ผลของการรับประทานอาหารเสริมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่น

The effect of dietary antioxidant supplement on oxidative stress

วาสนา อินทะแสง[1] ภาวิต หน่อไชย[1*] และ มาศ ไม้ประเสริฐ[1]

Wassana Intasang[1], Phawit Norchai[1*] and Mart Maiprasert[1]

บทคัดย่อ

ภาวะเครียดออกซิเดชั่น คือ ภาวะไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและกระบวนการต้านอนุมูลอิสระที่เกิดในเซลล์ของร่างกาย ส่งผลให้เกิดการทำลายออกซิเดชั่นต่อดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมัน และโมเลกุล เป็นเหตุให้เกิดภาวะอักเสบและโรคเรื้อรังอาทิ โรคที่ไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs) โดยภาวะนี้มีสาเหตุหลักจากพฤติกรรมการใช้ชีวิตและสภาพแวดล้อม ในปัจจุบันการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สะดวกสบายในการช่วยลดอนุมูลอิสระและเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ จึงศึกษาผลของการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระที่มีต่ออนุมูลอิสระและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย วางแผนรูปแบบวิจัยกึ่งทดลอง โดยมีการเจาะเลือด 2 ครั้ง ก่อนและหลังรับประทานอาหารเสริมก่อนอาหารเช้าทุกวันต่อเนื่อง 14 วัน เพื่อหาปริมาณอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ จากผลการวิจัยผู้เข้าร่วมทั้งหมด 20 คน มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 34.90±9.58 ปี มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 57.93±11.15 กิโลกรัม เป็นเพศหญิง ร้อยละ 80 ภายหลังจากรับประทานอาหารเสริมต้านอนุมูลอิสระผลพบว่าค่าเฉลี่ยของระดับอนุมูลอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญ P=0.04 (95% CI, 1.23-49.37) และค่าเฉลี่ยของระดับสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ P<0.01 (95% CI, 0.03-0.15) ผลการวิจัยแสดงว่าสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดอนุมูลอิสระและเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้ซึ่งมีผลต่อภาวะเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในผู้มีสุขภาพดีได้ อย่างไรก็ตามแนะนำให้มีการปรับวิถีชีวิตที่ส่งผลต่อภาวะภาวะเครียดออกซิเดชั่นให้ดีขึ้น ในขณะที่การวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มอาจจะสนับสนุนแนวโน้มหลักฐานการวิจัยนี้ได้เพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ ภาวะเครียดออกซิเดชั่น อาหารเสริม

Abstract

Oxidative stress is a status occurred by an imbalance between production and accumulation of oxygen reactive species (ROS) in cells and tissues that lead to oxidative damage of DNA, protein, fat molecules. It increases an inflammation and chronic diseases such as non-communicable diseases (NCDs) that mainly caused by unhealthy lifestyle and environment. Recently, dietary antioxidant supplementation is one of the most comfort way to decrease free radical content and support antioxidant activity. This study aimed to evaluate the effects of antioxidants activity on supplementary diet intake. The quasi-experimental study was conducted in 20 participants. Blood samples were

[1] วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

[1] College of Integrative Medicine, Dhurakij Pundit University

[*] Corresponding author. E-mail: dr.phawis@gmail.com

Received: January 28, 2021; Revised: March 12, 2021; Accepted: April 1, 2021

obtained 2 times, before and after continuously daily dietary supplement intake for 14 days. Free radicals and antioxidant content were analyzed. The demographic data showed a total of healthy participants were enrolled with mean age of 34.90±9.58 years, body weight of 57.93±11.15 kilograms and 80% were female. The results showed a significant reduction of mean difference in free radical level of P=0.04 (95% CI, 1.23-49.37) and significant increase mean difference in antioxidant content of P<0.01 (95% CI, 0.03-0.15) under the effect of dietary supplement. This dietary supplement significantly reduced free radical and increased antioxidant content that may reduce oxidative stress in healthy working-age participants with continuous daily intake. However, lifestyle modification and randomized controlled trial should be recommended for additional evidence.

Keywords: free radical, antioxidant, oxidative stress, supplement

บทนำ

การดำรงชีวิตของพืชและสัตว์ทั้งหลายต้องการใช้พลังงานเพื่อประกอบกิจกรรมต่างๆ เพื่อการสร้างพลังงานโดย มีปฏิกิริยาขนส่งอิเล็กตรอนที่มีพลังงานไปตามห่วงโซ่หายใจในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ก่อให้เกิดการสังเคราะห์ ATP ในขั้นสุดท้ายอิเล็กตรอนจะส่งไปรีดิวซ์โมเลกุลออกซิเจนและกลายเป็นน้ำ ซึ่งมีคุณสมบัติเฉื่อยไม่ก่อปฏิกิริยาต่อไป ทั้งนี้ปฏิกิริยารีดักชันของออกซิเจนในไมโทคอนเดรียนั้นก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radicals) และอนุมูลว่องไวปฏิกิริยาออกซิเจน (reactive oxygen species: ROS) โดยไม่ตั้งใจ ดังนั้นสิ่งมีชีวิตจึงต้องมีระบบต้านออกซิเดชันที่ทำงานเพื่อป้องกันการบาดเจ็บของชีวโมเลกุลของเซลล์และเนื้อเยื่อ โดยการทำลายอนุมูลว่องไวปฏิกิริยาที่เป็นพิษ แก้ไขชีวโมเลกุลที่บาดเจ็บให้กลับคืนสภาพ ทั้งนี้เมื่อเกิดภาวะความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระ (free radicals) และกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant defenses) ที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย กระบวนการต้านอนุมูลอิสระนี้มีทั้งโดยเอนไซม์และสารต้านอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระและสารเกี่ยวข้องที่เป็นผลิตผลของอนุมูลอิสระจะมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาและมีปริมาณที่สูงมากเกินกว่ากระบวนการต้านอนุมูลอิสระโดยปกติของร่างกายจะสามารถต้านทานไว้ได้ ซึ่งภาวะนี้เรียกว่า ภาวะเครียดออกซิเดชั่น (oxidative stress) (Betteridge, 2000; Tiahou et al., 2004)

