศ์ธรรม (มศว)  
ผศ.ดร.ณัฐกานต์ จิรัชญ์ (มช)  
ดร.กานต์ วงศาริยะ (สจล)  
ดร.พนิดา ศุภรัตน์วณิช (มพ)  
ผศ.ดร.พิเศษ ตู่กลาง (มร.นม)  
ดร.พิชัย จำนงค์ประโคน (มน)  
ผศ.ดร.บรรจบ สุขประภาภรณ์ (มร.ชร)  
ผศ.ดร.อรอนพ ทศนอุดม (รณค.ล้านนา)

บทความวิชาการทุกเรื่อง  
ผ่านการประเมินค่าโดยเพื่อนร่วมวิชาชีพ  
ตรงสาขาวิชาอย่างน้อยสองคน

## ผู้พิมพ์

ครองช้าง พรินท์ติ้ง, เชียงใหม่  
ความถี่การตีพิมพ์  
ปีละ 3 ฉบับ  
การบอกรับเป็นสมาชิก  
สมาชิก 1 ปี 200 บาท

## สารบัญ

## บทบรรณาธิการ

เวชศาสตร์ผู้สูงอายุแบบองค์รวม	1-3
วีระพล จันทร์तीय	

## บทความวิจัย

<b>Effect of <i>Boesenbergia rotunda</i> (L.) Mansf. on seminiferous epithelial cells ratio and sperm count in mature male rats</b>	4-11
จรีพร อภัย ไพรวรรณ สุตวรร์	
<b>Development of germinated-black glutinous rice-based milk with probiotic bacteria</b>	12-16
อิสรา วัฒนนภาเกษม ภาณุชนารถ จันท์แจ่ม พัตรเพ็ญ เพ็ญจำรัส	
<b>Polyphenols and antioxidant capacities of pulp and seed extracts of <i>Muntingia calabura</i> L., <i>Malpighia glabra</i> L. and <i>Ampelocissus martini</i> Planch</b>	17-22
นริรัตน์ สุวจุสวรรณ พชรวิวรรณ จันทิพย์ ชัชวิน เพชรเลิศ	
<b><i>Etlingera pavieana</i> rhizome extract decreases oxidative stress and activates eNOS activity via stimulation of Akt phosphorylation in human endothelial cells</b>	23-28
กล่าวขวัญ ศรีสุข ศรีนพร อุดมพงษ์ เพชรรัตน์ ไสว จิตติพร ทองเย็น	
<b>Anti-<i>Helicobacter pylori</i> activity of Thai local vegetables</b>	29-32
ชาญชัย ศรีปากกร ธนิษฐา ฉัตรสุวรรณ จตุรงค์ ประเทืองเดชกุล วิภา นุกูลการ ปัทมพรรณ โลมะรัตน์ วัฒน ศรีสุข	
<b>An analysis of conceptual smart residence model requirement for ASEAN economic community</b>	33-36
อัจฉรา ชีวะเกตุ วัฒนพงษ์ รัชวิเชียร ประพิธาร์ ธนารักษ์ วชระ วงศ์ปัญญา	
<b>ผลของการออกกำลังกายชนิดต่อนอความอ่อนตัวและคุณภาพชีวิตในผู้สูงอายุ</b>	37-40
ปราณี ใจกาศ เพ็ญประภา ศิริโรจน์ รัตนา พันธุ์พานิช	
<b>คำแนะนำสำหรับผู้พิมพ์</b>	I

## Table of Contents

### Editorial

<b>Holistic geriatrics</b>	1-3
Verapol Chandeying	

### Research Article

<b>Effect of <i>Boesenbergia rotunda</i> (L.) Mansf. on seminiferous epithelial cells ratio and sperm count in mature male rats</b>	4-11
Jureeponr U-pathi, Paiwan Sudwan	
<b>Development of germinated-black glutinous rice-based milk with probiotic bacteria</b>	12-16
Isara Wattananapakasem, Panuchanard Chancham, Patpen Penjumras	
<b>Polyphenols and antioxidant capacities of pulp and seed extracts of <i>Muntingia calabura</i> L., <i>Malpighia glabra</i> L. and <i>Ampelocissus martini</i> Planch</b>	17-22
Natirat Suvajasuwan, Patchareewan Juntip, Chatchawin Petchlert	
<b><i>Etligeria pavieana</i> rhizome extract decreases oxidative stress and activates eNOS activity via stimulation of Akt phosphorylation in human endothelial cells</b>	23-28
Klaokwan Srisook, Sarinporn Udompong, Petchrat Sawai, Thitiporn Thongyen	
<b>Anti-<i>Helicobacter pylori</i> activity of Thai local vegetables</b>	29-32
Chanchai Sripakorn, Tanittha Chatsuwan, Jaturong Pratuangdejkul, Veena Nukoolkarn, Pattamapan Lomarat, Vimol Srisukh	
<b>An analysis of conceptual smart residence model requirement for ASEAN economic community</b>	33-36
Achara Jivacate, Wattanapong Rakwichian, Prapita Thanarak, Watchara Wongpanyo	
<b>Effects of ascetic exercise on flexibility and quality of life in elderly</b>	37-40
Pranee Jaikat, Penprapa Siviroj, Ratana Panpanit	
<b>Instruction for author</b>	i

## บทบรรณาธิการ (Editorial)

เวชศาสตร์ผู้สูงอายุแบบองค์รวม  
(holistic geriatrics)

การจัดการดูแลผู้สูงอายุเป็นกระบวนการของการวางแผนและความร่วมมือดูแลผู้สูงอายุ ผู้มีความบกพร่องทางกายภาพ และ/หรือ ทางจิตใจ เป้าประสงค์เพื่อ

- เชื่อมต่อกับความจำเป็นของการดูแลระยะยาว
- ปรับปรุงคุณภาพชีวิตให้ดีขึ้น
- คงไว้ซึ่งการพึ่งพาตนเองให้ยาวนาน เท่าที่เป็นได้

การดำเนินการแบบผสมผสานต่อผู้สูงอายุและสมาชิกในครอบครัว เป็นการจัดการอิงร่วมจัดการของชุมชนกับอาสาสมัคร เกี่ยวกับ

- ที่อยู่อาศัย (housing)
- การบริการดูแลที่บ้าน (home care service)
- การบริการด้านโภชนาการ (nutritional service)
- ช่วยเหลือกิจกรรมใช้ชีวิตประจำวัน (activity of daily living)
- แผนงานขัดเกลาทางสังคม (socialization program)
- การวางแผนทางการเงินและกฎหมาย (financial and legal planning)
- การวางแผนการดูแล (care plan) ปรับให้เข้ากับ (tailor) สภาพการณ์เฉพาะหลังจากการประเมินอย่างครอบคลุม (comprehensive assessment) และการดัดแปลง (modify) การติดตาม (monitor) อย่างต่อเนื่อง

การดูแลยังครอบคลุมถึงการให้ความช่วยเหลือปัญหาสุขภาพและโรคที่พบบ่อย 16 กลุ่ม ด้วยทีมสหสาขาวิชาชีพ เกี่ยวกับ

1. กระดูกและกล้ามเนื้อ (musculoskeletal) ได้แก่ ข้อเสื่อม (osteoarthritis) เกาต์ (gout) สูญเสียมวลกล้ามเนื้อ (loss of muscle mass) กระดูกหัก (fracture)
2. ฮอร์โมน (hormone) ได้แก่ เบาหวาน (diabetes) วัยหมดระดู (menopause) ไทรอยด์ (thyroid) คอเลสเตอรอลสูง (high blood cholesterol) การเผาผลาญ (สัปดาห์) ของร่างกายทุกระบบเชิงช้า (slow overall metabolism)
3. ประสาท ได้แก่ สมองเสื่อม (dementia) โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และสมองเสื่อมชนิดอื่น] โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) การมองเห็นแย่ (poor vision) บกพร่องการได้ยิน (hearing impairment) ปัญหาการทรงตัวสมดุล (balance problem) บกพร่องการรับรู้ (cognitive impairment)
4. การมองเห็น (visual) ได้แก่ จุดภาพชัดเสื่อมสภาพ (macular degeneration) ต้อหิน (glaucoma) ต้อกระจก (cataract) เบาหวานและความดันโลหิตเกี่ยวกับโรคตา
5. หัวใจและหลอดเลือด ได้แก่ หัวใจวาย (heart attack) หัวใจล้มเหลวเลือดคั่ง (congestive heart failure) จังหวะหัวใจไม่สม่ำเสมอ (irregular heart rhythm – atrial fibrillation) ความดันโลหิตสูง (high blood pressure – hypertension, atherosclerosis หลอดเลือดแคบและแข็ง) โรคหลอดเลือดส่วนปลาย (peripheral artery disease การไหลเวียนเลือดไม่ดี อันเป็นผลจากหลอดเลือดตีบ)

6. ปอด ได้แก่ โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง (chronic obstructive pulmonary disease) สูญเสียปริมาตรปอด (loss of lung volume)
7. ไต ได้แก่ หน้าที่การทำงานของไตไม่ดี (poor kidney function จากโรคไต จากเบาหวานเนิ่นนาน และความดันโลหิตสูง)
8. ผิวหนังและผม ได้แก่ ผมร่วง (hair loss) ผิวหนังแห้ง (dry skin) คัน (itching) การติดเชื้อ (infection)
9. มะเร็ง ได้แก่ ต่อมลูกหมาก (prostate) ลำไส้ใหญ่ (colon) ปอด (lung) เต้านม (breast) กระเพาะปัสสาวะ (bladder) รังไข่ (ovary) สมอง (brain) ตับอ่อน (pancreas)
10. ไชกระดูกและระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ ไม่สามารถผลิตเซลล์เม็ดเลือดแดงพอเพียง (anemia, myelodysplasia)
11. กระเพาะอาหารและลำไส้ ได้แก่ ผลกระเพาะอาหาร (stomach ulcer) โรคถุงผนังลำไส้อักเสบ (diverticulosis) ลำไส้ใหญ่อักเสบ (colon inflammation) กลืนลำบาก (swallowing difficulty - dysphagia) ท้องผูก (constipation) กลั้นอุจจาระไม่ได้ (fecal incontinence) ริดสีดวงทวารหนัก (hemorrhoids)
12. ปัสสาวะ ได้แก่ กลั้นอุจจาระไม่ได้ (urinary incontinence) ปวดปัสสาวะต้องรีบเข้าห้องน้ำทันที (urinary urgency) ปัสสาวะลำบาก (difficulty urinating)
13. ปากและฟัน ได้แก่ โรคเหงือก (gum disease) ปากแห้ง (dry mouth) สูญเสียฟัน (loss of teeth) ฟันปลอมเข้าที่ไม่ดี (poorly fitting denture)
14. การติดเชื้อ ได้แก่ ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infection) ปอดอักเสบติดเชื้อผิวหนัง (skin infection) ฐสวัดตามแนวเส้นประสาท (shingles) ลำไส้ใหญ่ติดเชื้อ (diverticulitis, colitis)
15. จิตเวช (psychiatric) ได้แก่ ซึมเศร้า (depression) กังวล (anxiety) รบกวนการนอน (sleep interfering) นอนไม่หลับ (insomnia)
16. ปัญหาทั่วไป ได้แก่
  - เหนื่อยล้า (fatigue –adrenal)
  - สภาวะไม่ดี (deconditioning – เป็นกระบวนการซับซ้อนของการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาหลังจากไม่กระตือรือร้น (inactivity) นอนเตียง (bed rest)
  - รูปแบบการดำเนินชีวิตนั่งนอนมาก (sedentary lifestyle) เป็นผลให้สูญเสียการทำหน้าที่ในด้านสภาวะจิตใจ (mental status), ระดับการข่มใจ (incontinent), และความสามารถที่จะทำกิจกรรมของชีวิตประจำวันให้สำเร็จ (accomplish activities of daily living)
  - การลืม (forgetfulness)
  - ผลไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา (medication side effect)
  - ความอยากอาหารลดลง (diminished appetite)
  - น้ำหนักลด (weight loss)
  - ตกหล่น (fall)

ทีมบุคลากรผู้ดูแลประกอบด้วย

1. แพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะสาขาที่เกี่ยวข้อง
2. ทันตแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะสาขาที่เกี่ยวข้อง
3. ผู้จัดการดูแล/ผู้ดูแล (geriatric care manager/provider) ผู้ได้รับการอบรมเกี่ยวกับ
  - การพยาบาล
  - การบริการสังคม

- ชราภาพวิทยา (gerontology) หรือการบริการสุขภาพอื่น
- ความรู้เกี่ยวกับค่าใช้จ่าย (cost) คุณภาพ (quality) และการบริการความพร้อมการให้บริการในชุมชน (availability of services in the community)
- การประเมินการวางแผนการดูแล เพื่อระบุความจำเป็น ปัญหา และการช่วยเหลือที่เหมาะสม
- การปฏิบัติแบบหลายมิติ (multidimensional approach)

การบริการประกอบด้วยการประเมินทั่วไปและเฉพาะ เพื่อจัดการปัญหาและดูแลโรค

### การประเมินทั่วไป

1. ใช้เวลา 2 ถึง 4 ชั่วโมง และการเยี่ยมประเมินผู้ป่วยและสมาชิกในครอบครัว 2 ถึง 3 ครั้ง (การประเมินรวบรวมจากการประเมินแต่ละบุคคล)
2. ข้อมูลทั่วไปประกอบด้วย ข้อมูลประชากร ประวัติสุขภาพ ประวัติสังคม ประวัติการเงินและกฎหมาย
3. ข้อมูลประวัติย่อด้านการแพทย์ (medication profile assessment)
4. การประเมินกิจกรรมการใช้ชีวิตประจำวัน (activity of daily living – ADL) และการประเมินการใช้อุปกรณ์ใช้สอยในกิจกรรมการใช้ชีวิตประจำวัน (instrumental activity of daily living – IADL)
5. การประเมินความเสี่ยงเกี่ยวกับการตกหกล้ม (fall risk reduction)
6. การประเมินความปลอดภัยในบ้าน (home safety assessment)
7. การประเมินด้านโภชนาการ (nutritional assessment)
8. การประเมินภาวะซึมเศร้า (depression assessment)
9. การประเมินอาการปวด (pain management)
10. การตรวจสอบสภาวะจิตใจแบบย่อ (mini mental state exam)
11. การประเมินการรับรู้ (cognitive assessment)
12. การประเมินความสมดุลร่างกาย (balance management)
13. การประเมินความสามารถในการเดิน (gait assessment)

### การประเมินเฉพาะ

1. การตรวจสัญญาณชีพ (vital sign) เช่น อุณหภูมิ (temperature) ชีพจร (pulse) หายใจ (respiration) ความดันโลหิต (blood pressure)
2. ความอิ่มตัวของออกซิเจน (oxygen saturation)
3. ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร (fasting blood sugar) ระดับน้ำตาลในเลือดสุ่มตรวจ (random blood sugar)
4. การประเมินทางกายภาพ (physical assessment) เกี่ยวกับ
  - หัวใจและปอด (cardiopulmonary)
  - กระเพาะและลำไส้ (gastrointestinal) กล้ามเนื้อและกระดูก (musculoskeletal) ทางเดินปัสสาวะและอวัยวะสืบพันธุ์ (genitourinary)
  - ตา หู จมูก คอ (eye, ear, nose, throat) ผิวหนัง (integument)
  - ตรวจดูรูยางค์ล่าง (lower extremity inspection)
  - การประเมินทางประสาทวิทยา (neuro assessment)
  - การประเมินการปฏิบัติตามการใช้ยา (medication complication assessment)

ศ.นพ.วีระพล จันทรดียิ่ง

บรรณาธิการ

## Research Article

**Effect of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. on seminiferous epithelial cells ratio and sperm count in mature male rats**Jureeporn U-pathi<sup>1</sup>, Paiwan Sudwan<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of General Education, Kanchanabhisek Institute of Medical and Public Health Technology, Nonthaburi Province 11150

<sup>2</sup> Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai Province 50200

\* Correspondence to: paiwan.sudwan@cmu.ac.th

Naresuan Phayao J. 2018;11(1):4-11.

**Abstract**

The study was aimed to determine the seminiferous epithelial cell ratios in mature male rats treated with *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. or Krachai (name in Thai). Thirty-two mature male Wistar rats were equally divided into four groups: the control group received 1 mL/day of distilled water while the three experimental groups were orally given *B. rotunda* juice of 60, 120 and 600 mg/kg BW daily for 30 days. The testicular weight, sperm count, and stage VII-VIII per of the seminiferous epithelium cycle were counted to calculate the cell ratios of spermatogenic cell type to Sertoli cell. The results showed that no significant change in testicular weight or the ratios of round spermatids to Sertoli cell. In comparison with the control, the 120 mg/kg BW group demonstrated the significant changes in type A spermatogonia ratio, pachytene spermatocytes, total number of germ cells to Sertoli cell, as well as Sertoli cell index (SEI). While, 600 mg/kg BW group had significantly increased ( $p < 0.05$ ) in the sperm count, as well as 120 and 600 mg/Kg BW group in the spermatozoa-Sertoli index (SSEI). The *B. rotunda* juice has probably increased reproductive parameter and sperm quantity in mature male rats.

**Keywords:** *Boesenbergia rotunda*, seminiferous epithelial cells ratio, Sertoli cell, sperm count, male rat

**Introduction**

The common health problems for older men are erectile dysfunction (ED), prostate disease, and lower urinary tract problems. [1] In particular, ED has been proposed as an indicator of men's health and was found in 10 to 20% of men in many countries, the problem affects the quality of their life and well-being. [2] There are several methods to improve ED such as the use of medical, psychological and pharmacological therapies. [3] For hundreds of years, the folk medicines have been widely used as food ingredients, dietary supplements, and sexual enhancer for males. [4] Some of these plants were used to treat and relieve the illness in various forms such as extractions and juices. Herbs had been used for therapeutic and health promotion at local places for a long time by pursuing the ancient herbal recipes, books, or hearsay. [5]



In Thailand, several medicinal plants have been utilized in daily living for a long time. They applied via food ingredient, juice, alcoholic drink, and traditional medicine. *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. is a member of the Zingiberaceae (ginger family), known as Krachai in Thai. [6] It is indigenous plants of India, Sri Lanka, southern China, and Southeast Asia countries. [7] The fresh rhizome traditionally used as a food ingredient according to aroma characteristics, as well as a traditional herb for alleviation of colic disorders, oral diseases, abdominal pain, anti-flatulent, leukorrhea, health promotion, and even herbal aphrodisiacs. [8]

In 2008, *B. rotunda* was approved as traditional herbal medical prescription by the National List of Essential Medicines (NLEM). [9] Several medicinal plants are used for aphrodisiacs; such as *Kaempferia parviflora* or Krachaidum, [4,10] and *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali). [11,12] *Butea Superba* and *B. rotunda* extracts had been demonstrated an increase tendency on seminiferous tubules diameter, testis, and seminal vesicle weight. [13,14] Beside, *B. rotunda* juice might enhance the progressive movement of the sperm motility, normal sperm morphology, and stages VII to VIII of the seminiferous epithelium cycle in mature male rats. [15]

The study was aimed to determine the seminiferous epithelial cell ratios among the assigned male rats with *B. rotunda* juice.