ภาวะเครียดออกซิเดชั่น คือ ภาวะความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระ (free radicals) และกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant defenses) ที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย กระบวนการต้านอนุมูลอิสระนี้มีทั้งโดยเอนไซม์และสารต้านอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระและสารเกี่ยวข้องที่เป็นผลิตผลของอนุมูลอิสระจะมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาและมีปริมาณที่สูงมากเกินกว่ากระบวนการต้านอนุมูลอิสระโดยปกติของร่างกายจะสามารถต้านทานไว้ได้ (Betteridge, 2000; Tiahou et al., 2004) ภาวะเครียดออกซิเดชั่นส่งผลให้เกิดการทำลายออกซิเดชั่น (oxidative damage) ต่อดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมันและโมเลกุลขนาดต่างๆ อันเป็นเหตุให้เกิดโรคต่างๆ ของมนุษย์ทั้งนี้ โรคบางโรคมีสาเหตุหลักมาจากการที่ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมันถูกทำลายด้วยกระบวนการออกซิเดชั่น ในขณะที่บางโรคนั้นภาวะเครียดออกซิเดชั่นไม่ได้เป็นสาเหตุเบื้องต้น

แต่เป็นผลสืบเนื่องจากกระบวนการของโรคที่ส่งผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ อาทิ การติดเชื้อ (infection) การบาดเจ็บ (trauma) หรือการได้รับสารพิษ (toxins) ซึ่งเป็นต้นเหตุของการสร้าง และสะสมอนุมูลอิสระที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรคภาวะไม่สมดุลของปฏิกิริยารีดอกซ์ในร่างกายมีผลรบกวนการแสดงออกของยีนและภาวะของโรคต่างๆ อาทิ โรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular diseases) โรคมะเร็ง (cancer) โรคเบาหวาน (diabetes) โรคระบบประสาท (neurological diseases) โรคระบบภูมิคุ้มกัน (immune diseases) โรคตา (eye diseases) และภาวะชราภาพ (aging process) (Willcox, Ash, & Catignani, 2004)

อนุมูลอิสระ (free radicals) คือ อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกลางทางไฟฟ้าและที่มีประจุไฟฟ้า มีทั้งประจุบวกและลบ โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียร (ปกติอะตอมของธาตุใดๆ จะต้องพยายามจับคู่กับอะตอมอื่น เพื่อทำให้มีอิเล็กตรอนวงนอกครบ 2 หรือ 8 ตัว) เมื่อขาดความสมดุลภายในโครงสร้างโมเลกุล ก็จะเกิดกระบวนการหาโมเลกุลข้างเคียงมาทดแทน (Maipasert, 2019) ดังนั้น อนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวสูงต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีอนุมูลอิสระบางชนิดที่มีความเสถียร ไม่ไวในการเกิดปฏิกิริยาและสามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน อนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนอิออน (O-•) อนุมูลไฮดรอกซี (•OH) อนุมูลอัลคอกซี (RO•) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี (HO_2•) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ (•NO) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา โดยที่พบค่อนข้างมากคืออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเนื่องจากมีมูลเหตุจากออกซิเจน จึงมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า reactive oxygen species (ROS) อนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่ ซูเปอร์-ออกไซด์แอนอิออน ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และไฮดรอกซิลแรดดิเคิล ดัง (Figure 1)

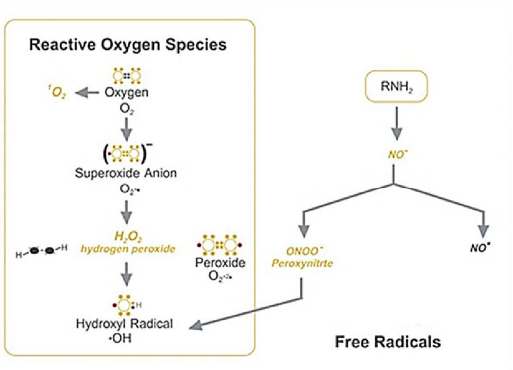

Figure 1 Free radicals formed in the body due to reactive oxygen species (ROS), the red dots being unpaired electron (Maipasert, 2019).

ในภาวะปัจจุบันพบว่าคนไทยกำลังประสบกับปัญหาภาวะของโรคต่างๆ ที่มีสาเหตุจากภาวะเครียดออกซิเดชั่นทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยเฉพาะโรคที่ไม่ติดต่อเรื้อรัง (non-communicable diseases:

NCDs) เป็นสาเหตุการตายอันดับหนึ่งของคนไทย โดยมีคนไทยป่วยเป็นโรค NCDs มากถึง 14 ล้านคน เสียชีวิตปีละกว่า 300,000 คน และคาดว่ามีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้นในทุกปี ฐานข้อมูลผู้ป่วยในรายบุคคลหลักประกันสุขภาพถ้วนหน้าและสวัสดิการรักษาพยาบาลข้าราชการและครอบครัวกระทรวงสาธารณสุข (Division of Non-Communicable Diseases, Department of Disease Control, Ministry of Public Health, 2019) โดยมีสาเหตุหลักเนื่องจากพฤติกรรมการใช้ชีวิตและสภาพแวดล้อมที่เอื้อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นมากขึ้นกว่าในอดีต ในขณะที่จำนวนการเสียชีวิตมีแนวโน้มลดลง อาจจะเนื่องมาจากเทคโนโลยีและความก้าวหน้าทางการแพทย์ทั้งการตรวจและรักษาโรคเหล่านี้ รวมทั้งประชาชนมีความรู้ ความเข้าใจ และตระหนักถึงความสำคัญของการดูแลสุขภาพของตนเองให้แข็งแรงสมวัยและห่างไกลโรค ทัศนคติของการมีคุณภาพชีวิตที่ดีด้วยตนเอง การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการใส่ใจดูแลสุขภาพอย่างมีประสิทธิภาพ และที่สำคัญคือการยอมรับและเข้าใจว่าการมีสุขภาพที่ดีคือความร่วมมือของทุกฝ่ายไม่ใช่ภาระหรือหน้าที่ของแพทย์หรือบุคลากรทางการแพทย์เพียงฝ่ายเดียว (Maipasert, 2019)

สารต้านอนุมูลอิสระและกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant and antioxidant defenses)

โดยธรรมชาติแล้วจะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายหลายชนิด มีทั้งที่เป็นประโยชน์และให้โทษประกอบด้วย เซลล์และร่างกายจะเป็นอันตรายและเสียหายหากมีอนุมูลอิสระจำนวนมากเกินสมดุล ดังนั้น เซลล์ร่างกายจึงมีกลไกเพื่อควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระไม่ให้สูงจนเกินขีดอันตราย โดยทำหน้าที่ลดผลกระทบที่เป็นอันตรายของอนุมูลอิสระต่อเซลล์ต่างๆ ของร่างกาย ในภาวะปกติกลไกเหล่านี้ถือว่าเพียงพอต่อการรักษาปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลได้ (Duangjit et al., 2019) กลไกที่สำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลมีกลไก ได้แก่

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Wirasorn, Klarod, Hongsprabhas, & Boonsiri, 2014)

1. **สารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในธรรมชาติ** อาทิ วิตามินซี วิตามินอี สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันมีการค้นพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ฟีนิลโปพานอยด์ (phenylpopanoid) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (Singsai, Sakdavirote, Wechpanishkitkul, & Moonsamai, 2020) ไปจนถึงโครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน (lignin) เมลานิน (melanin) และแทนนิน (tannin) เป็นต้น

2. **สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants)** อาทิ บีเอชเอ (butylated hydroxylanisole, BHA) บีเอชที (butylated hydroxytoluene, BHT) กรดแกลลิค (gallic acid) อีดีทีเอ หรือ (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) เป็นต้น

3. **เอนไซม์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant enzymes)** อาทิ เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase, SOD) เอนไซม์คาตาเลส (catalase, CAT) เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกไซด์ (glutathione peroxidase, GPx) (Carillon et al., 2014; Sutin, 2016) เป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่ใช้ในการวิจัย ในการศึกษาครั้งนี้มีชื่อว่า ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เอ็ม-ทู (ตราดอกเตอร์มาศ) (M-2 dietary supplement product: Dr.MAS brand) ประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์สำคัญจำนวนทั้งสิ้น 15 ชนิด ปริมาณบรรจุใน 1 แคปซูล ดัง (Table 1)

Table 1 The 15 various active ingredients in 1 capsule of M2 antioxidant supplement.

number	active ingredients	milligram
1	resveratrol (grape skin extract)	115
2	*Haematococcus pluvialis* extract (provide astaxanthin 2 mg)	40
3	co-enzyme Q10 (100%)	30
4	superoxide distumases (SOD)	5
5	Oryza rice ceramide	5
6	grape seed oil	60
7	beta carotene (30%)	12
8	alpha lipoic acid (ALA)	50
9	sodium ascorbate	60
10	vitamin E	20
11	vitamin A	1
12	zinc amino acid chelate	50
13	copper amino acid chelate	3
14	selenium amino acid chelate	2
15	L-glutathione	100

ทั้งนี้การรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการเสริมประสิทธิภาพของกระบวนการต้านอนุมูลอิสระของร่างกาย ตามหลักเวชศาสตร์ชะลอวัย (anti-aging medicine) ที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันสำหรับการดูแลสุขภาพของคนไทย จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาเรื่อง ประสิทธิผลของการรับประทานอาหารเสริมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่น โดยมีวัตถุประสงค์ของการวิจัยเพื่อศึกษาผลของการรับประทานอาหารเสริมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่นเพื่อที่จะสามารถนำข้อมูลจากการวิจัยดังกล่าวมาเป็นข้อมูลในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์อาหารเสริมได้อย่างถูกต้อง เหมาะสม เพื่อส่งเสริมสุขภาพที่ดีสมวัยและห่างไกลโรค

วิธีการศึกษา

การศึกษามีรูปแบบวิจัยกึ่งทดลอง (quasi-experiment research) เพื่อประเมินผลของการรับประทานอาหารเสริมต้านอนุมูลอิสระ สูตร M2 โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอนุมูล

อิสระและสารต้านอนุมูลอิสระก่อนและหลังรับประทานต่อเนื่องทุกวันเป็นเวลา 14 วัน

ประชากรและตัวอย่าง

ประชากรในงานวิจัยนี้ คือวัยทำงาน อายุ 20-50 ปี ในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานคร ผู้วิจัยจึงทำงานวิจัยนี้โดยพื้นฐานเป็นแบบการศึกษานำร่อง (pilot study) โดยการประมาณค่าที่ได้เบื้องต้นแล้วไปคำนวณเพื่อหาค่ากลุ่มตัวอย่างตามหลักเกณฑ์การกำหนดขนาดตัวอย่างตามวัตถุประสงค์การวิจัยและเป็นจำนวนน้อยที่สุดที่สร้างโค้งปกติได้ (Wongwanich, & Wiratchai, 2003) รวมทั้งเพื่อให้สอดคล้องกับระยะเวลาในการวิจัย งบประมาณ และความเชื่อมั่นของการประมวลผลทางด้านสถิติที่เกี่ยวข้องโดยใช้การเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเจาะจง (purposive sampling) (Tongco, 2007) จากอาสาสมัครที่สมัครเข้ามาตามช่องทางที่ผู้วิจัยเปิดรับสมัคร อาทิ เฟซบุ๊ก ไลน์ และการแนะนำบอกต่อ จึงผู้เข้าร่วมงานวิจัยนี้ คือ จำนวน 30 คน โดยมีเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้าร่วมการวิจัยดังนี้ 1) เพศชาย หรือ หญิง อายุ 20 ถึง 50 ปี 2) สุขภาพร่างกายและจิตใจโดยรวมอยู่ในเกณฑ์ปกติ 3) ไม่อยู่ในระหว่างการตั้งครรภ์ 4) มีความตั้งใจในการเข้าร่วมโครงการตั้งแต่ต้นจนจบและสามารถมาตรวจติดตามได้ทุกครั้งในการวิจัย เกณฑ์ในการคัดเลือกให้ออกจากการวิจัย ดังนี้ 1) ตรวจพบว่าตั้งครรภ์ระหว่างการทดลอง 2) ลืมรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระติดต่อกันเกิน 3 วัน 3) มีพฤติกรรมลดน้ำหนัก หรือ น้ำหนักลดลงมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ระหว่างการวิจัย 4) มีเหตุที่เพิ่มความเครียด หรือมีความเครียดเพิ่มขึ้นระหว่างการวิจัย เช่น ตกงาน ย้ายที่ทำงาน มีปัญหาการนอนหลับ เป็นต้น 5) มีอาการไม่พึงประสงค์หลังการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระสูตร M2 6) มีประจำเดือนระหว่างการวิจัย 7) ไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำ ฝ่าฝืนข้อห้ามหรือข้อกำหนดของการวิจัย เช่น สูบบุหรี่ ดื่มแอลกอฮอล์ หรือออกกำลังกาย มากเกินกว่าปกติ เป็นต้น 8) ผู้เข้าร่วมฯ ขอถอนตัวจากการวิจัย

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

คัดเลือกผู้เข้าร่วมการวิจัยจำนวนทั้งสิ้น 30 คน จากผู้สมัครทั้งหมด โดยพิจารณาความเหมาะสมตามเกณฑ์ที่กำหนด วันที่ 1 ผู้เข้าร่วมการวิจัยทำการลงนามในหนังสือยินยอมเข้าร่วมการวิจัย และเก็บข้อมูลก่อนการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ อธิบายรายละเอียดต่างๆ และแจกสารต้านอนุมูลอิสระแก่ผู้เข้าร่วมวิจัยทุกคน (คนละ 2 กระปุก หรือ 40 แคปซูล) รวมทั้งแนะนำวิธีการรับประทาน ครั้งละ 2 เม็ด วันละ 1 ครั้ง ก่อนอาหารเช้า ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 14 วัน อาการไม่พึงประสงค์ การปฏิบัติตัวตลอดระยะเวลาของการเข้าร่วมวิจัยในครั้งนี้ จากนั้นดำเนินการเก็บตัวอย่างเลือดของผู้เข้าร่วมวิจัยก่อนการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ และหลังจากรับประทานครบ 14 วัน คือวันที่ 15 ของการวิจัย ซึ่งการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจ FORT และ FORD จะใช้ปริมาตร 20 และ 50 ไมโครลิตรตามลำดับ โดยใช้ capillary tube และนำไปผสมกับน้ำยาและเข้าเครื่องตามกระบวนการเพื่อหาปริมาณอนุมูลอิสระ (FORT: free oxygen radicals test) และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (FORD: free oxygen radicals defense) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Callegari CR3000 (Callergari1930, 2020) หลังจากนั้นผู้เข้าร่วมวิจัยเริ่มการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระวันที่ 1 (เตรียมการและรับประทานต่อหน้าผู้วิจัย เพื่อ

ตรวจสอบความเข้าใจของการรับประทาน) โดยทำการบันทึกผลการรับประทาน และติดตามผลอย่างใกล้ชิดตลอดการวิจัย ทั้งนี้ผู้วิจัยผ่านการอบรมจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ และผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์เรียบร้อยแล้ว

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ

เป็นการทดสอบทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระคือ DPPH (diphenly-picryhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องมือสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 nm เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอลจะทำให้สีม่วงจางลง จนเป็นสีเหลืองซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์สามารถหาสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ตามวิธีของ Yamasaki, Hashimoto, Kokusenya, Miyamoto, & Sato (1994); Phunsawan (2013) โดย DPPH จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R) ทำให้เครื่องสามารถคำนวณการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเพื่อหาค่าปริมาณอนุมูลอิสระ (FORT) และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (FORD) ได้