## Material and Method

### Preparation of *B. rotunda* juice

The fresh rhizomes of *B. rotunda* had been procured from Chiang Mai province, Thailand. The specimens were weighed, washed with water, air-dried, cut into small pieces, put in the blender, and finally filtered. The fresh juice was kept safely 4°C refrigerator at for three days, and need the rearrangement.

### Animal and assignment

The study protocol was approved by Animal Ethics Committee, Faculty of Medicine, Chiang Mai University (Certificate No.11/2551). Thirty-two male Wistar rats (*Rattus norvegicus*), 6 weeks old, were purchased from the National Laboratory Animal Center. The rats were housed in a cage for two or three, well ventilated and air-conditioned (12 h: 12 h, light: dark cycle; at  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). After 1-week acclimatization, the animals were fed with commercial food pellets (CP. No. 082) with tap water ad libitum. Each experimental group was passed a feeding needle down the esophagus to deliver study substance of 60, 120 and 600 mg/kg BW once daily for 30 days, while the control group was received 1 mL distilled water.

### Sperm count and seminiferous epithelium examination

Thirty days after the animals were anesthetized and sacrificed to assess the parameters.

The right cauda epididymis was cut into small pieces, and dispersed in 10 mL of 0.9% normal saline to obtained the suspension, and transfer to Neubauer chamber for sperm counting.

The testes were immediately fixed in 4% paraformaldehyde, dehydrated in ethanol, and finally embedded in paraffin wax. The section's thickness was around 4  $\mu\text{m}$  thick, and stained with periodic acid-Schiff's reaction (PAS) and counter-stained with hematoxylin on the glass slide.

The stages VII and VIII of seminiferous epithelium cycle were identified based on the development of the acrosome and the morphology of nuclear development of spermatid and sperm. [16] The sampling cycles at this stage consisted of 10 rounds or nearly round seminiferous tubules from each animal, [17] and taking digital photomicrographs under the light microscope (Olympus AX70).

The total number of spermatogenic cells and Sertoli cells were counted with Image tool processing, and analysis program version 3.0. Spermatogenic cell nuclei were counted according to the following: dark and pale type A spermatogonia, pachytene spermatocytes, and round spermatids. Moreover, the total numbers of Sertoli cells were counted from their nuclei per seminiferous tubule cross-section.

The ratios of each spermatogenic cell types: type A spermatogonia, pachytene spermatocytes, and round spermatids per Sertoli cell were obtained. [18,19] The pachytene primary spermatocytes/type A spermatogonia estimated the coefficient of efficiency of the mitosis of spermatogonia.

The round spermatids/type A spermatogonia was used to obtain the overall rate of spermatogenesis. The round spermatids/pachytene spermatocytes were used to get the speed of germ cell loss during meiosis (meiotic index). Round spermatids/Sertoli cell nuclei were utilized to estimate the Sertoli efficiency; total number of germ cells/Sertoli cell nuclei, to obtain the total support capacity of each Sertoli cell. In addition, the Sertoli cell index (SEI) was determined as the number of Sertoli cells per 100 spermatogenic cells as an index of spermatogenic activity and tubular germ potential. The spermatogenic index (SI) was determined as the number of spermatozoa per 100 spermatogenic cells as an index of spermatogenic activity, and the

spermatozoa-Sertoli index (SSEI) was calculated as the ratio of spermatozoa to Sertoli cells.

### Statistical analysis

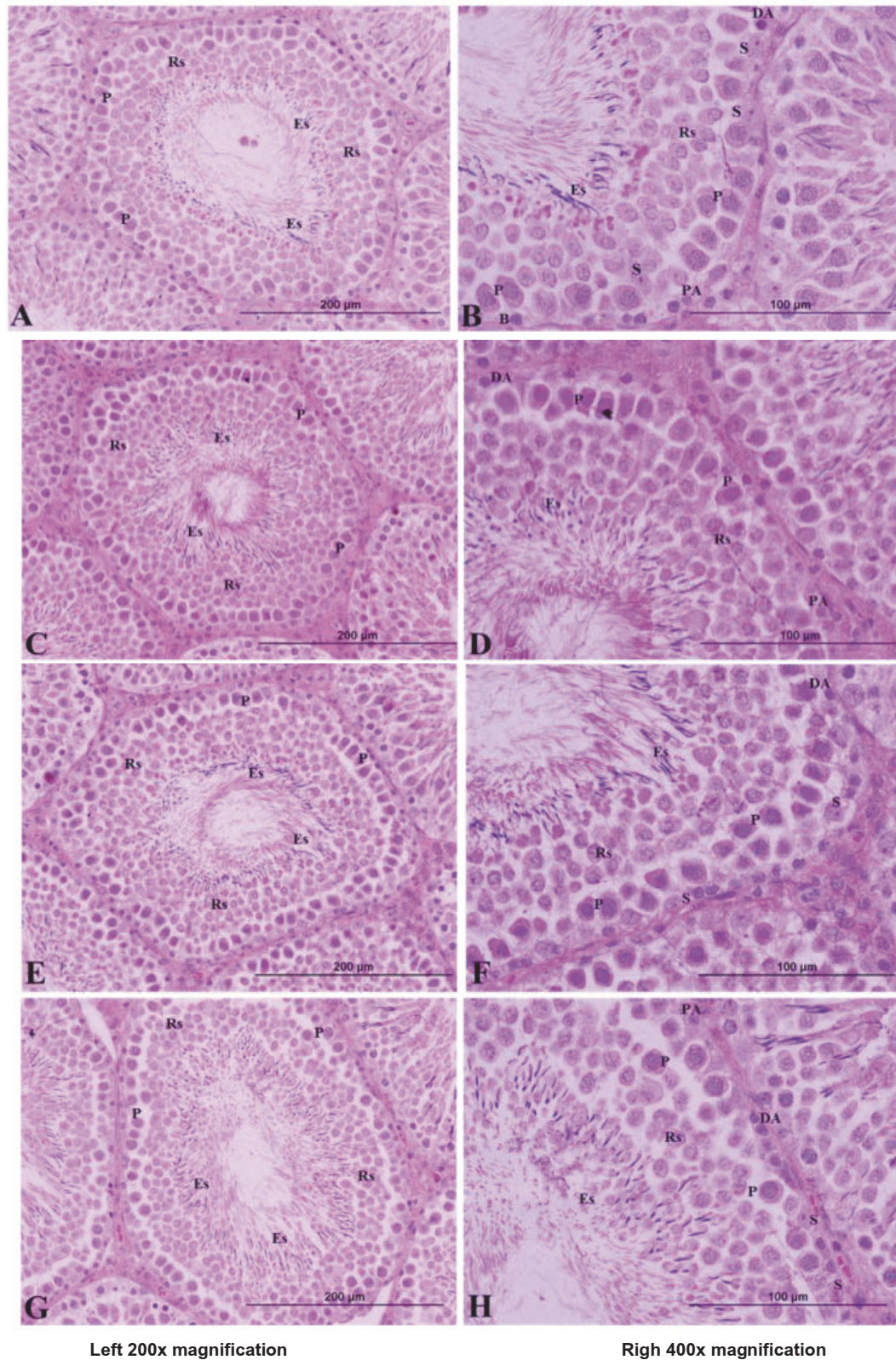
All parameters are expressed as mean (standard deviation, SD). A comparison of statistically significant increase between experimental groups and the control group was calculated, using One-Way ANOVA at  $p < 0.05$  level. It was followed by the least significant difference test for multiple comparisons, and the Kruskal-Wallis and the Mann-Whitney Tests in case of non-homogeneity variances. The SPSS version 17.0 was used for all analyses.

## Results

There were no statistical difference of the body and testicular weight among the four groups of rats. The stages VII and VIII of seminiferous epithelium cycle among with normal cytoarchitecture of the seminiferous tubules and without histopathological alterations were demonstrated. (**Figure 1**)

The ratios of each spermatogenic cell type (type A spermatogonia, pachytene spermatocytes, and round spermatids) per Sertoli cell implied to the significant changes in the ratios of type A spermatogonia, pachytene spermatocytes, total number of germ cells per Sertoli cell and SEI among 120 mg/kg BW group. (**Table 1**)

The mean (SD) of the sperm count was significantly increased in 600 mg/kg BW group, and SSEI were significantly different among 120 and 600 mg/kg BW groups, compared with the control. ( $p < 0.05$ ) (**Table 2**)



**Fig 1** The stages VII and VIII of seminiferous epithelium: A & B) control group; C & D), E & F), and G & H) 60, 120 and 600 mg/kg BW group. Left column (A, C, E, G), and right column (B, D, F, H) showed magnification of 200x and 400x, respectively

**Legend:** DA=dark type A spermatogonia, PA=pale type A spermatogonia, B=type B spermatogonia, P=pachytene spermatocyte, Rs=round spermatids, Es=elongate spermatids, S=Sertoli cells



**Table 1** Distribution of various *B. rotunda* juice concentrations and seminiferous epithelial cell ratios and Sertoli cell index

Cell ratios; mean (SD)	Control	60 mg/kg BW	120 mg/kg BW	600 mg/kg BW
Type A spermatogonia: Sertoli cell	1.73 (0.24) <sup>a</sup>	1.98 (0.2) <sup>ab</sup>	2.20 (0.34) <sup>b</sup>	2.08 (0.27) <sup>ab</sup>
Pachytene spermatocytes: Sertoli cell	1.81 (0.31) <sup>a</sup>	2.07 (0.33) <sup>ab</sup>	2.38 (0.44) <sup>b</sup>	2.07 (0.36) <sup>ab</sup>
Round spermatids: Sertoli cell	8.96 (1.17)	9.31 (0.83)	10.45 (1.63)	9.55 (0.85)
Total number of germ cells: Sertoli cell	12.51 (1.44) <sup>a</sup>	13.36 (1.04) <sup>ab</sup>	15.04 (2.3) <sup>b</sup>	13.70 (1.33) <sup>ab</sup>
Pachytene spermatocytes: Type A spermatogonia	2.66 (0.98)	2.66 (0.92)	2.56 (0.58)	2.32 (0.83)
Round spermatids: Type A spermatogonia	13.00 (4.02)	11.74 (2.74)	11.15 (2.00)	10.63 (3.10)
Round spermatids: Pachytene spermatocytes	5.00 (0.56)	4.58 (0.73)	4.43 (0.54)	4.72 (0.76)
Sertoli cell index (SEI)	8.08 (0.87) <sup>a</sup>	7.53 (0.62) <sup>ab</sup>	6.78 (1.02) <sup>b</sup>	7.36 (0.75) <sup>ab</sup>

<sup>a, b</sup> Different letters indicate significant differences between groups within each row ( $p < 0.05$ )

**Table 2** Distribution of various *B. rotunda* juice concentration and testicular weight, sperm count, and testicular cytological indices

Cell ratios; mean (SD)	Control	60 mg/kg BW	120 mg/kg BW	600 mg/kg BW
Testicular weight (g)	1.05 (0.05)	0.97 (0.05)	1.03 (0.05)	1.02 (0.10)
Sperm count (million/mL)	34.56 (4.48) <sup>a</sup>	46.34 (1.47) <sup>ab</sup>	50.95 (1.94) <sup>ab</sup>	51.18 (5.25) <sup>b</sup>
Spermatic index (SI) ( $\times 10^6$ )	1.38 (0.20)	1.45 (0.74)	1.72 (0.72)	1.87 (0.27)
Spermatozoa-Sertoli index (SSEI) ( $\times 10^5$ )	1.71 (0.15) <sup>a</sup>	1.93 (1.00) <sup>ab</sup>	2.47 (0.76) <sup>b</sup>	2.55 (0.38) <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Different letters indicate significant differences between groups within each row ( $p < 0.05$ )

## Discussion

The 120 mg/kg BW group had significant changing ratios in type A spermatogonia, pachytene spermatocyte, total number of germ cells per Sertoli cell and SEI, as well as the 600 mg/kg BW group in the sperm count, and 120, 600 mg/kg BE in SSEI. The increasing number of type A spermatogonia was harmonized with the number of pachytene spermatocytes and total number of germ cells. As type A spermatogonia have been induced by testosterone, mitosis proliferating and rising to type B spermatogonia, and related to the elevated numbers of pachytene spermatocytes, initiating meiosis I and becoming primary spermatocytes. [20,21] Then the primary spermatocytes produce smaller cells (secondary spermatocytes) which reduce in the chromosome

number. Secondary spermatocytes quickly undergo second meiotic division and produce two haploid cells (spermatid). Finally, spermatids are transformed into spermatozoa, occurring during spermiogenesis. [20-22] Thus *B. rotunda* juice might presume to have its significant spermatogenesis effect on sperm production.

The number of germ cells were determined by the total support capacity of each Sertoli cell in seminiferous tubules, [18,19] and each Sertoli cell could support a limited number of germ cells and the number of Sertoli cells are constant in the adult animal. [23,24] According to increasing number of germ cell, it might be postulated that the study substance may play the essential role in supporting Sertoli cells function. In addition, the

seminiferous epithelial cell ratios and cell indices (SEI, SI and SSEI) may be useful for quantitating spermatogenesis, as well as the differential count of spermatogenic cell and cell indices. [25]

The SEI (index of spermatogenic activity and tubular germ potential) was varied and highest among mammalian species during breeding season, [26-28] and SSEI (ratio of spermatozoa to Sertoli cells) was increased to support the germ cell development. [20,28] This might be caused by the effect of the study compound toward condensed lysosomes in Sertoli cells, counteracting the increasing of SEI and SSEI such as *K. Parviflora* study. [29]

In conclusion, *B. rotunda* juice in optimal proportion might effectively increase the ratio of type A spermatogonia, pachytene spermatocytes, total number of germ cells, sperm count, SEI, and SSEI in mature male rats.

### Acknowledgment

The authors would like to thank the Thailand Research Fund (TRF) MRG5180115, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, and Kanchanabhisek Institute of Medical and Public Health Technology Research Fund, Nonthaburi, Thailand, for financial support of the study. We express our appreciation to Research Unit I, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Medical Science Research Equipment Center, Faculty of Medicine and Animal Laboratory Building, Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Thailand, for providing research facilities, and also like to thank Mr. Ralph M. Green for editing the manuscript as well.

### References

1. Lindau ST, Schumm LP, Laumann EO, Levinson W, O'Muircheartaigh CA, Waite LJ. A study of sexuality and health among older adults in the United States. *N Engl J Med*. 2007;357(8):762–74.
2. Gonzales GF, Córdova A, Vega K, Chung A, Villena A, Góñez C, et al. Effect of *Lepidium meyenii* (MACA) on sexual desire and its absent relationship with serum testosterone levels in adult healthy men. *Andrologia*. 2002;34(6):367–72.
3. Holden CA, McLachlan BI, Pitts M, Cumming R, Wittert G, Agius A, et al. Men in Australia telephone survey (MATEs): A national survey of the reproductive health and concerns of middle-aged and older Australian men. *Lancet*. 2005;366(9481): 218–24.
4. Chaturapanich G, Chaiyakul S, Verawatnapakul V, Pholpramool C. Effects of *Kaempferia parviflora* extracts on reproductive parameters and spermatoc blood flow in male rats. *Reproduction*. 2008;136(4): 515–22.
5. Jorim RY, Korape S, Legu W, Koch M, Barrows LR, Matainaho K, et al. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the eastern highlands of Papua New Guinea. *J Ethnobiol Ethnomed* 2012;8:47.
6. Larsen K. A preliminary checklist of the Zingiberaceae in Thailand. *Thai Forest Bull*. 1996;24:35-49.
7. Eng-Chong T, Yean-Kee L, Chin-Fei C, Choon-Han H, Sher-Ming W, Li-Ping CT, et al. *Boesenbergia rotunda*: From ethnomedicine to drug discovery. *Evid Based Complementary Alternat Med*. 2012;2012: 473637.

8. Wutythamawech W. Encyclopedia of Thai Herbs. 2<sup>nd</sup> ed. Bangkok, Thailand: OS Printing; 1997.
9. National Pharmaceutical System Development Commission. National List of Essential Medicines (NLEM of Thailand). Nonthaburi, Thailand: Food and Drug Administration, Ministry of Public Health; 2012.
10. Sudwan P, Saenphet K, Saenphet S, Suwansirikul S. Effect of *Kaempferia parviflora* Wall. ex. Baker on sexual activity of male rats and its toxicity. SE Asian J Trop Med. 2006; 37 (Suppl 3):S210–5.
11. Low S, Das K, Chan KL. Standardized quassinoid-rich *Eurycoma longifolia* extract improved spermatogenesis and fertility in male rats via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. J Ethnopharmacol. 2013; 145(3):706–14.
12. Ang HH., Ikeda S, Gan EK. Evaluation of the potency activity of aphrodisiac in *Eurycoma longifolia* Jack. Phytother Res. 2001;15(5): 435–6.
13. Manosroi A, Sanphet K, Saowakon S, Aritajat S, Manosroi J. Effects of *Butea superba* on reproductive systems of rats. Fitoterapia. 2006;77(6):435–8.
14. Sudwan P, Saenphet K, Aritajat S, Sitasuwan N. Effects of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. On sexual behaviour of male rats. Asian J Androl. 2007;9(6):849–55.
15. Yotarlai S, Chaisuksunt V, Saenphet K, Sudwan P. Effects of *Boesenbergia rotunda* juice on sperm qualities in male rats. J Med Plants Res. 2011;5:3861-7.
16. Hess RA. Quantitative and qualitative characteristics of the stages and transitions in the cycle of the rat seminiferous epithelium: light microscopic observations of perfusion-fixed and plastic-embedded testes. Biol Reprod. 1990;43(3):525–42.
17. Hussein MR, Abu-Dief EE, Abou El-Ghait AT, Adly MA, Abdelraheem MH. Morphological evaluation of the radioprotective effects of melatonin against X-ray-induced early and acute testis damage in Albino rats: An animal model. Int J Exp Pathol. 2006;87(3):237–50.
18. Pintus E, Ros-Santaella L, Garde J. Variation of spermatogenic and Sertoli cell number detected by fine needle aspiration cytology (FNAC) in Iberian red deer during and out of the breeding season. Reprod Fertil Dev. 2014;27(5):812–22.
19. Segatelli TM, França LR, Pinheiro PF, Alemida CC, Martinez M, Martinez FE. Spermatogenic cycle length and spermatogenic efficiency in the gerbil (*Meriones unguiculatus*). J Androl. 2004; 25(6):872–80.
20. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company; 2001.
21. Hess RA, de Franca LR. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In: Cheng CY, editor. Molecular mechanisms in spermatogenesis. Texas: Landes Bioscience; 2008. p. 1–15.
22. Mescher AL, Junqueira's basic histology text & atlas. 13<sup>th</sup> ed. New York: The McGraw-Hill Education; 2013. p. 431-7.
23. Russell LD, Peterson RN. Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. J Reprod Fertil. 1984; 70(2):635–41.
24. França LR, Godinho CL. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle

- length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). Biol Reprod. 2003;68(5):1554–61.
25. Adhikari RC. Testicular fine needle aspiration cytology in azoospermic males. Nepal Med Coll J. 2009;11(2):88–91.
26. Blanchard TL, Johnson L. Increased germ cell degeneration and reduced germ cell: Sertoli cell ratio in stallions with low sperm production. Theriogenology. 1997;47(3):665–77.
27. Johnson L, Nguyen HB. Annual cycle of the Sertoli cell population in adult stallions. J Reprod Fertil. 1986;76(1):311–6.
28. Kierszenbaum AL, Tres LL, Histology and cell biology: An introduction to pathology, 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p. 591-602.
29. Sudwan P, Saenphet K, Saenphet S, Wongsawad C. Sperm density and ultrastructure of Sertoli cells in male rats treated with *Kaempferia parviflora* Wall. Ex. Baker extract. SE Asian J Trop Med. 2007; 38(Suppl 1):S249-54.