ในการวิจัยนี้เลือกใช้การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยการวัดค่าต่างๆ ที่เกี่ยวข้องด้วยเครื่อง Callegari CR3000 ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจเลือดเพื่อทดสอบ oxidative stress/ anti-ageing (free oxygen radicals test and free oxygen antioxidant test) โดยเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Callegari Srl ในเครือของ Catellani group จากประเทศอิตาลี ที่ได้รับการยอมรับในระดับนานาชาติ และได้รับการรับรองมาตรฐานในระดับสากลดัง (Figure 2) ทั้งนี้ทุกขั้นตอนในกระบวนการตรวจวิเคราะห์เลือดและรายงานผล ดำเนินงานโดยเจ้าหน้าที่ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านจากห้องปฏิบัติการบริษัท เนชั่นแนล เฮลท์แคร์ ซิสเท็มส์ จำกัด ประจำสาขาโรงพยาบาลกรุงเทพ

Figure 2 The Callegari CR3000 machine. Source: https://www.callegari1930.com/en/general-health-screening/cr3000rc

การวิเคราะห์ทางสถิติ (statistical analysis)

สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) ได้แก่ ค่าร้อยละ (percentage) ค่าเฉลี่ย (mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) เพื่ออธิบายข้อมูลเกี่ยวกับคุณลักษณะทางประชากรของกลุ่มผู้เข้าร่วมวิจัย สถิติอ้างอิงหรือเชิงอนุมาน (inferential statistics) ได้แก่ ค่า t-test for dependent samples เพื่อเปรียบเทียบความเปลี่ยนแปลงของอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระของกลุ่มตัวอย่างระหว่างก่อนและหลังรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และระดับนัยสำคัญทางสถิติ p value=0.05

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานผู้เข้าร่วมวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระของประชากรในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานคร โดยการเปรียบเทียบภาวะเครียดออกซิเดชั่นทั้งก่อนและหลังการรับประทานจากอาสาสมัครจำนวน 30 คน ใช้ระยะเวลาในการศึกษาเป็นเวลาหนึ่งเดือน (รับประทานติดต่อกันเป็นระยะเวลา 14 วัน) เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าในการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระอย่างต่อเนื่องเพื่อติดตามผลการเปลี่ยนแปลงใช้เวลาประมาณอย่างน้อย 2 สัปดาห์ (Ullegaddi, Powers, & Gariballa, 2006; Lodovici, Bigagli, Luceri, Manni, & Zaid, 2011; Rehou, Shahrokhi, Natanson, Stanojcic, & Jeschke, 2017) จึงเป็นที่มาในการกำหนดระยะเวลาเบื้องต้นในการวิจัยนี้

ซึ่งการวัดผลจะใช้การตรวจเลือดวิเคราะห์โดยเครื่อง Callegari CR3000 คนละ 2 ครั้ง ทั้งก่อนและหลังการรับประทาน ทั้งนี้ มีผู้เข้าร่วมวิจัยที่ถูกคัดออกจากการวิจัย รวม 10 คน ดังนี้ เป็นประจำเดือนระหว่างการวิจัย 2 คน ดื่มแอลกอฮอล์มากกว่าปกติ (มีงานเลี้ยง) 3 คน รับประทานยาปฏิชีวนะ 1 คน เครียดพักผ่อนน้อยหรือนอนดึกกว่าปกติ 4 คน จึงทำให้มีการนำข้อมูลประเมินผลทั้งหมด 20 คน ดัง (Figure 3)

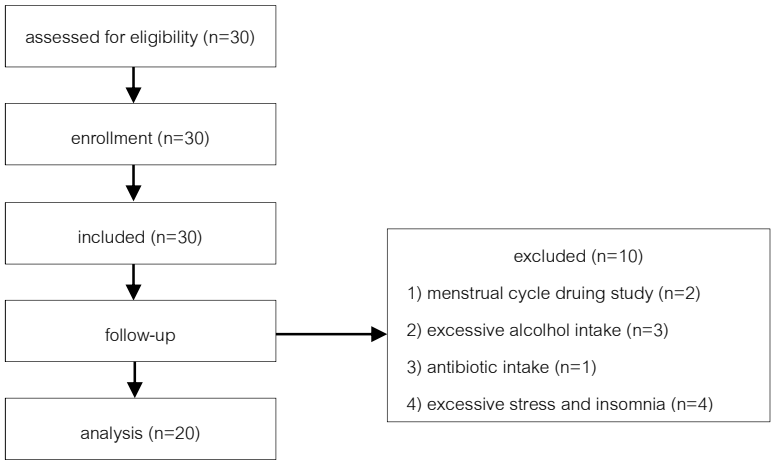

Figure 3 Flow chart diagram of data collection design in this study.

Table 2 Baseline characteristics of participants.

characteristics	means±S.D.
female N (%)	80
age (year)	34.90±9.58
body weight (kilogram)	57.93±11.15
height (centimeter)	160.50±7.74

ผลการวิจัยตามวัตถุประสงค์

การวิจัยนี้ศึกษาผลของการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระของประชากรในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานคร มีรายละเอียดข้อมูลทั่วไป ดัง (Table 2) จากการเปรียบเทียบภาวะเครียดออกซิเดชั่นทั้งก่อนและหลังการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ แล้ว 14 วัน วันละ

2 เม็ด จากอาสาสมัครจำนวน 20 คนที่ผ่านเกณฑ์ฯ ซึ่งการวัดผลจะใช้การตรวจเลือดวิเคราะห์โดยเครื่อง Callegari CR3000 โดยวัดค่าเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้

1) ปริมาณอนุมูลอิสระ (FORT)

2) ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (FORD)