## Research Article

**Development of germinated-black glutinous rice-based milk with probiotic bacteria**

Isara Wattananapakasem\*, Panuchanard Chancham, Patpen Penjumras

Food Science and Technology, Maejo University, Phrae Campus, Phrae Province 54140

\* Correspondence to: w\_isara@hotmail.com

**Naresuan Phayao J.** 2018;11(1):12-16.

**Abstract**

Improved survival of *Lactobacillus casei* Lc-01 with germinated black glutinous rice (G-BGR) was investigated. Black glutinous rice (BGR) was germinated for 24 h, and 13.12 mg/100 g of gamma-amino butyric acid (GABA,  $\gamma$ -aminobutyric acid) was found. Total phenolic content of G-BGR/GRB for 24 h extract sample was approximately 10.63/6.90 mg gallic acid equivalent (GAE)/g which indicated G-BGR might be a functional food ingredient to enhance health functionality. G-BGR was expected to enhance the viable of *Lactobacillus casei* (Lc-01) during fermentation. Incorporating G-BGR into fermented milk has slightly higher the viability (bacterial count) of Lc-01 of 10.92 log colony-forming unit (CFU/mL) than native black glutinous rice (BGR) of 9.87 log CFU/mL. Combination with G-BGR showed that treated fermented milk has pH of 4.52, and 0.73 % of lactic acid. After 3 days of storage, Lc-01 slightly increased, and acidity tended to increase. G-BGR ingredient can be used as well as new substrate of Lc-01. It therefore applies as functional ingredients.

**Keywords:** Germinated-black glutinous rice, fermented milk, *Lactobacillus casei* (Lc-01)

**Introduction**

There are many studies reported the important of phytochemical properties being beneficial to health of a consumer. Colored rice (*Oryza sativa* L.) is stated as a good source of antioxidants. [1] Thailand has several varieties of pigmented rice, for example, red rice, riceberry rice, and black rice (or purple rice) etc. These pigments are abundant in layer of rice bran which enrich in antioxidant properties. Black rice is a good source of nutritional including, cyanidin 3-glucoside and peonidin 3-glucoside, the dominant anthocyanins in black rice varieties are around 19.4 to 140.8 mg/100 g and 11.1 to 12.8 mg/100 g, respectively. [2] Cyanidin 3-glucoside and peonidin 3-glucoside were to inhibit the invasion and motility of SKHep-1 cells. [3] Previously, many studies have determined the biological active substances, including cyanidin 3-glucoside, peonidin 3-glucoside and peonidin, phenolic compound, and oryzanol etc. [2,3]

Moreover, functional properties of colored rice can increase the nutrition value by germination process. The soaking rice grain in water until tiny bud appeared is called the germination process. During germination, the rice grain has a metabolic change which enriches in the health promoting substances such as gamma-aminobutyric acid (GABA). Glutamic acid was synthesized by the glutamine oxoglutarate



aminotransferase and glutamine synthetase cycle. [4] Application of cereals-based in fermented dairy products is widely used among novel food products to promote the nutrition. Interestingly, the utilization of rice grain as dietary ingredient has been used for promoting lactic acid bacteria during fermentation.

Probiotics have several health benefits associated with their consumption. The functional properties of probiotic included decreasing in lactose malabsorption, prevention of cancer, and reducing risk of coronary heart disease. [5] The International Dairy Federation suggested the minimum level in concentration of living cells of  $10^7$  colony-forming units per gram (CFU/g) at the date of product consumption. The viability concentration of probiotic product have to contain in range of  $10^8$  to  $10^9$  CFU/mL. [6] However, the probiotic is sensitive during food product processing. Several factors might improve probiotic survival such as the use of other food supplements, which act as a probiotic growth promoter.

The study was aimed to apply germinated black glutinous rice (G-BGR), as antioxidative supplements in order to improve probiotic survival in a fermented milk product.

## Material and Method

### Sample preparation

Black glutinous rice (BGR - Leum Pua cultivar) was used. The dehulling of paddy was done, and then the dehulled rice was continued to germination process. The BGR was soaked for 4 h and afterwards the sample was drained and incubated for 0, 12, 18, and 24 h. The germination process was discontinued by steam for 15 min, after that the samples were dried at 45°C until reached 10 to 12% of moisture content. The specimens were put in sealed plastic bags, and keep in 4°C refrigerator.

### Determination of total phenolic compound

One gram of sample was extracted using extraction solvent (methanol: water, 80:20 v/v) (25

mL), mixed for 24 h with magnetic stirrer, and centrifuged at 2,500 g for 10 min (HIMAC CR 20B2, Hitachi, Japan). The collected supernatant was used for total phenolic compound according to Sompong and colleagues' method. [2]

Colorimetric method was used for analysis total phenolic content. The 120  $\mu$ L of extracted sample was reacted with Folin's phenol reagent for 1 min. 960  $\mu$ L of 7.5 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  was added to mixture solution and then, incubated for 30 min at room temperature. The absorbance was measured at 765 nm by spectrophotometer. The amount of total phenolic content was calculated using gallic acid at concentration of 20, 40, 60, 80 and 100 mg/L as a reference standard. The total phenolic content was expressed as gallic acid equivalent (GAE) in milligram of gallic acid/mg of sample. [2]

### Fermented milk production

The GBGR to water ratio of 1:3 (w/w) was mixed with 5% of skimmed milk powder. The mixture slurry was blended, pasteurized at 90°C for 5 min, and cooled down to below 25°C. The pasteurized sample was warmed up to 42°C, and inoculated with probiotic *Lactobacillus casei* (Lc-01) (CHR Hansen, Denmark). The mixtures were put into the glass jars, and incubated in a water bath (42°C) until pH up to 4.5. The fermented milk samples were replicated in three times for all analysis.

### Determination of acidification profile

Value of pH and increasing in titratable acidity of fermented milk samples were measured of final product. For titratable acidity, the sample (25 g) was titrated with 0.1 N NaOH using phenolphthalein as indicator. [7] The amount of titratable acid value was expressed as % acid equivalent to lactic acid (% lactic acid) calculated using the below formula.

$$\% \text{ Lactic acid} = \frac{\text{NaOH (mL)} \times \text{Normality} \times 0.009 \times 100}{\text{Weight of sample (g)}}$$

### Enumeration of viable bacteria

Viable count of probiotic *Lactobacillus casei* Lc-01 was counted with De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar media. To enumerate the Lc-01, samples were serially diluted with peptone water, and then plated on MRS agar (Hi Media Laboratory Pvt. Ltd., Mumbai, India). The plates were incubated at 37°C for 48 h. Afterward the count of viable probiotic cells was carried out, and expressed as log colony forming units per milliliter (log CFU/mL). [8]

### Statistical analysis

Data is statistical analyzed using SPSS version 16. The experimental data were analyzed by one-way ANOVA and  $p$ -value <0.05 was considered statistically significant. Result were expressed as means (standard deviation, SD) of at least three independent measurements.

### Results

Total phenolic content GABA, and gamma-aminobutyric acid (standard deviation - SD) of G-BGR/native BGR were 10.63 (0.84)/6.90 (0.36) mg GAE/g and 13.13 (0.18)/4.72 (0.03) mg/100 g, respectively. (Table 1)

**Table 1** Functional properties of the native and germinated black glutinous rice

Functional properties	Native BGR	G-BGR for 24 h
Total phenolic content (mg GAE/g)	6.90 (0.36)	10.63 (0.84)
gamma-aminobutyric acid (mg/100g)	4.72 (0.03)	13.13 (0.18)

Note: gamma-aminobutyric acid was analyzed by Institute of Food Research and Product Development (IFRPD), Kasetsart University

The pH and lactic acid (SD) of various samples of germinated rice-based fermented milk are demonstrated. (Table 2)

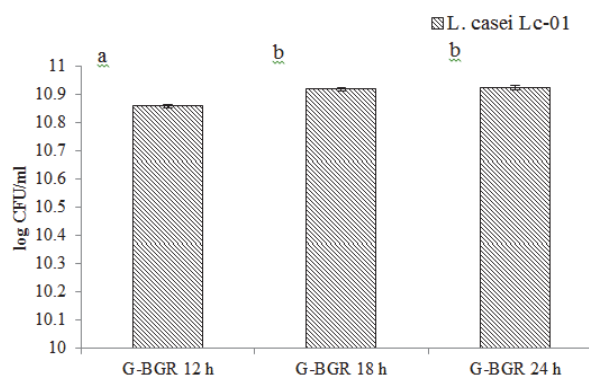
**Table 2** pH and lactic acid among three different durations of fermented sample

	pH	percent of lactic acid
12-h Germinated rice	4.55 (0.02) <sup>a</sup>	0.56 (0.02) <sup>a</sup>
18-h Germinated rice	4.53 (0.01) <sup>b</sup>	0.63 (0.06) <sup>a</sup>
24-h Germinated rice	4.52 (0.01) <sup>b</sup>	0.73 (0.04) <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> Different letter superscripts in the same column indicates statistical difference ( $p$ <0.05)

At the beginning of the fermentation, the initial pH values were approximately 6.5. After 6 h, the pH of all fermented samples decreased according to lactic acid production by Lc-01. The 24-h germinated rice had higher proportion of acid lactic than those of 12- and 18-h.

Longer fermentation had found to have high population of Lc-01. The growths of Lc-01 in log CFU/mL among three different fermented samples were demonstrated. (Figure 1)



**Figure 1** Lc-01 growth among three different durations of fermented samples

The G-BGR of 24-h fermented milk resulted in a noticeably higher viability (bacterial count) of Lc-01. While during storage at 4°C for 3 days, viability of probiotics was slightly increased trends of high acidity. The pH, acidity, and viable count of Lc-01 (SD) were shown. (Table 3)

**Table 3** Characteristics of storage Lc-01

	pH	% Lactic acid	Lc-01 (log CFU/mL)	Coliform (MPN/100mL)	E. coli
1-day	4.52 (0.01)	0.73 (0.04)	10.92 (0.08)	<3	ND
2-day	4.13 (0.05)	1.18 (0.01)	11.05 (0.14)	<3	ND
3-day	3.97 (0.03)	1.36 (0.02)	11.26 (0.11)	<3	ND

MPN = most probable number, ND = Not detect

## Discussion

The study result is similar to several Thai's studies which revealed that germinate black waxy rice (Niew Dam) has higher antioxidative capacity than UG-BGR. [9] While the other reported germinate rough rice has higher amount of bioactive compound and nutrient such as  $\alpha$ -tocopherol,  $\gamma$ -oryzanol than ungerminated rice. [10]

Longer fermentation had increased the larger proportion of lactic acid, however the doubling time has needed much more longer of 5 to 12 h, and survival of lactobacilli in prebiotic, in general their survivals was enhance, was strain specific [11]. Lc-01 was found to have good viability in fermented milk with G-BGR. Those contain the mixture sugar (maltose, glucose and dextrin), usage and occurring germination process.

## Acknowledgements

We sincerely appreciate Maejo University, Phrae Campus, and would like to express our gratitude to all technical staffs for their support, as

well as the National Research Council of Thailand (NRCT).

## References

1. Yawadio R, Tanimori S, Morita, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chem.* 2007;101(4): 1616-25.
2. Sompong R, Siebenhandl-Ehn S, Linsberger-Martin G, Berghofer E. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chem.* 2011;124(1): 132-40.
3. Chen PN, Kuo WH, Chiang CL, Chiou HL, Hsieh YS, Chu SC. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. *Chem Biol Interact.* 2006; 163(3):218-29.
4. Aurisano N, Bertani A, Reggiani R. Anaerobic accumulation of 4-aminobutyrate in rice seedlings; Causes and significance. *Phytochem.* 1995;38(5):1147-50.
5. Suskovic J, Kos B, Goreta J, Matosic S. Role of lactic acid bacteria and *Bifidobacteria* in symbiotic effect. *Food Technol Biotechnol.* 2001;39(3):227-35.
6. Rokka S, Rantamäki P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: Challenges for industrial applications. *Eur Food Res Technol.* 2010;231:1-12.
7. Shima ARR, Salina HF, Masniza M, Atiqah AH. Viability of lactic acid bacteria in homemade yogurt containing sago starch oligosaccharides. *Int J Basic Appl Sci.* 2012;12(01):58-62.
8. Yonekura L, Sun H, Soukoulis C, Fisk I. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 in matrices containing soluble fiber by spray drying: Technological characterization, storage stability and survival

- after *in vitro* digestion. J Funct Foods. 2014;6: 205–14.
9. Sutharut J, Sudarat J. Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice. Int Food Res J. 2012;19(1):215-21.
  10. Moongngarm A, Saetung N. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germination rough rice and brown rice. Food Chem. 2010;122:782-8.
  11. Desai AR, Powell IB, Shah NP. Survival and activity of probiotic *Lactobacilli* in skim milk containing prebiotics. J Food Sci. 2004;69:57-60.

## Research Article

**Polyphenols and antioxidant capacities of pulp and seed extracts of *Muntingia calabura* L., *Malpighia glabra* L. and *Ampelocissus martini* Planch**Natirat Suvajasuwan<sup>1</sup>, Patchareewan Juntip<sup>1</sup>, Chatchawin Petchlert<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi Province 20131<sup>2</sup> Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC), Faculty of Science, Burapha University, Chonburi Province 20131

\* Correspondence to: chatchaw@go.buu.ac.th

Naresuan Phayao J. 2018;11(1):17-22.

**Abstract**

In the experiment, the hexane and ethanol extracts from three kinds of Thai berry fruits including *Muntingia calabura* L., *Malpighia glabra* L. and *Ampelocissus martinii* Planch were determined. The colorimetric assay, total phenolics and anthocyanins, Diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging methods, and Ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay were utilized. The different kinds of polyphenols were demonstrated including flavanone, flavonol-3-glycoside, anthocyanin, leucoanthocyanin. Total phenolic contents and anthocyanin were 16.93 to 656.55 mg gallic acid equivalent (GAE)/g, and 0.08 to 52.30 mg cyanidin-3-glucoside (c3g)/g dry weight. Both hexane and ethanolic extracts of *Malpighia glabra* L. pulp significantly exhibited the FRAP property of 299.39 and 972.51 mM FeSO<sub>4</sub>/g extract, respectively), also exerted the greatest DPPH scavenging activity by 96.31% with half maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of 0.15 mg/mL.

**Keywords:** Anthocyanin, antioxidant capacity, polyphenol, Thai berry fruits**Introduction**

Berry fruits are considered the good sources of polyphenolic compounds that provide the advantages for biological activities. [1] Berries contain powerful antioxidants, potential allergens, and other bioactive compounds. Genetic and environmental factors affect the production and storage of such compounds, where the anthocyanins have important functions in plant physiology as well in health effects. [2,3] The high anthocyanin contents and biological activities of these fruits indicate that their consumption would be beneficial to health. The presence of predominantly phenolic compounds (ellagic and gallic acids, and corilagin) demonstrated varying degrees of antioxidative efficacy. [4] Cranberries with high content of polyphenols have been associated with several cardiovascular health benefits. [5] The content of bioactive compounds in different berries was identified. [6] The food industry has used the cape gooseberry in different products including beverages, yogurts, jams, nutraceutical, and pharmaceutical industries. [7-8] All of the evaluated gooseberries extracts presented detectable amounts of phenolic, flavonoid, and tannin. Natural antioxidants that are presented in berry fruits have attracted the considerable interest because of their

presumed safety, potential nutritional and therapeutic value. The increased interest in natural antioxidants has led to the antioxidant evaluation of many species of fruits. Even many Thai berries may contain the powerful phytochemicals that there is no evidence to investigate their antioxidant capacity.

The study was aimed to evaluate the type of polyphenols, total phenolics and total anthocyanins, Ferric reducing ability of plasma (FRAP) and diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging assays of hexane and ethanol extracts obtained from Thai berries.

## Material and Method

*Muntingia calabura* L. and *Malpighia glabra* L. fruits were collected from Chon Buri province, and *Ampelocissus martini* Planch fruit was obtained from Sisaket province, Thailand during October-November 2015, and were authenticated by a botanist.

### Sample preparation and extraction

The prepared berries were weighed, chopped, and homogenized under liquid nitrogen in a high-speed blender. The ground samples were freeze-dried, and then stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until use. Forty to 140 grams of samples were macerated with 400 to 1,400 mL of hexane or ethanol 3 times in darkness and were occasionally shaken. (Table 1) After filtration through filter paper (No. 1, Whatman Inc.), the solvent was removed under reduced pressure using a rotary evaporator and the crude extracts were stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until analysis.

### Qualitative determination by colorimetric assay

The colorimetric assay was carried out to screen the type of polyphenols in selected extracts that comprised of 7 methods including  $\text{FeCl}_3$  assay, cyanidin reaction (Shinoda test), Pew test, base

reaction, acid-base reaction, leucoanthocyanin test, and gelatin test as referred to the previous study. [9]

**Table 1** Characteristics of the berries

Local name	Scientific name	Studied parts	weight: volume (g/mL)
Acerola cherry (Thai)	<i>Malpighia glabra</i> L.	Pulp	40:400
		Seed	60:600
Malayan cherry (Takob)	<i>Muntingia calabura</i> L.	Pulp and seed	140:1,400
Wild grapes	<i>Ampelocissus martinii</i> Planch	Pulp	50:500
		Seed	50:500

## Quantitative determination

### Determination of total phenolic content

Total phenolic content of the extracts was determined by the Folin–Ciocalteu colorimetric method described previously [10] with minor modifications. The assay was measured in triplicate, and the results were calculated using a calibration curve for gallic acid, and expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) per g extract.

### Determination of total anthocyanin content

Total anthocyanin content was determined using a previously described method. [11] The values were expressed as mg cyanidin-3-glucoside (c3g) equivalent/g dry weight using a molar extinction coefficient of 26,900. All determinations were performed in triplicates.

### DPPH radical scavenging activity

The bleaching rate of a stable free radical DPPH was monitored at a characteristic wavelength. The radical form of DPPH absorbs at 517 nm upon the reduction by an antioxidant. The activity was measured according the previously described method. [10]

### Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

The assay was based on the reducing power of a compound (antioxidant) as previously described. [12] Standard curve was prepared using different concentrations of  $\text{FeSO}_4$ . The results were corrected for dilution and expressed in mM  $\text{FeSO}_4/\text{g}$  of extract. All determinations were performed in triplicate.

### Statistical analysis

Data were presented as mean (standard error of the mean – SEM). The statistical analysis was determined using one-way analysis of variance (ANOVA) and Student's *t*-test, and values of  $p < 0.05$  were considered to be significant.

## Results

**Table 2** shows the variety of polyphenols found in Thai berries, including polyphenol, flavanone, flavonol-3-glycoside, anthocyanin, leucoanthocyanin, flavone, chalcone, aurone, xanthone and tannin, however polyphenol in seed hexane extract of wild grape (*Ampelocissus martinii* Planch) was the lowest. The amounts of bioactive compounds are summarized in **Table 3**. The significant highest content ( $p < 0.05$ ) of bioactive compounds was in the pulp of Thai berry ethanol extract. The seeds of wild grape showed average results in hexane extracts for anthocyanins.

The antioxidant activity of Thai berry extracts using DPPH method was determined. The assay based on the measurement of the antioxidant ability to scavenge the stable organic radical DPPH and used BHT as positive control with the  $\text{IC}_{50}$  of  $0.0041 \pm 0.03$  mg/mL. **Table 4**, the ethanol extract of Thai cherry pulp at the concentration of 1mg/mL exhibited the highest DPPH radical scavenging activity with  $\text{IC}_{50}$  of DPPH scavenging activity as  $0.15 \pm 0.26$  mg/mL.

The  $\text{IC}_{50}$  of DPPH scavenging activity and FRAP value (SD) were demonstrated. The  $\text{IC}_{50}$  of DPPH scavenging activity of Malayan cherry (pulp + seeds) hexane extract was highest, and Thai cherry (pulp) ethanol extract was lowest. While the FRAP value of Thai cherry (pulp) ethanol extract was the highest, and Malayan cherry (pulp + seed) hexane extract was the lowest. (**Table 4**)

**Table 2** Polyphenol found in the berries

Extracts	Polyphenols
<b>Ethanolic</b>	
Thai cherry (pulp)	Polyphenol, flavanone, flavonol-3-glycoside, anthocyanin, leucoanthocyanin
Thai cherry (seed)	Polyphenol, flavonoids with $\gamma$ -benzopyrone, flavanone, flavonol-3-glycoside, flavanone
Malayan cherry (pulp + seed)	Polyphenol, flavone, chalcone, aurone, flavonol, xanthone, anthocyanin, leucoanthocyanin, tannin
Wild grape (pulp)	Polyphenol, flavone, chalcone, aurone, flavonol, flavonol-3-glycoside, xanthone, anthocyanin, leucoanthocyanin
Wild grape (seed)	Polyphenol, flavanone, flavonol-3-glycoside
<b>Hexane</b>	
Thai cherry (pulp)	Polyphenol, flavanone, flavonol-3-glycoside, anthocyanin, leucoanthocyanin
Thai cherry (seed)	Polyphenol, flavone, chalcone, aurone, flavonol, xanthone
Malayan cherry (pulp + seed)	Polyphenol, flavone, chalcone, aurone, flavanone, flavonol-3-glycoside, flavonol, xanthone, anthocyanin, leucoanthocyanin, tannin
Wild grape (pulp)	Polyphenol, flavone, chalcone, aurone, flavanone, flavonol-3-glycoside, flavonol, xanthone, anthocyanin, leucoanthocyanin
Wild grape (seed)	Polyphenol



**Table 3** Bioactive compounds of the berries

Extracts	% yield	phenolic content	anthocyanin content
<b>Ethanol</b>			
Thai cherry (pulp)	6.70	656.55 (4.00) <sup>a</sup>	28.83 (2.67) <sup>d</sup>
Thai cherry (seed)	3.70	380.45 (2.29) <sup>c</sup>	0.21 (0.03) <sup>a</sup>
Malayan cherry (pulp + seed)	5.90	426.25 (8.40) <sup>b</sup>	28.77 (1.99) <sup>b</sup>
Wild grape (pulp)	5.30	331.48 (2.44) <sup>a</sup>	52.30 (0.01) <sup>a</sup>
Wild grape (seed)	12.62	450.79 (6.48) <sup>d</sup>	0.14 (0.03) <sup>a</sup>
<b>Hexane</b>			
Thai cherry (pulp)	1.50	112.48 (0.38) <sup>e</sup>	8.45 (2.02) <sup>c</sup>
Thai cherry (seed)	0.83	43.83 (4.75) <sup>n</sup>	0.13 (0.03) <sup>a</sup>
Malayan cherry (pulp + seed)	7.48	16.93 (0.93) <sup>i</sup>	5.40 (2.99) <sup>c</sup>
Wild grape (pulp)	3.02	69.55 (10.06) <sup>g</sup>	0.08 (0.02) <sup>a</sup>
Wild grape (seed)	4.64	93.31 (1.29) <sup>r</sup>	51.90 (2.02) <sup>a</sup>

Total phenolic content in mg GAE<sup>#</sup>/g extract (SEM)Total anthocyanin content in mg c3g<sup>\*</sup>/g dry weight (SEM)

GAE = gallic acid equivalent, c3g = cyaniding-3-glucoside

<sup>a-i</sup> superscripts indicate the significant difference at  $p < 0.05$  in the same column**Table 4** Antioxidant capacities by DPPH of the berries

Extracts	IC <sub>50</sub> of DPPH (mg/mL)	FRAP (mM/g)
<b>Ethanol</b>		
Thai cherry (pulp)	0.15 (0.26) <sup>e</sup>	972.51 (0.01) <sup>a</sup>
Thai cherry (seed)	0.17 (0.09) <sup>e</sup>	728.59 (0.01) <sup>b</sup>
Malayan cherry (pulp + seed)	0.17 (0.04) <sup>e</sup>	746.52 (0.03) <sup>b</sup>
Wild grape (pulp)	0.38 (0.42) <sup>d</sup>	618.03 (0.01) <sup>c</sup>
Wild grape (seed)	0.16 (0.06) <sup>e</sup>	951.34 (0.04) <sup>a</sup>
<b>Hexane</b>		
Thai cherry (pulp)	1.10 (0.34) <sup>c</sup>	299.39 (0.01) <sup>d</sup>
Thai cherry (seed)	2.53 (0.66) <sup>b</sup>	127.94 (0.01) <sup>e</sup>
Malayan cherry (pulp + seed)	3.14 (0.51) <sup>a</sup>	27.57 (0.02) <sup>f</sup>
Wild grape (pulp)	1.47 (0.20) <sup>c</sup>	167.64 (0.03) <sup>e</sup>
Wild grape (seed)	1.26 (0.31) <sup>c</sup>	217.49 (0.01) <sup>d</sup>

<sup>a-f</sup> superscripts indicate the significant difference at  $p < 0.05$  of the same column

## Discussion

In the study, the ethanol extracts of three Thai berries showed stronger antioxidant effects in terms of phenolic and anthocyanin. There was a direct linear relationship between the phenolic contents and total antioxidant activities in the samples. The higher total phenolic content in fruits resulted in higher antioxidant activity. Similarly, the previous study reported a significant positive correlation between the DPPH scavenging potential and the total phenolic content in *Muntingia calabura*. [13] Moreover, our results corresponded also with the data of Wu et al [1], where concentrations of total anthocyanins varied considerably in different berries.

A number of reviewed articles showed that the main bioactive compounds determining the nutritional quality of berries are polyphenols, anthocyanins, and flavonoids. [2,5,14-16] The high anthocyanin content and biological activities of these fruits indicated that they might be the benefit for health. The berries may be useful in the production of functional foods containing an efficacious dose of anthocyanins. [2] The antioxidant capacity of polyphenols and anthocyanins present in diverse fruits has been demonstrated with a wide variety of assay methods: oxygen radical absorbance capacity (ORAC), a hydrogen transfer-based assay; [17] ferric reducing antioxidant potential (FRAP), trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity, all of them electron transfer-based assays; [18-20] scavenging activity towards superoxide; [21] peroxynitrite (ONOO-) scavenging activity; [22] inhibition of human low-density lipoprotein (LDL and liposome oxidation); [23] inhibition of lipid peroxidation; [22] ability to bind heavy metals such as iron, zinc and copper; [24] and induction of



antioxidant enzymes such as glutathione-S-transferase (GST), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase. [25]

In conclusion, among three Thai berries, the amounts of phenolic and anthocyanin were observed. The metabolism research and consumer interest in Thai berries-containing food and products with health benefit might be useful.

## References

1. Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *J Agric Food Chem.* 2006;54:4069-75.
2. Bowen-Forbes CS, Zhang Y, Nair MG. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *J Food Compos Anal.* 2010;23:554–60.
3. Namiesnik J, Vearasilp K, Kupska M, Ham KS, Kang SG, Park YK, et al. Antioxidant activities and bioactive components in some berries. *Eur Food Res Technol.* 2013;237:819-29.
4. Poltanov EA, Shikov AN, Dorman HJ, Pozharitskaya ON, Makarov VG, Tikhonov VP, et al. Chemical and antioxidant evaluation of Indian gooseberry (*Emblica officinalis* Gaertn., syn. *Phyllanthus emblica* L.) supplements. *Phytother Res.* 2009;23:1309–15.
5. Basu A, Betts NM, Ortiz J, Simmons B, Wu M, Lyons TJ. Low-energy cranberry juice decreases lipid oxidation and increases plasma antioxidant capacity in women with metabolic syndrome. *Nutr Res.* 2011;31:190–6.
6. Borges G, Degeneve A, Mullen W, Crozier A. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *J Agric Food Chem.* 2010;58:3901–9.
7. Ramadan MF. Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): an overview (Review). *Food Res Int.* 2011;44: 1830–6.
8. Hassanien MFR. *Physalis peruviana*: a rich source of bioactive phytochemicals for functional foods and pharmaceuticals. *Food Rev Int* 2011;27:259–73.
9. Thepmongkon K, Rungreungburanakul K, Petchlert C. Antioxidant effect of some edible plants from Ban Ang-Ed Official Community Forest Project (The Chaipattana Foundation) at Chantaburi Province. *Proceedings of 5<sup>th</sup> Science Research Conference*; 2013 Mar 4-5; University of Phayao, Phayao, Thailand; 2013, BIO5-BIO10.
10. Petchlert C, Romlee S, Kleansom P. Antioxidant activity of some commercial spice powders (curry and pa-lo powders) from local markets at Chon Buri province. *Burapha Sci J.* 2014;19:97-103.
11. Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. Total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines pH differential method. *J AOAC Int.* 2005;88(5):1269-78.
12. Nile SH, Park SW. Antioxidant:  $\alpha$ -glucosidase and xanthine oxidase inhibitory activity of bioactive compounds from maize (*Zea mays* L.). *Chem Biol Drug Des.* 2014b;83:119-25.
13. Siddiqua A, Premakumari KB, Sultana R, Savitha V. Antioxidant activity and estimation of total phenolic content of *Muntingia calabura* by colorimetry. *Int J ChemTech Res.* 2010;2(1): 205-8.

14. Sinelli N, Spinardi A, Di Egidio V, Mignani I, Casiraghia E. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near and mid-infrared spectroscopy. *Postharvest Biol Technol.* 2008; 50:31-6.
15. Erkaya T, Dademir E, Sengül M. Influence of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) addition on the chemical and sensory characteristics and mineral concentrations of ice cream. *Food Res Int.* 2012;45:331–5.
16. Zhang L, Zhou J, Liu H, Khan MA, Huang K, Gu Z. Compositions of anthocyanins in blackberry juice and their thermal degradation in relation to antioxidant activity. *Eur Food Res Technol.* 2012;235:637-45.
17. Wang H, Cao G, Prior RL. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J Agric Food Chem.* 1997;45:304-9.
18. Moyer RA, Hummer KE, Finn CE, Frei B., Wrolstad RE. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *J Agric Food Chem.* 2002;50:519-25.
19. Lee J, Finn CE, Wrolstad RE. Comparison of anthocyanin pigment and other phenolic compounds of *Vaccinium membranaceum* and *Vaccinium ovatum* native to the Pacific Northwest of North America. *J Agric Food Chem.* 2004;52:7039-44.
20. Koca I, Karadeniz B. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea region of Turkey. *Sci Hort.* 2009; 121:447-50.
21. Costantino L, Albasini A, Rastelli G, Benvenuti S. Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. *Planta Med.* 1992;58:342-4.
22. Muselík J, García-Alonso M, Martín-López MP, Žemlička M, Rivas-Gonzalo JC. Measurement of antioxidant activity of wine catechins, procyanidins, anthocyanins and pyranoanthocyanins. *Int J Mol Sci.* 2007;8:797-809.
23. Heinonen IM, Meyer AS, Frankel EN. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J Agric Food Chem.* 1998;46:4107-12.
24. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol.* 1983;32:1141-8.
25. Fiander H, Schneider H. Dietary ortho phenols that induce glutathione S-transferase and increase the resistance of cells to hydrogen peroxide are potential cancer chemopreventives that act by two mechanisms: the alleviation of oxidative stress and the detoxification of mutagenic xenobiotics. *Cancer Lett.* 2000;156:117-24.

## Research Article

***Etlingera pavieana* rhizome extract decreases oxidative stress and activates eNOS activity via stimulation of Akt phosphorylation in human endothelial cells**Klaokwan Srisook<sup>1\*</sup>, Sarinporn Udompong<sup>2</sup>, Petchrat Sawai<sup>1</sup>, Thitiporn Thongyen<sup>1</sup><sup>1</sup> Department of Biochemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi Province 20131<sup>2</sup> Biological Science Program and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi Province 20131

\* Correspondence to: klaokwan@go.buu.ac.th

Naresuan Phayao J. 2018;11(1):23-28.

**Abstract**

Atherosclerosis is a major cause of cardiovascular diseases (CVDs) and associated with endothelial dysfunction involving the reduced nitric oxide (NO) bioavailability. Currently, many plant extracts have been shown to have potential for the prevention and treatment of CVDs via activation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and suppression of oxidative stress. The study was aimed to investigate the effect of *Etlingera pavieana* extracts (EPE) on the production of reactive oxygen species (ROS) and eNOS-derived NO in human endothelial EA.hy926 cells. The effect of EPE on ROS production in TNF  $\alpha$ -induced EA.hy926 human endothelial cells was determined by H<sub>2</sub>DCF-DA probe. EPE inhibited ROS levels in a concentration-dependent manner. NO production and eNOS activation in human endothelial cells were examined by Griess reaction assay, and Western blot analysis, respectively. The NO levels of media from EA.hy926 cells treated with EPE increased in a concentration-dependent manner. EPE slightly increased, while eNOS significantly increased expression in endothelial cells. Moreover, EPE had upregulated the levels of p-eNOS (Ser1177) and p-Akt (Ser473). In conclusion, EPE rhizome extract increased NO bioavailability through inhibiting oxidative stress and activating eNOS expression as well as eNOS/Akt signaling pathway in endothelial cells.

**Keywords:** *Etlingera pavieana*, antioxidant activity, endothelial nitric oxide synthase, nitric oxide**Introduction**

Nitric oxide (NO) catalyzed by endothelial nitric oxide synthase (eNOS), regulates endothelial function. [1] It causes vasodilation by binding to heme-containing soluble guanylyl cyclase leading to relaxation of vessel smooth muscle. Activity of eNOS markedly increases with increasing of intracellular Ca<sup>2+</sup> flux. In addition eNOS activity is regulated by phosphorylation of the enzyme on Ser, Thr and Tyr by a variety of stimuli. [1] The phosphorylation of Akt at Ser473 via PI3-K activation leads to eNOS phosphorylation at Ser1177 which stimulates electron flux within the reductase domain. [1]

The mortality rate of cardiovascular diseases (CVDs), a group of disorders of the heart and blood vessels including hypertension, heart attacks and stroke, will be increased to 40% in 2030. [2] The reduction of endothelial NO availability is a hallmark of endothelial dysfunction, leading to atherosclerosis, a major

cause of CVDs. [3] NO availability is reduced either by increasing reactive oxygen species (ROS) or by decreasing eNOS expression and activity. [3,4] ROS causes oxidation of NO and uncoupling of eNOS resulting in a decreased NO bioavailability. Therefore, increasing of NO bioavailability and reducing ROS production might decrease the incidence of atherosclerosis.

Some bioactive compounds have been shown to enhance the NO production from eNOS also under pathophysiological conditions and thus may have therapeutic potential. [5] Several medicinal plants offer potential for the prevention and treatment of cardiovascular diseases. [6] *Etlingera pavieana* (Pierre ex Gagnep.) R.M.Sm. is a plant of the family Zingiberaceae. Its rhizomes have been used as a spice in eastern Thailand and as a medicine for the treatment of diuresis and flatulence. [7] Recently, *E. pavieana* extracts (EPE) were shown to have antioxidant and anti-inflammatory activities. [8]

The study was aimed to investigate the effects of the extract on antioxidant activity, and eNOS activation in human vascular endothelial cells.

## Material and method

### Chemicals

The chemicals used included tetrazolium salt 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H<sub>2</sub>DCF-DA) and resveratrol (Sigma Chemical, USA), protease inhibitor cocktail, phosphatase inhibitor cocktail and SuperSignal West Pico chemiluminescent substrate (Thermo Scientific, USA), and anti eNOS, anti p-eNOS (Ser1177), anti-Akt, anti-p-Akt (Ser473), anti-mouse IgG: HRP-linked antibody and anti-rabbit IgG: HRP-linked antibody (Cell Signaling Technology, USA).

### Preparation of *E. pavieana* extract

Rhizomes of *E. pavieana* were collected from Chantaburi Province, Thailand, and authenticated by Dr. B. Chewprecha, Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University. The preparation of ethanol extract of *E. pavieana* was performed as described by Srisook et al. [8] Briefly, dried rhizomes were ground to a fine powder, extracted with 95% ethanol, and filtered under pressure. Filtrate was evaporated by rotary evaporator to obtain ethanol extract of *E. pavieana* rhizomes.