เมื่อพิจารณาค่าปริมาณอนุมูลอิสระ พบว่าหลังจากการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ จำนวน 14 วัน วันละ 2 เม็ด ผู้เข้าร่วมวิจัยมีค่าปริมาณอนุมูลอิสระจากการตรวจ (FORT) ลดลงจำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 75 ของผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งหมด เมื่อพิจารณาค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากการตรวจ (FORD) พบว่าหลังจากการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ ผู้เข้าร่วมวิจัยมีค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น จำนวน 16 คน คิดเป็นร้อยละ 80 ของผู้เข้าร่วมวิจัยทั้งหมด

ผลการวิเคราะห์ตามสมมติฐานการวิจัย

1. ผลการศึกษาเปรียบเทียบความเปลี่ยนแปลงของอนุมูลอิสระ (FORT) ของผู้เข้าร่วมวิจัย ก่อนและหลังรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ

Table 3 The results of mean of free radical level investigated by free oxygen radicals test (FORT) before and after intake antioxidant supplement (mean±S.D.).

sample	before intake	after intake	p value±95% CI
free oxygen radicals test, FORT	340.30±100.46	315.00±87.79	0.04±1.23-49.37

จาก (Table 3) พบว่าหลังรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระเป็นเวลา 14 วัน ค่าเฉลี่ยของปริมาณอนุมูลอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value=0.04 95% CI=1.23-49.37 แสดงให้เห็นในเบื้องต้นว่าการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดปริมาณอนุมูลอิสระได้

2. ผลการศึกษาเปรียบเทียบความเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (FORD) ของผู้เข้าร่วมวิจัย ก่อนและหลังรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ

Table 4 The results of mean difference of antioxidant level investigated by free oxygen radicals defense (FORD) before and after intake antioxidant supplement (mean±S.D.).

sample	before intake	after intake	p value±95% CI
free oxygen radicals defense, FORD	1.22±0.14	1.31±0.08	<0.01±0.03-0.15

จาก (Table 4) พบว่าหลังรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระเป็นเวลา 14 วัน ค่าเฉลี่ยของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value< 0.01 95% CI =0.03-0.15 แสดงให้เห็นในเบื้องต้นว่าการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้

อภิปรายผล

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระของประชากรในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานคร โดยการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของภาวะเครียดออกซิเดชั่นทั้งก่อนและหลังการรับประทาน จากอาสาสมัครจำนวน 30 คน ใช้ จุดเด่นในงานวิจัยนี้คือการวัดผลจะใช้การตรวจเลือดวิเคราะห์โดยเครื่อง Callegari CR3000 คนละ 2 ครั้ง ทั้งก่อนและหลังการรับประทาน รวมถึงมีการติดตามผลการรับประทานและสอบถามผลข้างเคียงต่างๆ ระหว่างการรับประทานอย่างใกล้ชิด จนกระทั่งได้ข้อมูลจากผู้เข้าร่วมการวิจัยนี้ทั้งสิ้น 20 คน ที่สามารถรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งสามารถปฏิบัติตามเงื่อนไขและหลักเกณฑ์ของการวิจัยได้อย่างเคร่งครัดตลอดการร่วมวิจัย เช่น ไม่ทานยาปฏิชีวนะ ไม่ออกกำลังกายมากกว่าปกติ ไม่ดื่มแอลกอฮอล์มากกว่าปกติ เข้านอนและตื่นนอนตามปกติ (ไม่ควรนอนมาก หรือ นอนน้อยกว่าปกติ) เป็นต้น ผลการวิจัยนี้พบว่า การรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถช่วยลดภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้ โดยสามารถช่วยลดปริมาณอนุมูลอิสระ และช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยเกี่ยวกับเบต้าแคโรทีน (beta carotene) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี สารในกลุ่มนี้มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระประเภท peroxyl radical ได้ดีกว่า ROS ชนิดอื่น เพราะสามารถละลายในน้ำมันได้ดี ซึ่ง peroxyl radical นั้นเกิดจากกระบวนการ lipid peroxidation ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ดังนั้น carotenoids จึงมีส่วนสำคัญในการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ สาร lipoprotein จากการทำลายของ ROS เมื่อ carotenoid จับกับอนุมูลอิสระแล้วจะสามารถ delocalized อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ผ่านทาง conjugated double bond สายยาวและทำให้โมเลกุลนั้นมีความเสถียรขึ้น และมักจะนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และสายตา ทั้งในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอาง (Sakunphueak, 2004) และพบว่ามีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kishimoto, Yoshida, & Kondo (2016) ที่พบว่าการใช้แอสตาแซนทีนขนาด 6-12 มิลลิกรัมต่อวัน นอกจากนี้ยังสามารถลดเอชดีแอลโคเลสเทอรอลได้ด้วยและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า vitamin C ถึง 6,000 เท่า และ สูงกว่า vitamin E 100 เท่า (Nishida, Yamashita, & Miki, 2007) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่าแคโรทีนอยด์อื่นๆ ถึง 10 เท่า (Brown, Gough, Deb, Sparks, & McNaughton, 2017) ช่วยป้องกันการเกิดเปอร์ออกซิเดชั่นในช่วงที่มีความเครียดออกซิเดชั่นในเซลล์ไขมันได้ดี ด้วยหน้าที่การต้านอนุมูลอิสระของสาร xanthophyll carotenoid ในแอสตาแซนทีนนี้ จะออกฤทธิ์ในระหว่างที่นักกีฬาออกกำลังกาย โดยจะลดการทำปฏิกิริยาของ nuclear factor erythroid 2 - related factor 2 (Nrf2) ที่ทำให้เกิด oxidative stress ที่เกิดระหว่างการออกกำลังกาย จึงทำให้นักกีฬาสามารถออกกำลังกายอย่างมีประสิทธิภาพดีขึ้น และพบว่าการฟื้นตัวหลังออกกำลังกายจะดีขึ้นหลังจากรับประทานต่อเนื่อง 3-5 สัปดาห์ เช่นเดียวกันกับผลการศึกษาของ Hernández-Camacho, Bernier, López-Lluch, & Navas (2018) ที่รายงานการศึกษาพบว่ามีหลักฐานว่าการได้รับอาหารเสริมโคเอนไซม์คิวเท็น (coenzyme Q 10; CoQ10) แม้ได้รับการเสริมเพียงเล็กน้อยหรือรวมไปถึงขนาดสูงแต่ยังพบว่า