### Measurement of NO production by nitrite assay

Nitrite is a stable oxidation product of NO, and present in the culture media. It was determined by spectrophotometric assay based on Griess reaction. Human endothelial cells EA.hy926 (American Type Culture Collection) were cultured in 10% Fetal bovine serum-Dulbecco's Modified Eagle Medium (FBS-DMEM), then seeded in 24-well plate with  $5 \times 10^4$  cells/well, and allowed to adhere at 37°C in a humidified air containing 5% CO<sub>2</sub> for overnight before treating with EPE at various concentrations for 24 h. Amount of nitrite in the cell culture media was evaluated by Griess reagent as described by Srisook et al. [9]

### Evaluation of cell viability by MTT assay

Cells were cultured in 10% FBS-DMEM and treated with EPE. Cell viability was evaluated from the ability of mitochondria to reduce MTT into MTT-formazan crystals. Formation of formazan is proportional to the number of functional mitochondria in living cells as described by Srisook et al. [9]

### Measurement of ROS

The ROS production was detected by H<sub>2</sub>DCF-DA probe as described by Simin et al [10] with a slight modification. Cells were plated in 24-well

plate ( $5 \times 10^4$  cells/well) and pretreated with EPE for 1 h before exposure to 10 ng/mL TNF- $\alpha$  for 12 h. Cells were washed twice with PBS and then incubated with 20  $\mu$ M H<sub>2</sub>DCF-DA for 30 min at 37°C. The fluorescence was detected by spectrofluorometer set up excitation wavelength at 485 nm, and emission wavelength at 520 nm.

#### Examination of protein expression and phosphorylation by Western blot analysis

EA.hy926 cells were seeded in 60-min culture plate ( $1 \times 10^6$  cells), and treated with EPE at indicated time points. Cells were washed with ice-cold phosphate-buffered saline (PBS), and scraped in NOS lysis buffer [200 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7.2, 320 mM sucrose and 1 mM ethylene glycol-bis ( $\beta$ -aminoethyl ether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid (EGTA)], containing mixture of protease inhibitors and phosphatase inhibitors. The cell suspension was sonicated twice with a Vibracell ultrasonic processor (VCX 500, Sonics, USA). The cell lysate was centrifuged at 12,000  $g$  for 10 min at 4°C. Equal amounts of supernatant protein were subjected to electrophoresis using 10% SDS-polyacrylamide gels. Separated proteins were transferred onto a Polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane, and non-specific bindings were blocked with Tris Buffered Saline with Tween (TBS-T) buffer (10mM Tris-HCl, pH 7.4, 100mM NaCl, and 0.1% (v/v) Tween 20), containing 5% skim milk for 1 h at room temperature.

The membrane was then incubated with primary antibodies specific for eNOS, p-eNOS (Ser1177), Akt, p-Akt (Ser473), or GAPDH dissolved in TBS-T buffer containing 5% BSA. Subsequently, the membrane was incubated with goat anti-mouse or goat anti-rabbit IgG conjugated HRP secondary antibodies for 1 h at room temperature. The PVDF membrane was detected on X-ray film activated by

enhanced chemiluminescence using SuperSignal West Pico.

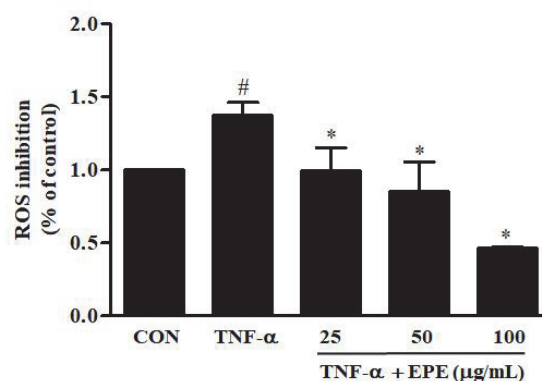
#### Statistical analysis

The data are expressed as means (standard deviation, SD) of at least three experiments. Statistical significance was tested using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey test for multiple comparison. The values of  $p < 0.05$  were considered significant.

## Results

TNF- $\alpha$  caused significant increase in ROS production compared to control the unstimulated cells. Treatment of endothelial cells with EPE resulted in suppression of TNF- $\alpha$ -induced ROS production in a concentration-dependent manner.

#### (Figure 1)



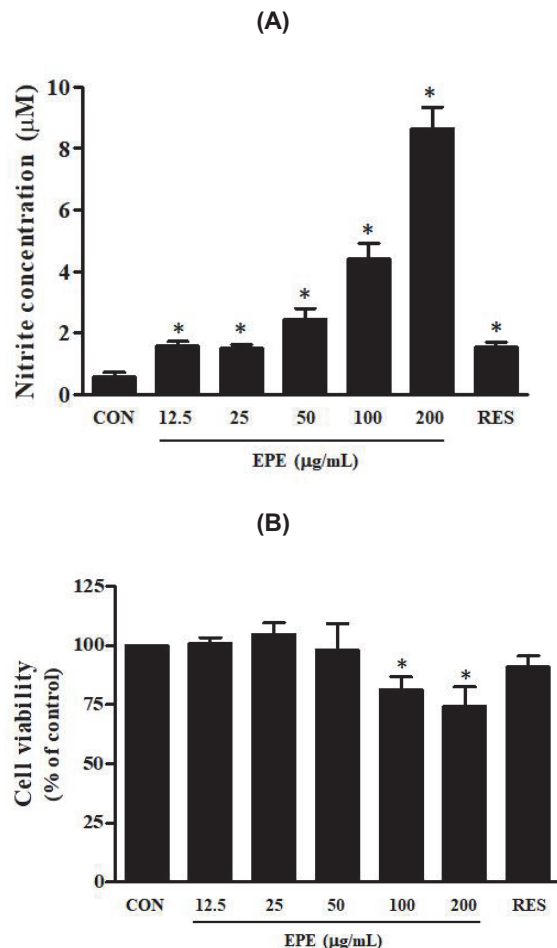
#  $p < 0.05$ ; compared with 0.2% DMSO-treated cells (CON)

\*  $p < 0.05$ ; compared with TNF- $\alpha$ -treated cells

**Figure 1** Effect of EPE on TNF- $\alpha$ -induced ROS production in EA.hy 926 human endothelium

Nitrite concentration in culture media was used as an index of NO amount. The nitrite levels in conditioned media from cells treated with EPE (12.5-200  $\mu$ g/mL) were dose-dependently increased compared to control the unstimulated cells. **(Figure 2A)** Resveratrol is a well-known enhancer of NO production and eNOS expression in EA.hy926 cells.

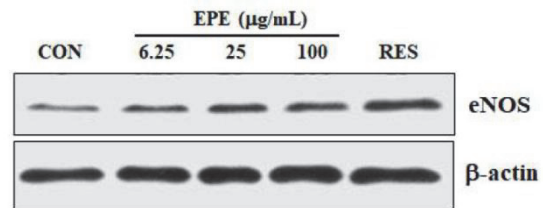
[11] It significantly stimulated NO level in endothelial cells. EPE at concentrations of 12.5 to 50  $\mu\text{g/mL}$  did not affect cell viability while at higher concentrations (100 and 200  $\mu\text{g/mL}$ ) caused reduction in cell viability. (**Figure 2B**)



\*  $p < 0.05$ ; when compared with 0.2% DMSO-treated cells (CON) RES; cells were treated with 100  $\mu\text{M}$  resveratrol

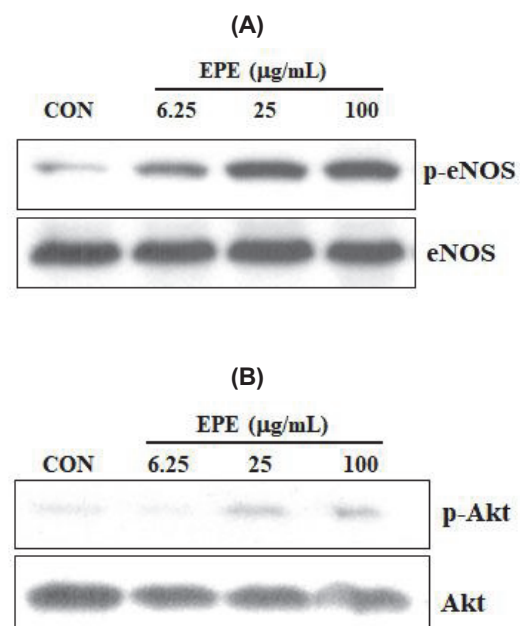
**Figure 2** Effect of EPE on NO production (A) and cell viability in EA.hy 926 human endothelium (B)

The effect of EPE on eNOS protein level in EA.hy 926 cells was done by Western blot analysis. EPE enhanced eNOS protein expression in a dose-dependent manner. (**Figure 3**) The resveratrol drastically also increased eNOS protein level.



**Figure 3** Effect of EPE on eNOS protein expression in EA.hy 926 human endothelium

The activation of eNOS activity is mediated by intracellular calcium and phosphorylation. The Akt pathway was shown to directly activate eNOS by phosphorylation at Ser1177 by calcium-independent. [1] Treatment of endothelial cells had increased the level of p-eNOS (Ser1177) in a dose-dependent manner. (**Figure 4A**) In accordance with p-eNOS, EPE induced phosphorylation of Akt at Ser473. (**Figure 4B**)



**Figure 4** Effect of EPE on the phosphorylation of eNOS (A) and Akt (B) in EA.hy 926 human endothelium.



## Discussion

Experimentally,  $\text{TNF-}\alpha$  had been demonstrated to induce the levels of ROS in EA.hy 926 human endothelium. This result is in accordance with a previous study that showed the increase in the level of ROS in cells treated with  $\text{TNF-}\alpha$ . [12] The present study, EPE reduced ROS levels in  $\text{TNF-}\alpha$ -stimulated cells indicating that EPE could suppress oxidative stress in human endothelial cells, consistence with that study. [9]

Since some plants have been shown to increase NO production and eNOS expression, [13, 14] the effect of EPE on NO formation in endothelial cells was investigated. The treatment of endothelial cells with EPE increased NO production in a concentration-dependent manner. Interestingly, the viability of cells treated with EPE at 100 and 200  $\mu\text{g/mL}$  was decreased by 20 to 25% but substantial amount of NO were detected in the culture media. There are two ways to increase eNOS-derived NO production: enhancing eNOS expression and eNOS activity. [1] Therefore, the modulation of eNOS expression by EPE was determined to verify whether its expression is involved with NO production. The obtained result showed that EPE upregulated eNOS protein expression. Noticeably, EPE at 100 and 200  $\mu\text{g/mL}$  slightly enhanced while significantly increase in eNOS protein level, whereas the nitrite concentration was detected to a greater extent amount. This suggests that the increase in NO production under this condition might have been caused by the other means than the stimulating eNOS protein expression.

In addition to calcium efflux, eNOS activity is modulated by the phosphorylation of eNOS. The study also demonstrated that EPE increased p-eNOS (Ser1177) and p-Akt (Ser473) levels. [1,5] Thus, increasing in NO production by EPE might be

mediated through the activation of eNOS expression and activity. This observation is in line with previous research findings that stimulating phosphorylation of Akt at Ser473 and e-NOS at Ser117 by *Rumex acetosa* extract is involved in inducing endothelial NO. [15]

In conclusion EPE, rhizome extract increases NO bioavailability through inhibiting oxidative stress and activating eNOS expression as well as the eNOS/Akt signaling pathway in endothelial cells.

## Acknowledgements

The study was financially supported by the Research Grant of Burapha University through National Research Council of Thailand (Grant no. 43/2558), the Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC), Commission on Higher Education, Ministry of Education of Thailand.

## References

1. Forstermann U, Sessa W. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart J.* 2012;33(7):829–37.
2. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Medicine.* 2006;3(11), e442. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030442>.
3. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang EH, Feletou M. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiol (Oxf)* 2009; 196(2):193-222.
4. Channon KM. The endothelium and the pathogenesis of atherosclerosis. *Medicine.* 2006;34(5):173-77.
5. Forstermann U, Li H. Therapeutic effect of enhancing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and preventing eNOS uncoupling. *Br J Pharmacol.* 2011;164(2):213–23.

6. Ernst E. The efficacy of herbal medicine – an overview. *Fundam Clin Pharmacol*. 2005; 19(4):405-409.
7. Poulsen AD, Phonsena P. Morphological variation and distribution of the useful ginger *Etlingera pavieana* (Zingiberaceae). *Nord J Bot*. 2017;35(4):467–75.
8. Srisook E, Palachot M, Mankhong S, Srisook K. Anti-inflammatory effect of *Etlingera pavieana* (Pierre ex Gagnep.) R.M.Sm. rhizomal extract and its phenolic compounds in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Pharmacogn. Mag*. 2017;13(50):S230-S35.
9. Srisook K., Srisook E, Nachaiyo W, Chan-In M, Thongbai J, Wongyoo K, et al. Bioassay-guided isolation and mechanistic action of anti-inflammatory agents from *Clerodendrum inerme* leaves. *J Ethnopharmacol*. 2015;165: 94-102.
10. Simin Y, Zhang X, Zheng H, Hu D, Zhang Y, Guan Q, et al. Clematichinenoside inhibits VCAM-1 and ICAM-1 expression in TNF- $\alpha$ -treated endothelial cells via NADPH oxidase-dependent I $\kappa$ B kinase/NF-KB pathway. *Free Radic Biol Med*. 2015;78:190-201.
11. Wallerath T, Deckert G, Ternes T, Anderson H, Li H, Witte K, et al. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2002;106(13):1652-58.
12. Xia F, Wang C, Jin Y, Liu Q, Meng Q, Liu K, et al. Luteolin protects HUVECs from TNF- $\alpha$ -induced oxidative stress and inflammation via its effects on the Nox4/ROS-NF-KB and MAPK pathways. *J Atheroscler Thromb*. 2014; 21(8):768-83.
13. Wattanapitayakul SK, Suwatronnakorn M, Chularojmontri L, Herunsalee A, Niumsakul S, Charuchongkolwongse S, et al. *Kaempferia parviflora* ethanolic extract promoted nitric oxide production in human umbilical vein endothelial cells. *J. Ethnopharmacol*. 2007; 110(3):559–62.
14. Koltermann A, Hartkorn A, Koch E, Fürst R, Vollmar AM, Zahler S. *Ginkgo biloba* extract EGb761 increases endothelial nitric oxide production in vitro and in vivo. *Cell Molec Life Sci*. 2007;64:1715-22.
15. Sun YY, Su XH, Jin JY, Zhou ZQ, Sun SS, Wen JF, et al. *Rumex acetosa* L. induces vasorelaxation in rat aorta via activation of PI3-kinase/Akt- AND Ca(2+)-eNOS-NO signaling in endothelial cells. *J Physiol Pharmacol*. 2015;66(6):907-15.



## Research Article

**Anti-*Helicobacter pylori* activity of Thai local vegetables**

Chanchai Sripakorn<sup>1</sup>, Tanittha Chatsuwat<sup>2</sup>, Jaturong Pratuangdejkul<sup>3</sup>, Veena Nukoolkarn<sup>4</sup>,  
Pattamapan Lomarat<sup>1</sup>, Vimol Srisukh<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400

<sup>2</sup> Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

<sup>3</sup> Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400

<sup>4</sup> Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400

\* Correspondence to: vimolsrisukh@gmail.com

**Naresuan Phayao J.** 2018;11(1):29-32.

**Abstract**

*Helicobacter pylori* has been found in the stomach of humans in all parts of the world. *H. pylori* infection increases risk of peptic ulcer and is associated with stomach cancer, and several life-threatening diseases. The study was aimed to investigate anti-*H. pylori* activity of Thai local vegetables which have potential to be developed as Nutraceuticals or Functional Foods for people of all ages, especially those suffering from *H. pylori*-associated gastrointestinal diseases. Eleven aqueous and ethanolic extracts of 4 Thai local vegetables, namely, *Boesenbergia rotunda* (Linn.) Mansf., *Kaempferia galanga* Linn., *Polygonum odoratum* Lour., and *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. were screened for anti-*H. pylori* activity, using disc diffusion method. Three types of ethanolic extracts of *P. amboinicus* were selected for Minimum Inhibitory Concentration determination, using agar dilution test. The ethanolic extract from dried leaves and young shoots exhibited the lowest MIC of 256 µg/mL.

**Keywords:** Anti-*H. pylori*, *B. rotunda*, *K. galanga*, *P. odoratum*, *P. amboinicus*

**Introduction**

*Helicobacter pylori* has been demonstrated in the human and some primate animal stomach. The bacterial infection has negative impact in human well-being because not only it is estimated that half of the world's population is infected with this type of infection, [1,2] but also because this chronic infection can lead to peptic ulcer diseases affecting the quality of life of patients. There is clear evidence that *H. pylori* infection is associated with stomach cancer, gastric non-Hodgkin's lymphoma, lymphoproliferative disorder, gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma (MALToma). [3] In 1994, the International Agency for Cancer Research of World Health Organization (WHO) declared that *H. pylori* is a carcinogen in human stomach. *H. pylori* infection may be contagious through drinking water and contaminated fresh foods. [4] Humans with this infection were infected from childhood and chronically infected until the infection is treated and finally cured. Thailand is the area where the prevalence of this disease is high because our country is a developing country with rural sanitation problems. In Thailand, Diagnostic and therapeutic approaches for

diagnosing and treating dyspepsia in patients with *H. pylori* infection was set by the Gastroenterology Association of Thailand 2015; the recommendation was the removal of *H. pylori* in patients with all stages of gastric cancer. The first-line therapy is standard PPI-based triple therapy. [5] Since drug-resistant strains of *H. pylori* and poor treatment response are the main reasons for the failure in eradicating it in patients, there have been searches for other alternative therapy, e.g. foods, nutrients, or other compounds.

In Thailand, it has been reported that several local vegetables, especially those in the spice group, exhibited anti-infectious activity against gastrointestinal infections, including *H. pylori*. [6,7] Thus, the use of appropriate diet could reduce levels of *H. pylori* colonization or virulence and prevent or delay development of peptic ulcer or gastric carcinoma, is attractive from a number of perspectives including those of cost, and treatment tolerability.

The study was aimed to screen the anti *H. pylori* activities of some Thai vegetables which have not been thoroughly investigated.

## Material and Method

The edible parts of four Thai vegetables, including rhizomes of *Boesenbergia rotunda*, rhizomes of *Kaempferia galanga*, leaves and young shoots of *Polygonum odoratum*, and leaves of *Plectranthus amboinicus*, were dried and grounded to fine powders. Plant powders were extracted by two edible solvents, including water, and 95% ethanol. Aqueous plant extracts were evaporated, using a lyophilizer. Ethanolic plant extracts were evaporated, using a rotary evaporator.

### *H. pylori* strain

*H. pylori* bacterial strain was obtained from Department of Microbiology, Faculty of Medicine,

Chulalongkorn University. Columbia blood agar containing 10 mg/L vancomycin and 5 mg/L trimethoprim was used as the selective medium. The inoculum plates were subcultured, and incubated under microaerophilic condition at 37°C until there were no contaminations.