ปลอดภัยคือ 300 มิลลิกรัมต่อวัน พบว่าช่วยเพิ่มการทำงานของไมโทคอนเดรีย และให้การป้องกันสารต้านอนุมูลอิสระสำหรับอวัยวะและเนื้อเยื่อที่ได้รับผลกระทบจากเงื่อนไขทางพยาธิสรีรวิทยาต่างๆ สามารถป้องกันการสร้างสารส่งเสริมการอักเสบ (proinflammatory cytokines) ซึ่งช่วยให้การรักษาต้านการอักเสบที่น่าสนใจสำหรับการรักษาโรคของมนุษย์ และสามารถลดอาการของโรคอันเนื่องมาจากความชรา สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Salehi et al. (2018) เรสเวอราทรอล (resveratrol) มีฤทธิ์ต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ และมีหลักฐานมากมายทั้งในหลอดทดลองและในร่างกายของมนุษย์แม้เพียงขนาด 10 มิลลิกรัม ถึงขนาด 2.50 กรัมต่อวัน 2-4 สัปดาห์ ก็สามารถช่วยลดภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้ (Brasnyó et al., 2011; Weiskirchen, & Weiskirchen, 2016) และนอกจากนี้ยังมีผลการป้องกันการเกิดโรคหัวใจ มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ต้านไวรัส ป้องกันระบบประสาท เป็นต้น โดยคุณสมบัติด้านการต้านอนุมูลอิสระของเรสเวอราทรอล คือ ช่วยปกป้องเซลล์จากภาวะ oxidative stress ที่เกิดจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ช่วยส่งเสริมการอยู่รอดของเซลล์ และการป้องกันการตายของเซลล์ในร่างกายมนุษย์ (Hebbar et al., 2005; Mukherjee, Dudley, & Das, 2010) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการศึกษาของ (Chuayjaroen, 2015) ที่พบว่าชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ ชาขิง ชากระเจี๊ยบ ชาตะไคร้ ชาใบเตย และชามะตูม ตามลำดับ รวมทั้งสอดคล้องกับผลการวิจัยเกี่ยวกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะรุมสกัดด้วยน้ำ (Mamah, Nisan, Duanyai, & Manok, 2017) นั่นคือ หากรับประทานชาขิง ชากระเจี๊ยบ ชาตะไคร้ ชาใบเตย ชามะตูม หรือ สารสกัดจากใบมะรุม อย่างต่อเนื่องจะช่วยลดอนุมูลอิสระได้ นั่นคือสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดจากพืชสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งในสูตรของ M2 ก็มีสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดจากพืชผสมอยู่ด้วยเช่นกัน

สรุป

ผลการวิจัยพบว่า การรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระ สูตร M2 หลังรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระเป็นเวลา 14 วัน ค่าเฉลี่ยของปริมาณอนุมูลอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value=0.04 95% CI=1.23-49.37 ในทำนองเดียวกันพบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P value<0.01 95% CI=0.03-0.15 แสดงให้เห็นในเบื้องต้นว่าการรับประทานสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันเป็นประจำทุกวันส่งผลช่วยลดปริมาณอนุมูลอิสระและช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้ กล่าวคือสามารถช่วยลดภาวะเครียดออกซิเดชั่นซึ่งเป็นภาวะไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและกระบวนการต้านอนุมูลอิสระที่เกิดในเซลล์ของร่างกายเบื้องต้นได้ ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะด้านการนำผลวิจัยไปใช้ประโยชน์โดยสามารถนำผลวิจัยนี้ไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่สอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภค และกำหนดกลยุทธ์การตลาด นอกจากเหนือจากกลุ่มผู้มีสุขภาพดีแล้วโดยเฉพาะในกลุ่มของวัยทำงานและผู้สูงวัย ผู้บริโภคได้รับข้อมูลเพื่อประกอบการตัดสินใจในการเลือกบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมกับความต้องการของตนเอง อย่างไรก็ตามแนะนำว่าควรศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ

เพิ่มเติมจากสารออกฤทธิ์สำคัญจำนวนทั้งสิ้น 15 ชนิดที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ควรแบ่งกลุ่มผู้ร่วมวิจัยเป็นกลุ่มย่อยเฉพาะ เช่น กลุ่มผู้สูงอายุ กลุ่มที่มีพฤติกรรมเสี่ยง กลุ่มที่มีอาชีพเสี่ยง และควรทำการวิจัยแบบสุ่มและจำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยที่มากขึ้น หรือเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรต่างจังหวัดให้เห็นความแตกต่างมากขึ้นเพื่อสนับสนุนหลักฐานทางการแพทย์เพิ่มเติมมากขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณอาสาสมัครทุกๆ ท่านที่มีความยินดีและเต็มใจเข้าร่วมงานวิจัยรวมถึงได้สละเวลามาเข้าร่วมการศึกษาวิจัย ขอบพระคุณคุณพีระยุทธ มั่งคั่ง กรรมการผู้จัดการ บริษัท สมาร์ท คลินิก จำกัด สำหรับความร่วมมือ อำนวยความสะดวกด้านสถานที่ เครื่องมือ บุคลากร และอุปกรณ์สนับสนุนการศึกษาวิจัยให้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism, 49*(2, Suppl 1), 3-8.