### Disc Diffusion Test

Discs containing 0.5, 1.0, and 1.5 mg of the plant extracts were prepared. *H. pylori* inoculum suspension was prepared following direct colony suspension method, using brain-heart infusion (BHI) broth. The turbidity of the suspension was adjusted to be equivalent to 3 McFarland standards with the absorbance of 0.582 at the wavelength of 600 nm, using a spectrophotometer. The inhibition zones were measured from the top of plates using a caliper or a ruler.

### Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) by agar dilution test

Determination of MIC of 3 solvents, including 95% ethanol, dimethyl sulfoxide (DMSO), tween 20 (polysorbate 20), were performed. The two-fold serial dilution agar containing 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 µg/mL of the selected plant extracts were prepared. Each plant extract was dissolved in 1% DMSO + 0.025% Tween 20 in water. Growth control and blank control plates were performed. The plates were inoculated with 2 µL of the 3 McFarland - *H. pylori* inoculum suspension (on top and incubated for 72 h. The lowest concentration that had no growth of *H. pylori* was recorded as MIC.

## Results

The antimicrobial activity, disc diffusion, of three aqueous and six ethanolic plant extracts were demonstrated. (Table 1)

**Table 1** Antimicrobial activity of the extracts, using disc diffusion test

Plant	Part used	Type of extract	Clear zone diameter (mm)		
			0.5 mg/disc	1.0 mg/disc	1.5 mg/disc
<i>P. amboinicus</i>	Fresh aerial part	Aqueous extract	No zone	No zone	No zone
		Ethanollic extract	13	ND	ND
	Dried young shoots and leaves	Aqueous extract	No zone	No zone	No zone
		Ethanollic extract	10	16	ND
<i>B. rotunda</i>	Dried rhizomes	Aqueous extract	No zone	No zone	No zone
		Ethanollic extract	12	16	ND
	Water-extracted rhizomes	Ethanollic extract	14	18	ND
<i>P. odoratum</i>	Dried young shoots and leaves	Aqueous extract	No zone	No zone	No zone
		Ethanollic extract	12	15	ND
<i>K. galanga</i>	Dried rhizomes	Ethanollic extract	20	21	ND

Disc diameter = 6 mm, ND = not determined

MICs of 3 solvents, including 95%ethanol, dimethyl sulfoxide (DMSO), tween 20 (polysorbate 20), using agar dilution test were 3, 3, and 0.1% v/v in water, respectively.

The ethanollic extracts of *P. amboinicus* were selected for further MIC of determination. MIC of the ethanollic extract of the dried young shoot and leaves against *H. pylori* was 256 µg/mL, while the ethanollic extract of fresh aerial part and ethanollic extract of water-extracted sample of dried young shoots and leaves were 1,024 and more than 1,024 µg/mL, respectively.

## Discussion

The inhibition zone of 0.5 mg/disc of crude ethanollic extracts of *P. amboinicus*, *P. odoratum*, *B. rotunda*, and *K. galanga* were 10, 12, 12, 20 mm, respectively. Considering their anti-*H. pylori* activity, availability, and consumer's acceptability, *K. galanga* was excluded, in spite of promising inhibition zone result, because of its strong odor and flavor-the obstacle for product development. Among crude ethanollic plant extracts, three types of *P. amboinicus* extracts were selected for the determination of the MIC by several factors

including their anti-*H. pylori* activity and higher potential to be further developed as nutraceuticals or functional foods. According to MIC determination of solvents, 1% DMSO and 0.025% tween 20 affected *H. pylori* growth similar to the growth control.

Ninety-five percent ethanol was not included in the solvent mixture because 1% DMSO + 0.025% tween 20 mixture was able to dissolve the three ethanollic extracts of *P. amboinicus* completely, thus minimizing the inhibitory effect of the solvents against *H. pylori* growth. The selected solvent (1% DMSO + 0.025% tween 20) was used for the MIC determination of the three crude ethanollic extracts of *P. amboinicus*. The dried leaves and young shoots extract had exhibited the lowest MIC of 256 µg/mL, and was much lower than fresh aerial part extract. It might be resulted from 95% ethanol which could penetrate into the dried plant tissue and the bioactive compounds were easily extracted. On the other hand, the plant tissue of the fresh aerial parts contained high water content, thus the solvent system became more hydroalcoholic.

The other solute compounds without anti-*H. pylori* activity might cause the dilution effect of the active compounds. Moreover, ethanolic extract of water-extracted sample from dried leaves and young shoots exhibited the highest MIC; this might be from the exclusion of some bioactive compounds during water extraction. The crude ethanolic extract from dried shoots and leaves of *P. amboinicus* had shown potential to be further developed as a nutraceuticals or functional foods in future study.

### Acknowledgements

The research work is partly supported by Faculty of Pharmacy, Mahidol University, and Graduate Studies of Mahidol University Alumni Association.

### References

1. Perez-Perez GI, Rothenbacher D, Brenner H. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2004;9(Suppl 1):S1-6.
2. Pounder RE, Ng D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *Aliment Pharmacol Ther*. 1995;9(Suppl 2):S33-9.
3. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu Rev Microbiol*. 2000;54:615-40.
4. Hegarty JP, Dowd MT, Baker KH. Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. *J Appl Microbiol*. 1999;87(5):697-701.
5. Mahachai V, Vilaichone RK, Pittayanon R, Rojborwonwitaya J, Leelakusolvong S, Kositchaiwat C, et al. Thailand Consensus on *Helicobacter pylori* Treatment 2015. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*. 2016;17(5):2351-60.
6. Bhamarapavati S, Pendland SL, Mahady GB. Extracts of spice and food plants from Thai traditional medicine inhibit the growth of the human carcinogen *Helicobacter pylori*. In vivo (Athens, Greece). 2003;17(6):541-4.
7. Bhamarapavati S, Juthaprueth S, Mahachai W, Mahady G. Antibacterial activity of *Boesenbergia rotunda* (L.) mansf. and *Myristica fragrans* houtt. against *Helicobacter pylori*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 2006;28(1):157–163.

## Research Article

## An analysis of conceptual smart residence model requirement for ASEAN economic community

Achara Jivacate<sup>1\*</sup>, Wattanapong Rakwichian<sup>1</sup>, Prapita Thanarak<sup>2</sup>, Watchara Wongpanyo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> School of Energy and Environment, University of Phayao, Phayao Province 56000

<sup>2</sup> School of Renewable Energy Technology, Naresuan University, Phitsanulok Province 65000

\* Correspondence to: acharaj@ratch.co.th

Naresuan Phayao J. 2018;11(1):33-36.

### Abstract

The study was aimed to analyze the residence requirement for ASEAN Economic Community (AEC). The survey with structure questionnaire was conducted among 385 residents in AEC region, between August 2016 and June 2017. The results are able to demonstrate requirement for smart residence system in AEC region. Additionally, the conceptual smart residence design which is appropriate to AEC region with the system to create and manage energy for energy saving has been addressed.

**Keywords:** Smart grid, smart residence, advanced metering infrastructure, internet of things

### Introduction

According to the higher averaged temperature affected by El Niño phenomenon, [1] the population of ASEAN Economic Community (AEC) increase to 633 million people in 2015 [2] impacted on the higher fuel and energy consumption, [3] the era of a growing awareness of the environmental conservation, electricity generation industry can be beneficial since it reduces fossil energy sources as well as increases share of renewable energy. Moreover, the self-supplied energy supply with renewable energy (solar, wind, etc.) which generates electricity for use in residence is one of methods for energy management, helps to reduce volume of greenhouse gas emissions and cut expenses on electricity bills.

Additionally, the sustainable energy management in the near and far future must base on linkage between the systems of generation, transmission and distribution. In the form of two way communication [4] which the sources of electricity production spread over potential local areas of renewable energy, the consumers can generate electricity for use in their residences. In the case that electricity generation is not adequate for utilization, so they can use electricity from outside their residences or generate emergency electricity from energy storage system. Furthermore, the more electricity is generated, it may be kept in energy storage system or sold back to the grid system (micro or community or national or international grid) for the purpose of distribution for other consumers. Purchasing and selling activity in energy system will take place. Consequently, the development of electricity network and Smart Grid and Smart Residence was emerged, with two-way communication and energy management system in the residence was based on advanced metering infrastructure (AMI) system. [4,5] It is mutual working between the systems of AMI and internet of things (IoTs). [6] The residence is the starting point of smart lifestyle in the future. It is comfortable

life that people will have more time for other activities in daily life and conserve environment at the same time.

Based on a study in 2014, [7] there are four factors for making smart residence popular by the reasons of: 1) saving on energy and reduce electricity bills; 2) having the clear benefits for more comfortable life; 3) promoting positive environmental impact, the quality of life, and reduction in fossil fuel consumption; and 4) observing and detect energy consumption data. Also, there are six problems in acceptance and development of the smart residence market by the reasons of: 1) the challenge to design within limitations; 2) ability to operate; 3) security and reliability; 4) privacy and safety; 5) prices, expenses and running costs; and 6) difficulty in using smart technology.

Similarly, an another research in 2017, [8] stated that Home Energy Management System (HEMS) has six interesting challenges in case of smart home development into commerce as follows: 1) the residents choose to adapt themselves instead of buying new house; 2) smart system of appliances in accordance with recognized international standards; 3) privacy and safety; and 4) the consumers' concerns about high costs.

The study was aimed to analyze the requirement of residence system in AEC: its development potentialities of conceptual smart residence system model with the hypothesis that personal factors relate with consumption behavior or lifestyle of the respondents.

## Material and Method

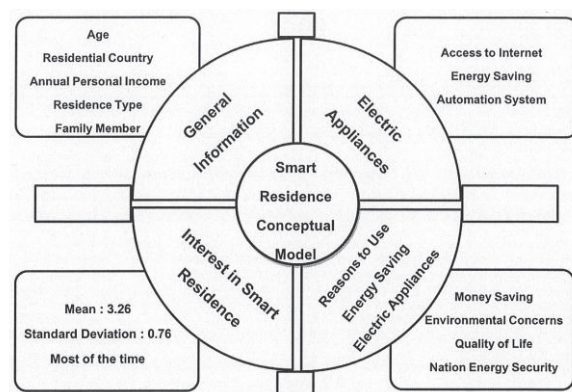
Data collection and analysis were conducted to identify demographic factor and behaviors of the 385 residents among 10 countries in AEC. The validation and reliability of questionnaire were tested by the experts of energy and business field.

The index of item-objective congruence (IOC) was utilized, and its IOC was 0.93 to analyze the requirement for the residence system in AEC. The design framework and flow chart of conceptual smart residence included: tool (questionnaire), method (instrument test), and then conceptual smart residence model.

The total of 385 sampling residents was representatives for the total of the 632,282,000 population in AEC. [2] The formula of Krejcie and Morgan was introduced, [9] at a 0.05 level of error. The data were analyzed as number, percentage, and standard deviation.

## Results

Figure 1 demonstrates the result framework of the respondents with the following details.



**Figure 1** Result framework

The subjects and proportion (subjects, %) of all major variables were distributed. The respondent age-groups were 25 to 30 years old (107, 27.7), 31 to 40 years old (106, 27.5), and 41 to 50 years old (108, 28.05), and the remains were 51 to 60 years old and over. The three main residents were Thai (114, 37.4), Malaysia (97, 25.1) and Cambodia (31, 8.0), respectively. While the annual personal income was less than USD 20,000 (207 subjects, 53.7), USD 30,000 to 39,999 (52 subjects, 13.5) and 40,000 to 49,999 (40 subjects, 10.3) and the



rest was higher. The three main types of residence were detached and single house (188, 48.8), attached house (91, 23.6) and apartment or condominium (73, 18.9). The resident persons were 1 to 3 (139, 36.1), 4 to 6 (212, 55.0), and 7 to 10 (9, 2.3).

In addition for multiple answer question, the access to internet were reported on mobile phone (279, 29.6), at office (211, 22.4) and by public WIFI (175, 18.6). The three major of energy saving electric appliances were air condition system (220, 33.1), television (141, 21.3) and computer (84, 12.6). However, the reason of energy efficient electric appliances were money saving (339, 35.8), environment concern (239, 25.5) and quality of life (168, 17.7). Briefly, the mean (standard deviation – SD) of interest in smart residences, in 4-point scale, was rather high of (3.26, 0.76). On probe-demand revealed having right to own the six-people lodging, preferring smart residence and focusing on money saving as well.

## Discussion

The habitat with smart residence is seem to be a key component and various conceptual models were offered, for example the lodging of 85 square meters with two bed rooms and other utilized spaces such as kitchen, rest room, living room and parking with affordable price at 850,000 Bahts (excluding agriculture land, electric appliances, solar energy generating systems and information technology system). Near future, it is expected 90 million people living in smart residence and its facilities with distant remote sensing. [10-12]

## Acknowledgements

The authors would like to acknowledge all respondents, express our gratitude to Ms. Nawanut Srisuksai, Suandusit University who validated the

questionnaire and made the comment on the survey findings, as well as Mr. Natchais Srisukpornchai, Managing Director of “Designed by Ping”, Mr. Sakchai Krungsrimuang, Renewable Energy Project Development Division, Electricity Generating Authority of Thailand (EGAT) for their valuable advices.

## References

1. National Centers for Environmental Information. National Climate Report – Annual 2014. North Carolina, USA: NCEI; 2014. Available from: <https://www.ncdc.noaa.gov/sotc/global/201413>
2. Department of Economic and Social Affairs, Population Division, United Nations. World population prospects: The 2015 revision. New York: United Nations; 2015. Available from: [https://esa.un.org/unpd/wpp/publications/files/key\\_findings\\_wpp\\_2015.pdf](https://esa.un.org/unpd/wpp/publications/files/key_findings_wpp_2015.pdf)
3. Hill JS. Annual renewable energy investment set to sky-rocket by 2030. Clean Technica; 2013. Available from: <http://cleantechnica.com/2013/04/25/annual-renewable-energy-investment-set-to-sky-rocket-by-2030>
4. Gerhardt W. Prosumers: A new growth opportunity. CISCO; 2008. Available from: [https://www.cisco.com/c/dam/en\\_us/about/ac9/docs/wp/Prosumer\\_VS2\\_POV\\_0404\\_FINAL.pdf](https://www.cisco.com/c/dam/en_us/about/ac9/docs/wp/Prosumer_VS2_POV_0404_FINAL.pdf)
5. Fujisawa SST Council. Fujisawa sustainable smart town. Panasonic Corporation: Tokyo, Japan; 2017. Available from: <http://fujisawasst.com/EN/pdf/FSST-ConceptBook.pdf>
6. Risteska Stojkoska BL, Trivodaliev KV. A review of internet of things for smart phone: Challenges and solutions. J Cleaner Production. 2017;140 Pt 3;1454-64.
7. Balta-Ozkan N, Boteler B, Amerighi O. European smart home market development: Public views on technical and economic

- aspects across the United Kingdom, Germany and Italy. *Energy Res Soc Sci*. 2014;3:65-77.
8. Fabi F, Spigiantini G, Corgnati SP. Insights on smart home concept and occupants' interaction with building controls. *Energy Procedia*. 2017;111:759-69.
  9. Krejcie RV, Morgan DW. Determining sample size for research activities. *Psychological measurement. Educ Psycho Meas*. 1970;30: 607-10.
  10. Jacobsson A, Boldt M, Carlsson B. A risk analysis of a smart home automation system. *Future Gener Comp Sy*. 2016;55(C):719-33.
  11. Chan M, Campo E, Esteve D, Fourniols JY. Smart homes - Current features and future perspectives. *Maturitas*. 2009;64(2):90-7.
  12. De Silva LC, Morikawa C, Petra IM. State of the art of smart homes. *Eng Appl Artif Intel*. 2012;25(7):1313-21.



## บทความวิจัย (Research Article)

ผลของการออกกำลังกายฤๅษีตดต่นต่อความอ่อนตัวและคุณภาพชีวิตในผู้สูงอายุ  
ปราณี ไกกาศ<sup>1</sup> เพ็ญประภา ศิริโรจน์<sup>2\*</sup> รัตนา พันธุ์พานิช<sup>2</sup>

**Effects of ascetic exercise on flexibility and quality of life in elderly**

Pranee Jaikat<sup>1</sup>, Penprapa Siviroj<sup>2\*</sup>, Ratana Panpanit<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Master of Public Health Program, Faculty of Public Health, Chiang Mai University, Chiang Mai Province 50200

<sup>2</sup> Department of Community Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai Province 50200

\* Correspondence to: psiviroj@gmail.com

Naresuan Phayao J. 2018;11(1):37-40.

**บทคัดย่อ**

การศึกษามุ่งหมายกำหนดหาผลของการออกกำลังกายฤๅษีตดต่น ทำพื้นฐาน 15 ท่า ต่อความอ่อนตัวของกล้ามเนื้อและคุณภาพชีวิต วัดผลลัพธ์ด้วยการประเมินความอ่อนตัวของหัวไหล่ หลัง สะโพก และกล้ามเนื้อขาด้านหลัง ด้วยการทดสอบนั่งงอตัวไปด้านหน้าและมือไขว้หลังและกัน กับประเมินคุณภาพชีวิตด้วย WHO QOL-brief-Thai สัปดาห์ที่ 4, 8, และ 12 หลังจากเข้ารับการทดลองสัปดาห์ที่ 12 พบค่าเฉลี่ยทั้งหมดของนั่งงอตัวไปด้านหน้า มือไขว้หลังและกัน และคะแนนคุณภาพชีวิตโดยรวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ )

**คำสำคัญ:** ฤๅษีตดต่น ความอ่อนตัว คุณภาพชีวิต ผู้สูงอายุ

**Abstract**

The aim of the study was to determine the effects of ascetic exercise, 15 basic maneuvers, on muscle flexibility, and quality of life. The outcome of muscle flexibility, back hip and shoulder, was assessed using sit and reach test, and back scratch test. Quality of Life was evaluated by WHO QOL-brief-Thai at 4-, 8-, and 12- week. After 12-week admission, all of mean using sit and reach test, mean back scratch test, and mean quality of Life score were improved with statistical significance ( $p<0.05$ ).

**Keywords:** Ascetic exercise, flexibility, quality of life, elderly

**บทนำ**

ปัจจุบันประชากรสูงอายุ (อายุมากกว่า 60 ปี) ทั่วโลกเพิ่มสูงขึ้นประมาณการปีพ.ศ. 2558 ประชากรโลกร้อยละ 12 เป็นผู้สูงอายุ ส่วนประเทศไทยประชากรสูงอายุเท่ากับร้อยละ 16 ของประชากรทั้งประเทศ [1] และเพิ่มจำนวนทุกปี ผู้สูงอายุประสบการเปลี่ยนแปลงหลายด้าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสมรรถภาพทางร่างกายเสื่อมถอยลง กล้ามเนื้อลดความแข็งแรง ทนทาน และ อ่อนตัว ส่งผลต่อความสามารถเคลื่อนไหวของร่างกาย เพิ่มความเสี่ยงการบาดเจ็บ

<sup>1</sup> หลักสูตรสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup> ภาควิชาเวชศาสตร์ชุมชน คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

เจ็บของกล้ามเนื้อขณะเคลื่อนไหว การเจ็บปวดตามร่างกาย และภาวะเรียก กลุ่มอาการสูงอายุ (geriatric syndrome) ประกอบด้วย ภาวะหกล้ม (fall) เป็นเหตุเกิดการบาดเจ็บร้อยละ 24 [2] และอาจเสียชีวิต [3] กลุ่มอาการผู้สูงอายุเป็นลักษณะโดดเด่นของภาวะสุขภาพที่พบบ่อย อย่างเช่น เลอะเลือน กลั้นอุจจาระปัสสาวะไม่ได้ เปราะบาง [4] ผู้สูงอายุผู้อยู่ในสภาพพึ่งพาผู้อื่น ย่อมส่งผลกระทบต่อร่างกาย จิตใจ และคุณภาพชีวิต กระนั้นการออกกำลังกายอย่างเช่น โยคะ ไทชิ และซิงก ช่วยปรับปรุงความอ่อนตัวของกล้ามเนื้อ [5] การทรงตัว [6] และคุณภาพชีวิต [5,7-8]

ฤๅษีจัดตนเป็นการออกกำลังกายอันเน้นการยืดเหยียด หด งอ บิด ดัดร่างกายด้วยนานาท่าทาง รวมถึงเคลื่อนไหวร่างกายอย่างช้า การฝึกกลมหายใจ และสมาธิ คล้ายคลึงกับการฝึกและซิงก จากท่าฤๅษีจัดตนดั้งเดิมราว 127 ท่า สถาบันการแพทย์แผนไทยคัดเลือกท่าพื้นฐาน 15 ท่า ประยุกต์ใช้เป็นการเคลื่อนไหวอย่างต่อเนื่อง ครอบคลุมทุกส่วนของร่างกายตั้งแต่ คอ ไหล่อก ท้อง เอว เข่า และเท้า [9] อาจฝึกฝนฤๅษีจัดตนเพื่อเพิ่มความอ่อนตัวสำหรับผู้สูงอายุ [9,10] วัยรุ่นและผู้ใหญ่ [11] และสมรรถภาพของหัวใจและหลอดเลือด [12] คณะผู้วิจัยมุ่งหมายกำหนดหาผลของการออกกำลังกายฤๅษีจัดตนในผู้สูงอายุต่อความอ่อนตัวของกล้ามเนื้อ และคุณภาพชีวิต

## วัสดุและวิธีการ

ศึกษาเชิงทดลองเบื้องต้น (pre-experimental design) แบบการทดลองกลุ่มเดี่ยว ปราศจากกลุ่มควบคุมและไม่มีการสุ่ม วัดผลก่อนและหลังการทดลอง กลุ่มตัวอย่างประกอบด้วยผู้สูงอายุของชุมชนหนึ่งในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 26 คน อายุระหว่าง 60 ถึง 79 ปี เป็นผู้พึ่งพาตนเองได้ ปราศจากประวัติการใช้ยานอนหลับภายใน 1 เดือนก่อนการศึกษา ไม่เป็นผู้สูงอายุผู้ที่แพทย์ไม่แนะนำให้ออกกำลังกาย ไม่ป่วยเป็นโรคเกี่ยวกับ หัวใจ ประสาทสมอง สูญเสียการมองเห็น สูญเสียการได้ยิน เบาหวานระดับน้ำตาลมากกว่า 200

มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และความดันโลหิตมากกว่า 180/110 มิลลิเมตรปรอท

ออกกำลังกายท่าฤๅษีจัดตนท่าพื้นฐาน 15 ท่า ประยุกต์ใช้ทำยืน นอน และนั่งอย่างต่อเนื่อง 5 นาที แบ่งเป็นอบอุ่นร่างกาย (warm up) 5 นาที ออกกำลังกาย 45 นาที และคลายอุ่น (cool down) 5 นาที ฝึก 5 ครั้งต่อสัปดาห์ นาน 12 สัปดาห์

ประเมินความอ่อนตัวของหัวไหล่ หลัง สะโพก และกล้ามเนื้อขาด้านหลัง ด้วยการทดสอบมือไขว้หลังแตะกัน (back scratch test) และนั่งงอตัวไปด้านหลัง (sit and reach test) สัปดาห์ที่ 0 (รับเข้า), 4, 8, และ 12 วัดสองครั้งและบันทึกค่าที่ดีที่สุด [13] ประเมินคุณภาพชีวิตด้วย WHO QOL-brief-Thai ประกอบด้วยคำถาม 26 ข้อ ครอบคลุม 4 ด้าน ได้แก่ กายภาพ จิตใจ สังคม และสิ่งแวดล้อม [14] สัปดาห์ที่ 0 และ 12 วิเคราะห์ข้อมูลเป็นร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ใช้การทดสอบ paired-t test เปรียบเทียบข้อมูลภายในกลุ่ม โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า  $p < 0.05$

## ผลการศึกษา

ผู้เข้าร่วมศึกษาส่วนใหญ่อายุเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) เท่ากับ 66.45 (5.75) ปี เป็นเพศหญิง (ร้อยละ 96.1) สมรสแล้ว (ร้อยละ 57.7) การศึกษาระดับประถมศึกษา (ร้อยละ 84.6) อาชีพรับจ้าง (ร้อยละ 30.7) รายได้ 1,000 ถึง 5,000 บาท (เกือบกึ่งหนึ่ง) อยู่ตามลำพัง (ร้อยละ 92.3) มีโรคประจำตัว (ร้อยละ 53.8) ส่วนน้ำหนักตัวเฉลี่ย 49.54 (8.7) กิโลกรัม ส่วนสูงเฉลี่ย 150.19 (5.804) เซนติเมตร ดัชนีมวลกาย 21.89 (3.488) กิโลกรัมต่อเมตร<sup>2</sup>

ค่าเฉลี่ยทดสอบนั่งงอตัวไปด้านหลัง การทดสอบมือไขว้หลังแตะกัน และ ประเมินคุณภาพชีวิตด้วย WHO QOL-brief-Thai สัปดาห์ที่ 4, 8, และ 12 หลังจากเข้าเข้าการทดลองสัปดาห์ที่ 12 พบทั้งค่าเฉลี่ยความอ่อนตัวของหลัง สะโพก กล้ามเนื้อขาด้านหลัง และหัวไหล่ กับคะแนนคุณภาพชีวิตโดยรวมเพิ่มขึ้นอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตาราง 1 ผลของการออกกำลังกายชนิดตัดต่อความอ่อนตัวและคุณภาพชีวิต

N = 26	ค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)			
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
นั่งงอตัวไปด้านหลัง	14.04 (6.440)	15.00 (6.027)	15.83 (6.932)*	17.54 (6.008)*
มือไขว้หลังแตะกัน				
มือซ้ายอยู่บน	27.73 (11.821)	24.65 (12.103)*	24.0 (10.591)*	20.85 (10.795)*
มือขวาอยู่บน	24.23 (10.805)	22.23 (11.573)*	20.31 (10.174)*	18.48 (8.837)*
คุณภาพชีวิต	112.19 (11.143)	-	-	118.61 (9.839)*

\* นัยสำคัญทางสถิติ p&lt;0.05

## วิจารณ์

หลังออกกำลังกายชนิดตัดต่อในผู้สูงอายุ 12 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยทั้งหมดของนั่งงอตัวไปด้านหลัง มือไขว้หลังแตะกัน และคะแนนคุณภาพชีวิตโดยรวม เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาในวัยรุ่นและผู้ใหญ่ [10,15] และการศึกษาแบบควบคุมสุ่มอิสระหนึ่งของประเทศออสเตรเลียที่รายงานการออกกำลังกายชนิดตัดต่อในผู้สูงอายุ นาน 90 นาที สองครั้งต่อสัปดาห์ เพิ่มค่าเฉลี่ยทั้งหมดของนั่งงอตัวไปด้านหลัง มือไขว้หลังแตะกัน และกิจกรรมกายภาพอื่นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่ถึงกับมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของการทำหน้าที่ทางกายภาพ [9] รวมทั้งคล้ายคลึงกับการศึกษาการออกกำลังกายโยคะ [5,8]

ด้วยข้อเท็จจริงว่า กระบวนการของวัยสูงอายุ นำไปสู่การสูญเสียมวลกล้ามเนื้อและความแข็งแรง โดยความแข็งแรงกล้ามเนื้อลดลง จากเมื่ออายุน้อยกว่า 40 ปีลดลงร้อยละ 16.6 กลายเป็นลดลงร้อยละ 40.9 เมื่ออายุมากกว่า 40 ปี [16]

ดังนั้นสำหรับผู้คนจำนวนหนึ่งการออกกำลังกายชนิดตัดต่อเป็นกิจกรรมเพิ่มความแข็งแรงในกลุ่มผู้สูงอายุ รวมทั้งสามารถเสริมสร้างชีวิตชีวาและสนุกสนาน เช่นเดียวกับการออกกำลังกายรูปแบบอื่นๆ

สรุปการออกกำลังกายชนิดตัดต่อเป็นกิจกรรมหนึ่งในการเสริมสร้างสุขภาพทั่วไป

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ รพ.สต. บ้านหนองไคร้ ผู้อำนวยการความสะอาดในการศึกษา รวมถึงพระครูโสภิตศีลคุณ สุพุทธสิโล เจ้าอาวาสวัดสันป่าสักผู้อนุเคราะห์สถานที่

## เอกสารอ้างอิง

1. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables. Working Paper No. ESA/P/WP.241.
2. Burt CW, Fingerhut LA. Injury visits to hospital emergency departments: United States, 1992-95. Vital Health Stat 13. 1998;(131):1-76.
3. Runge JW. The cost of injury. Emerg Med Clin North Am. 1993;11(1):241-53.
4. Inouye SK, Studenski S, Tinetti ME, Kuchel GA. Geriatrics syndromes: Clinical, research, and policy implication of a core geriatric concept. J Am Geriatr Soc. 2007;55(5):780-91.
5. Gonçalves LC, Vale RG, Barata NJ, Varejão RV, Dantas EH. Flexibility, functional autonomy and quality of life (QoL) in elderly yoga practitioners. Arch Gerontol Geriatr. 2011;53(2):158-62.
6. Nguyen MH, Kruse A. A randomized controlled trial of Tai chi for balance, sleep quality and cognitive performance in elderly Vietnamese. Clin Interv Aging. 2012;7:185-90.
7. Lau C, Yu R, Woo J. Effects of a 12-week Hatha Yoga Intervention on metabolic risk and quality of life in Hong Kong Chinese adults with and without metabolic syndrome. PLoS ONE. 2015;10(6):e0130731.
8. Hariprasad VR, Sivakumar PT, Koparde V, Varambally S, Thirthalli J, Varghese M, et al.

- Effects of yoga intervention on sleep and quality-of-life in elderly: A randomized controlled trial. *Indian J Psychiatry*. 2013;55 (Suppl 3):S364-8.
9. Noradechanunt C, Worsley A, Groeller H. Thai Yoga improves physical function and well-being in older adults: A randomised controlled trial. *J Sci Med Sport*. 2017;20(5): 494-501.
  10. Yoadsomsuay P, Kietinun S, Pattaraarchachai J, Neimpoog. The effect of an ascetic exercise program on the physical performance of the elderly in Tambon Kukot, Lumlookka District, Pathumthani Province. *Thammasat Med J*. 2006;6(2):158-67.
  11. Suttijit S, Sukonthasab S. The effects of Ruesee-Dudton exercises on flexibility and body balance of the elderly. *J Sport Sci Health*. 2010;11(1):12-20.
  12. Buranruk O, La Grow S, Ladawan S, Makarawate P, Suwanich T, Leelayuwat N. Thai Yoga as an appropriate alternative physical activity for older adults. *J Complement Integr Med*. 2010;7(1):
  13. American Collage of Sport Medicine. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. 9th Ed 2014. *J Can Chiropr Assoc*. 2014;58(3):328.
  14. The WHOQOL GROUP. The World Health Organization Quality of Life Assessment (WHOQOL): position paper from the World Health Organization. *Soc Sci Med* 1995; 41(10):1403-9.
  15. Phuangphae A, Khaothin J, Reaunthai R. Effects of ascetic exercise on health related physical fitness in female students of Sukhothai business school. *J Sport Sci Tech*. 2010;10(1):163-83.
  16. Keller K, Engelhardt M. Strength and muscle mass loss with aging process. *Age and strength loss*. *MLTJ*. 2013;3(4):346-50.

## Instruction for Author

## คำแนะนำสำหรับผู้พิมพ์

## บทความตีพิมพ์

**บทความวิจัย** (research article) หมายถึงผลงานวิจัยใหม่หรือประยุกต์ด้านทฤษฎีหรือปฏิบัติ ทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจวิทยาศาสตร์สาขานั้นมากขึ้น สิ่งค้นพบสามารถทำซ้ำ/ทดลองและผลเหมือนเดิม

**บทความทั่วไป** (general article) หมายถึงบทความสำหรับผู้อ่านผู้ไม่ใช่นักวิทยาศาสตร์ เนื้อหาเข้าใจง่าย และเป็นการรวบรวมข้อมูลจากการสังเกต, การสำรวจ และแบบสอบถาม ทั้งรวม/ไม่รวมกับการสัมภาษณ์เชิงลึก, นำมาเชื่อมโยงเขียนเป็นประสบการณ์, ข้อคิดเห็น และข้อเสนอแนะ, เชื่อมโยงกับประเด็นการศึกษา

บทความวิจัยและบทความทั่วไป ประกอบด้วย

**ชื่อเรื่อง** (Title) ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

- กระชับและสะท้อนคำถามการศึกษา (research question) ไม่เกิน 2 บรรทัด
- ควรหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อ การระบุสถานที่ศึกษา, ตำบล, อำเภอ และจังหวัด
- ภาษาอังกฤษขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่ คำถัดไปขึ้นต้นด้วยอักษรตัวเล็ก ยกเว้นเป็นคำนามคำเฉพาะ
- ชื่อเต็มผู้พิมพ์ (ไม่ระบุเพศ ตำแหน่งวิชาการ สถานะบัณฑิตศึกษา),สังกัด และที่อยู่เมลล์อิเล็กทรอนิกส์ของผู้รับผิดชอบ

**บทคัดย่อ** (Abstract) ภาษาไทยและอังกฤษ

- ไม่มีหัวข้อย่อย (subheading) ความยาวไม่เกิน 10 บรรทัด
- คำสำคัญ (Keywords) ประมาณ 3 ถึง 5 คำ ใต้บทคัดย่อ

**การอ้างอิงเอกสาร** (citation)

- การอ้างอิงเอกสารเป็นการบอกแหล่งที่มาของข้อมูลข่าวสาร ที่ผู้พิมพ์นำมาอ้างอิงในการเขียนบทความ เพื่อเป็นเกียรติแก่บุคคลหรือองค์กรผู้เป็นเจ้าของความคิดเดิม เพื่อแสดงเจตนาบริสุทธิ์ว่าไม่ได้ขโมยความคิด หรือลอกเลียนข้อมูลของผู้อื่นโดยปราศจากการอ้างอิง รวมทั้งสะดวกแก่ผู้อ่านผู้ประสงค์จะทราบรายละเอียดและตรวจสอบความถูกต้องจากต้นฉบับเดิม
- ให้อ้างอิงท้ายบทความ อ้างอิงตามระบบหมายเลข (number system) แบบ Vancouver style ใส่ตัวเลขตัวอารบิกภายในวงเล็บใหญ่ต่อท้ายเนื้อหา เรียงหมายเลขตามลำดับการอ้างอิงก่อนหลัง

**บทนำ** (Introduction)

- ทบทวนปูมหลังของประเด็นการศึกษา, ความสำคัญกับความสัมพันธ์กับสิ่งพบก่อนหน้านี้ และระบุสมมุติฐาน/คำถามวิจัย
- เน้นอ้างอิงข้อมูลข่าวสารมือแรก (first-hand information) อันสะท้อนพื้นฐานของวิทยาศาสตร์ (scientific ground) ตรงประเด็นกับชื่อเรื่อง, สมมุติฐาน/คำถามวิจัย

**วัสดุและวิธีการ** (Material and Method)

- การออกแบบการศึกษา, กระบวนการ, ผู้เข้าร่วมการศึกษา, การวัด/ประเมินค่า และสถิติที่ใช้

### ผลการศึกษา (Results)

- สารสำคัญของข้อมูล, ตาราง, กราฟ, ผังภาพ, รูปภาพ และนัยสำคัญ เทียบเคียงกับสมมุติฐาน/คำถามวิจัย ด้วยวิธีการสถิติ หนึ่ง หากการบรรยายสาระสำคัญของข้อมูลเป็นที่เข้าใจ ไม่จำเป็นต้องมีกราฟ, ผังภาพ และรูปภาพ ยกเว้นมีนัยสำคัญอื่น

### วิจารณ์ (Discussion)

- ไม่รวมหัวข้อผลการศึกษาและหัวข้อวิจารณ์เข้าด้วยกันเป็นหัวข้อเดียว
- วิจารณ์นัยสำคัญของผลการศึกษา, ความสำคัญของสิ่งพบเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น, ข้อจำกัดของการศึกษา และทิศทางการวิจัยต่อ
- สรุปในย่อหน้าสุดท้าย

### กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

- ผู้พิมพ์แสดงความขอบคุณต่อผู้สนับสนุนทางการเงิน, ผู้อนุเคราะห์และประสานความร่วมมือการดำเนินการ

### เอกสารอ้างอิง (References)

- ไม่ควรเกิน 40 รายการ
- ควรอ้างบทความตีพิมพ์แล้วในวารสารวิชาการเป็นหลัก ยกตัวอย่าง บทความวิจัยดั้งเดิม (original research article), บทความทบทวนวรรณกรรมระบบเชิงปริมาณ (meta-analysis article), บทความทบทวนเชิงระบบ (systemic review article) และสิ่งตีพิมพ์ในการประชุม (proceeding) อันมีรูปแบบของบทความวิจัย กรณีสิ่งตีพิมพ์ในการประชุมวิชาการเป็นบทความย่อ ไม่ควรนานเกินกว่าสองปีภายหลังการประชุม
- ไม่อ้างอิงบทวิทยานิพนธ์ (thesis), การศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง (independent study) ควรค้นเพิ่มเติมว่าบทวิทยานิพนธ์ที่จะอ้างอิง ได้รับการตีพิมพ์ในระยะเวลาถัดมาหรือไม่
- ไม่ควรอ้างอิงบทความในอินเทอร์เน็ต หากสามารถอ้างอิงบทความในวารสาร, วารสารอิเล็กทรอนิกส์
- การอ้างอิงหนังสืออันเป็นข้อมูลข่าวสารทุติยภูมิ ให้ระบุหาว่าอ้างอิงต่อมาจากข้อมูลข่าวสารปฐมภูมิใด
- รายการเอกสารอ้างอิงท้ายบทความเรียงลำดับตัวเลข

**บทความปริทัศน์** (review article) หมายถึงบทความรวบรวมความรู้เรื่องหนึ่งเรื่องใดอันตีพิมพ์ในนิตยสาร นามานาวิเคราะห์, วิจารณ์, เปรียบเทียบ, สรุปประเด็น และให้ข้อเสนอแนะ อันเกิดความกระจ่างและเป็นแนวทางสำหรับค้นคว้า/วิจัยต่อ

### ชื่อเรื่อง (Title) ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

- กระชับและสะท้อนประเด็นการทบทวน ไม่เกิน 2 บรรทัด ควรหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อ
- ภาษาอังกฤษขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่ คำถัดไปขึ้นต้นด้วยอักษรตัวเล็ก ยกเว้นเป็นคำนามคำเฉพาะ
- ชื่อเต็มผู้พิมพ์ (ไม่ระบุเพศ, ตำแหน่งวิชาการ, สถานะบัณฑิตศึกษา), สังกัด และที่อยู่เมลอิเล็กทรอนิกส์ของผู้รับผิดชอบ



**บทคัดย่อ (Abstract) ภาษาไทยและอังกฤษ**

- ความยาวไม่เกิน 10 บรรทัด
- ไม่มีหัวข้อย่อย
- คำสำคัญ (Keywords) ประมาณ 3 ถึง 5 คำ ระบุใต้บทคัดย่อ

**การอ้างอิงเอกสาร (citation)**

- การอ้างอิงเอกสารเป็นการบอกแหล่งที่มาของข้อมูลข่าวสาร ที่ผู้ค้นพบนำมาอ้างอิงในการเขียนบทความ เพื่อเป็นเกียรติแก่บุคคลหรือองค์กรผู้เป็นเจ้าของความคิดเดิม เพื่อแสดงเจตนาบริสุทธิ์ว่าไม่ได้ขโมยความคิด หรือลอกเลียนข้อมูลของผู้อื่นโดยปราศจากการอ้างอิง รวมทั้งสะดวกแก่ผู้อ่านผู้ประสงค์จะทราบรายละเอียดและตรวจสอบความถูกต้องจากต้นฉบับเดิม
- ให้อ้างอิงท้ายบทความ อ้างอิงตามระบบหมายเลข (number system) แบบ Vancouver style ใส่ตัวเลขตัวอารบิกภายในวงเล็บใหญ่ต่อท้ายเนื้อหา เรียงหมายเลขตามลำดับการอ้างอิงก่อนหลัง

**หัวข้อ (heading)**

- หัวข้ออนุโลมตามเนื้อหาการทบทวน

**เอกสารอ้างอิง (References)**

- ไม่ควรเกิน 40 รายการ
- ควรอ้างบทความตีพิมพ์แล้วในวารสารวิชาการเป็นหลัก ยกตัวอย่าง บทความวิจัยดั้งเดิม (original research article), บทความทบทวนวรรณกรรมระบบเชิงปริมาณ (meta-analysis article), บทความทบทวนเชิงระบบ (systemic review article) และสิ่งตีพิมพ์ในการประชุม (proceeding) อันมีรูปแบบของบทความวิจัย กรณีสิ่งตีพิมพ์ในการประชุมวิชาการเป็นบทคัดย่อไม่ควรนานเกินกว่าสองปีภายหลังการประชุม
- ไม่อ้างอิงบทวิทยานิพนธ์ (thesis) การศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง (independent study) ควรค้นเพิ่มเติมว่าบทวิทยานิพนธ์ ต่อมาได้รับการตีพิมพ์หรือไม่
- ไม่ควรอ้างอิงบทความในอินเทอร์เน็ต หากสามารถอ้างอิงบทความในวารสารหรือวารสารอิเล็กทรอนิกส์
- การอ้างอิงหนังสืออันเป็นข้อมูลข่าวสารทุติยภูมิ ให้ระบุหาว่าอ้างอิงต่อมาจากข้อมูลข่าวสารปฐมภูมิใด
- รายการเอกสารอ้างอิงท้ายบทความเรียงลำดับตัวเลข

**หมายเหตุ**

1. รายละเอียดเพิ่มเติมดูจาก บทความ “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Manuscript Preparation” โดย International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), 2013. Available from: [http://www.icmje.org/manuscript\\_1prepare.html](http://www.icmje.org/manuscript_1prepare.html)
2. เนื้อหาบทความ (ไม่รวมหน้าแรก ตาราง, กราฟ, รูปภาพ เอกสารอ้างอิง) ไม่ควรเกิน 3,500 คำ หรือความยาวไม่เกิน 7 หน้ากระดาษ A4 (ไม่เว้นบรรทัด) ยกเว้นเกี่ยวข้องกับนัยสำคัญของการศึกษา

## รายการเอกสารอ้างอิง

### บทความวารสารบุคคลเป็นผู้นิพนธ์

ชื่อผู้นิพนธ์ใส่ นามสกุล ตัวย่อชื่อกกลางชื่อดั้น, รายชื่อผู้นิพนธ์ 6 คนหรือน้อยกว่า ใส่รายชื่อทุกคน, กรณีรายชื่อผู้นิพนธ์มากกว่า 6 คน ใส่รายชื่อ 6 คนแรกตามด้วย et al. ตามด้วยชื่อเรื่อง. วารสารใช้ชื่อย่อ. ปีค.ศ.;ปีที่(ฉบับที่):หน้าแรก-หน้าสุดท้าย. หากเลขหลักร้อยหลักสิบของหน้าสุดท้ายซ้ำกับหน้าแรก หน้าสุดท้ายใส่เพียงเลขหลักหน่วย

ถ้าเป็นวารสารไทยในฐานข้อมูล Thai Citation Index ใช้ภาษาไทยทั้งหมด เครื่องหมายวรรคตอนเช่นเดียวกับภาษาอังกฤษ ส่วนปีใช้เป็น พ.ศ.

#### ตัวอย่าง

Kusirisin W Srichairatanakool S, Lerttrakarnnon P, Lailerd N, Suttajit M, Jaikang C, et al. Antioxidative activity, polyphenolic content and anti-glycation effect of some Thai medicinal plants traditionally used in diabetic patients. Med Chem. 2009;5(20):139-47.

### หนังสือ

ชื่อผู้นิพนธ์ใส่ นามสกุล ตัวย่อชื่อกกลางชื่อดั้น, ... นามสกุล ตัวย่อชื่อกกลางชื่อดั้น, บรรณาธิการ. ชื่อหนังสือ, พิมพ์ครั้งที่. เมือง: โรงพิมพ์; ปี. หน้า. กี่หน้า

ถ้าเป็นหนังสือภาษาไทยใช้ภาษาไทยทั้งหมด เครื่องหมายวรรคตอนเช่นเดียวกับภาษาอังกฤษ ส่วนปีใช้เป็น พ.ศ.

#### ตัวอย่าง

Harindra V, Chandeying V, Usman N, editors. Sexually Transmitted Infections and HIV: An illustrated guide to management, 1st ed. Hat Yai: Chanmuang Press; 2009. 377 p.

### บทในหนังสือ

ชื่อผู้นิพนธ์ใส่ นามสกุล ตัวย่อชื่อกกลางชื่อดั้น, ... นามสกุล ตัวย่อชื่อกกลางชื่อดั้น. ชื่อบท. ใน: ชื่อบรรณาธิการ นามสกุล ตัวย่อชื่อกกลางชื่อดั้น, ... นามสกุล ตัวย่อชื่อกกลางชื่อดั้น, พิมพ์ครั้งที่. ชื่อหนังสือ. พิมพ์ครั้งที่. เมือง: โรงพิมพ์; ปี. หน้า. หน้าแรก-หน้าสุดท้าย.

ถ้าเป็นหนังสือภาษาไทยใช้ภาษาไทยทั้งหมด เครื่องหมายวรรคตอนเช่นเดียวกับภาษาอังกฤษ ส่วนปีใช้เป็น พ.ศ.

#### ตัวอย่าง

Chandeying V, Chandeying N. Women's Sexual Dysfunction. In: Gupta S, Kumar B, editors. Sexually Transmitted Infections, 2nd ed. New Delhi: Elsevier; 2012. p. 1210-20.

### สิ่งตีพิมพ์ในการประชุม

#### ตัวอย่าง

Passornpakorn W, Kamolphiwong S, Kamolphiwong T, Chandeying V. Design framework for ontology based interactive E-health services. Proceeding of the 5<sup>th</sup> International Conference on Ubiquitous and Future Networks (ICUFN); 2013 Jul 2-5; Da Nang, Vietnam. IEEE Xplore; 2013.

### ความรับผิดชอบของผู้นิพนธ์

- รายชื่อคณะผู้นิพนธ์เป็นตามความเป็นจริง และเป็นผู้มีส่วนร่วมทางปัญญา (intellectual contribution) ต่อบทความวิชาการ
- รับรองว่า บทความเป็นผลงานของผู้นิพนธ์ และยังไม่เคยส่งหรือกำลังส่งตีพิมพ์วารสารอื่น
- รับรองว่าผลการศึกษา, การบันทึก และการรายงาน ปราศจากการเสกสรรปั้นแต่งขึ้นเอง (fabrication)
- รับรองว่าสาระเนื้อหาการวิจัย, เครื่องมือ และกระบวนการ ปราศจากการปลุกปั่นชักย้ายถ่ายเท (manipulate) อันเปลี่ยนแปลงหรือละเลยผลการศึกษา โดยไม่อธิบายหรือไม่นำเสนออย่างถูกต้องตามข้อมูลในแบบ (case report form)
- การคัดลอกผลงาน (plagiarism) วิชาการดั้งเดิมพร้อมกับอ้างอิงอย่างชัดเจนเป็นสิ่งยอมรับได้ ภายใต้เงื่อนไข
  1. กระทำภายในขอบเขตเนื้อหาบางคำบางประโยค ไม่ใช่ทั้งย่อหน้าหนึ่งใดหรือหลายย่อหน้า
  2. กระทำเกี่ยวกับข้อมูลอันเป็นแนวคิดหรือวลีอันใช้กันแพร่หลาย ไม่ใช่แนวคิดหรือวลีใช้โดยผู้นิพนธ์จำนวนน้อย
  3. กระทำเกี่ยวกับวิธีปฏิบัติอันเป็นวิธีการมาตรฐาน ไม่ใช่พรรณาสัตว์ค้นพบโดยผู้อื่น
  4. อ้างอิงแหล่งที่มาอย่างเต็มที่และชัดเจน ไม่ใช่อ้างอิงบางส่วนและไม่ถูกต้อง หรือไม่อ้างอิง
  5. ทำให้เชื่อด้วยความไม่ตั้งใจ ไม่ใช่ตั้งใจให้เชื่อ
- ไม่แสดงการจางจืด, ไม่ลบหลู่, ไม่เกี่ยวข้องกับระบบการปกครอง
- ละเว้น/หลีกเลี่ยงใส่ชื่ออักษรย่อและข้อความ อันสื่อถึงการเปิดเผยองค์กร/หน่วยงาน/บุคคล

### การเตรียมต้นฉบับ

- ส่งต้นฉบับ, ตาราง, รูปภาพ, กราฟ ทางอีเมล ด้วยโปรแกรมประมวล Microsoft Word เว้นขอบทุกด้าน 1 นิ้ว คอลัมน์เดียว, ไม่เว้นบรรทัด, เนื้อหาเป็นอักษร Browallia New 14 pt. และใส่เลขหน้าเรียงตามลำดับ อีเมลส่งสำนักงานวารสารนเรศวรพะเยา หรือเสนอผ่านระบบออนไลน์
- ตัวเลขเป็นตัวเลขอารบิก ส่วนคำย่อหน่วยวัดอันเป็นรับรู้รับทราบเป็นสากล สามารถใช้คำย่อโดยปราศจากคำเต็ม (ย่อ) คำย่อหน่วยวัดเป็นภาษาไทยควรเป็นคำย่ออันเป็นคำนิยม เนื้อหาภาษาไทยควรหลีกเลี่ยงการใช้คำย่อหน่วยวัดเป็นภาษาอังกฤษ ควรเขียนเป็นคำเต็มภาษาไทยเช่น ไมโครกรัม นาโนกรัม เป็นต้น ส่วนเนื้อหาภาษาอังกฤษแนะนำคำย่อสากลเช่น m = meter, c = centimeter, mm = millimeter, kg = kilogram, g = gram, h = hour, min = minute, sec = second, L = liter, mL = milliliter เป็นต้น
- เนื้อหาใช้ภาษาง่าย, กระชับ, ชัดเจน, ไม่เยิ่นเย้อ และวุ่น การใช้ภาษาไทยยึดหลักการเขียนทับศัพท์และศัพท์บัญญัติตามพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน ยกเว้นคำที่แปลไม่ได้หรือแปลแล้วไม่ได้ใจความ
- คำย่อใช้เฉพาะคำสากล ใช้ครั้งแรกในส่วนบทคัดย่อและเนื้อหาระบุคำเต็ม (ย่อ) ต่อไปย่อ ส่วนคำย่อใช้เพียงครั้งเดียวไม่จำเป็นต้องย่อ
- ปีใช้เป็น พ.ศ. ยกเว้นบทความภาษาอังกฤษ

- ตาราง, กราฟ, ผังงาน และรูปภาพไม่ควรเกิน 3 ถึง 5 ตาราง เรียงตามลำดับพร้อมคำอธิบายและกำหนดตรงกับเนื้อหา ควรหลีกเลี่ยงความซ้ำซ้อนของการนำเสนอทั้งตารางกับกราฟ, ตารางกับรูปภาพ
- ตัวย่อการอธิบายตารางเรียงตามลำดับกล่าวคือ \*, †, ‡, §, ส่วนตารางไม่ซับซ้อน/เรียบง่ายและปราศจากนัยสำคัญของการเปรียบเทียบ ควรเขียนอธิบายเป็นร้อยแก้ว
- วารสารตีพิมพ์เป็นภาพขาวดำ แม้ว่าภาพต้นฉบับเป็นภาพสี รูปภาพควรมีความคมชัดสูง

**หมายเหตุ** หลังการตรวจสอบต้นฉบับแรกยังไม่เป็นไปตามการจัดรูปแบบของวารสารนเรศวรพะเยา กองบรรณาธิการยินดีให้คำแนะนำ และส่งคืนผู้พิมพ์รับติดต่อเพื่อแก้ไขก่อนส่งผู้ทบทวน

# Naresuan Phayao Journal

The journal will serve as a platform for change and distribute the academic knowledge, both theoretical and practical reasoning, and presentation of academic results in health science, and science & technology.

University of Phayao publishes and distributes academic paper. The views expressed in this publication are those of the author/authors, and should not be attributed to represent the opinion of the university

## Ownership

University of Phayao

## Advisory Board

President, University of Phayao

Vice President, Research and Quality Assurance Affairs

Prof. Emeritus Dr. Maitree Suttajit

## Editor

Prof. Dr. Verapol Chandeying

## Associate Editors

Assoc. Prof. Dr. Busabong Chamroendararassamee

Assoc. Prof. Dr. Manas Titayavan

Assoc. Prof. Dr. Pramote Vanittanakorn

Assoc. Prof. Dr. Chawasak Rakpenthai

Assist. Prof. Dr. Aiyared Iampan

## Editorial Board

Prof. Dr. Kate Grudpan (CMU)

Prof. Dr. Niwat Maneekarn (CMU)

Prof. Dr. Punja Kulapong (CMU)

Prof. Dr. Wachira Kochakarn (MU)

Prof. Dr. Saisamorn Lumyong (CMU)

Prof. Dr. Amnuay Thithapandha (MU)

Assoc. Prof. Theeraphong Wongratanaphisal (CMU)

Assoc. Prof. Dr. Nimit Morakote (CMU)

Assoc. Prof. Dr. Somboon Anuntalabhochai (UP)

Assist. Prof. Dr. Yuttana Mundee (UP)

Assist. Prof. Dr. Ekachai Chukeatirote (MFU)

Prof. Dr. Kom Sukuntasun (CMU)

Prof. Dr. Nison Sattayasia (UP)

Prof. Dr. Malyn Chulasiri (S & J Inter Co.)

Prof. Dr. Suched Likitlersuang (CU)

Prof. Dr. Umnuay Kananthai (CMU)

Prof. Dr. Kosin Chamnongthai (KUMTT)

Assoc. Prof. Dr. Nuwat Visavarungroj (UP)

Assoc. Prof. Dr. Ratana Panpanit (CMU)

Assist. Prof. Dr. Prakobsiri Pakdeepinit (UP)

Assist. Prof. Dr. Suchart Yammen (NU)

Dr. Surapol Dumronggittigule (UP)

## Secretary

Mr. Chamnan Sangkeo

## Assist. Secretary

Ms. Ratchadaporn Kaewsueb

## Information Technology

Mr. Chaitawat Boonyang

Mr. Ponnrob Sawadee

Mr. Wuttiapat Srisomboon

## Editorial Office

Division of Research Administration and Education Quality Assurance,  
University of Phayao, Maeka Subdistrict, Muang District, Phayao 56000

Tel: 0-5446-6666 Ext 1047, 1048; Fax: 0-5446-6714

E-mail: [j.nu.phayao@gmail.com](mailto:j.nu.phayao@gmail.com)

Website: <http://journal.up.ac.th>

## Advisory Editorial Board

Prof. Dr. Sakda Congkaewwattana

Prof. Dr. Somnuk Boonkird

Prof. Dr. Aranya Manosroi

Assoc. Prof. Dr. Ake Chaisawadi

Assist. Prof. Dr. Chaiwat Roongruansee

Prof. Dr. Jeffrey C. Miller (USA)

Prof. Dr. Hirota Fujiki (Japan)

Prof. Dr. Michael Burgett (USA)

Prof. Dr. Young Joon Surh (Korea)

## Peer Reviewers of the issue

Prof. Dr. Verapol Chandeying (UP)

Assoc. Prof. Dr. Samur Thanoi (NU)

Assist. Prof. Dr. Hathairat Kruevaisayawan (NU)

Dr. Siriwan Nawong (SLRI)

Prof. Dr. Maitree Suttajit (UP)

Assist. Prof. Dr. Chaiyavat Chaiyasut (CMU)

Assist. Prof. Dr. Wanlaya Tanechpongtham (SWU)

Assist. Prof. Dr. Natthakarn Chirantharut (CMU)

Dr. Karn Wongsariya (KMITL)

Dr. Phanida Suphiratvanich (UP)

Assist. Prof. Pisaes Tuklang (NRRU)

Dr. Pichaya Jumnonprakhon (NU)

Assist. Prof. Dr. Bunjob Sukprapaporn (NRCC)

Assist. Prof. Dr. Unnop Tassanaudom (RMUTL)

Every academic article has been  
evaluated by at least two people  
of relevant professional association.

## Publisher

Krongchang Printing, Chiangmai

## Publication Frequency

Three issues per year

## Journal Subscription

1-year membership 200 Baht