Brasnyó, P., Molnár, G. A., Mohás, M., Markó, L., Laczy, B., Cseh, J., Mikolás, E., Szijártó, I. A., Mérei, A., Halmai, R., Mészáros, L. G., Sümegi, B., & Wittmann, I. (2011) Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *British Journal of Nutrition, 106*(3), 383-389.

Brown, D. R., Gough, L. A., Deb, S. K., Sparks, S. A., & McNaughton, L. R. (2017). Astaxanthin in exercise metabolism, performance and recovery: A review. *Frontiers in Nutrition, 4*, 76.

Callergari1930, (2020). *Health screening by CR3000.* Retrieved 10 December 2020, from https://www.callegari1930.com/en/general-health-screening/cr3000rc

Carillon, J., Knabe, L., Montalban, A., Stévant, M., Keophiphath, M., Lacan, D., ... & Rouanet, J. M. (2014). Curative diet supplementation with a melon superoxide dismutase reduces adipose tissue in obese hamsters by improving insulin sensitivity. *Molecular Nutrition & Food Research, 58*(4), 842-850.

Chuayjaroen, P. (2015). The effect of boiling on antioxidant activity of King Oyster Mushroom, Jew's ear mushroom, Phoenix oyster mushroom and Shitake mushroom. *The 6th Academic Meeting National and International Conference* (pp. 382-390). Bangkok: Huachiew Chalermprakiet University. (in Thai)

Division of Non-Communicable Diseases, Department of Disease Control, Ministry of Public Health. (2019). *Number of patients and deaths from hypertension, diabetes, coronary heart disease and cerebrovascular disease of Thai people 2016-2018*. Retrieved December 10, 2019, from http://www.thaincd.com/2016/ mission/documents.php?tid=32&gid=1-020 (in Thai)

Duangjit, S., Suwannarat, K., Kittiphinitnunta, K., Ongwisut, P., Bumrungthai, S., Ngawhirunpat, T., Charoenputtakun, P., & Sila-On, W. (2019) Role of natural antioxidants for topical applications: Properties, efficacy, safety and novel delivery systems. *IJPS, 15*(1), 21-48. (in Thai)

Hebbar, V., Shen, G., Hu, R., Kim, B. R., Chen, C., Korytko, P. J., Crowell, J. A., Levine, B. S., & Kong, A. N. (2005). Toxicogenomics of resveratrol in rat liver. *Life Sciences, 76*(20), 2299-2314.

Hernández-Camacho, J. D., Bernier, M., López-Lluch, G., & Navas, P. (2018). Coenzyme Q(10) supplementation in aging and disease. *Frontiers in physiology, 9*, 44.

Kishimoto, Y., Yoshida, H., & Kondo, K. (2016). Potential anti-atherosclerotic properties of astaxanthin. *Marine Drugs, 14*(2), 35.

Lodovici, M., Bigagli, E., Luceri, C., Manni, M., & Zaid, M. (2011). Protective effect of resveratrol against oxidation stress induced by 2-nitropropane in rat liver. *Pharmacology & Pharmacy, 2*(3), 127-135.

Maipasert, M. (2019). *Anti-aging by Dr. Mart.* Bangkok: Mart Maipasert. (in Thai)

Mamah, B., Nisan, N., Duanyai, S., & Manok, S., (2017). Development of cosmetic product from leaves of *Moringa oleifera* Lam. collected in Sripoom Community in Thonburi area. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2*, 80-89. (in Thai)

Mukherjee, S., Dudley, J. I., & Das, D. K. (2010). Dose-dependency of resveratrol in providing health benefits. *Dose-response, 8*(4), 478–500.

Nishida, Y., Yamashita, E., & Miki, W. (2007). Quenching activities of common hydrophilic and lipophilic antioxidants against singlet oxygen using chemiluminescence detection system. *Carotenoid Science, 11*(6), 16-20.

Phunsawan, B. (2013). Free radicals, antioxidants and analysis of antioxidant activity. *Journal of Science and Technology, 21*(3), 275-286. (in Thai)

Rehou, S., Shahrokhi, S., Natanson, R., Stanojcic, M., & Jeschke, M. G. (2017). Antioxidant and trace element supplementation reduce the inflammatory response in critically Ill burn patients. *Journal of Burn Care & Research, 39*(1), 1-9.

Sakunphueak, A. (2004) *Free radical and antioxidant.* Retrieved 10 December 2020, from https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=204 (in Thai)

Salehi, B., Mishra, A. P., Nigam, M., Sener, B., Kilic, M., Sharifi-Rad, M., Fokou, P., Martins, N., & Sharifi-Rad, J. (2018). Resveratrol: A double-edged sword in health benefits. *Biomedicines, 6*(3), 91.

Singsai, K., Sakdavirote, A., Wechpanishkitkul, K., & Moonsamai, A. (2020). The comparison of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activities of the ethanolic extracts of shoots, leaves, fruits and seeds of *Leucaena leucocephala*. *Naresuan Phayao Journal, 13*(3), 66-73. (in Thai)

Sutin, S. (2016). Vitamins and free radicals. *Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal, 2*, 80-92. (in Thai)

Tiahou, G., Maire, B., Dupuy, A., Delage, M., Vernet, M. H., Mathieu-Daudé, J. C., . . . & Cristol, J. P. (2004). Lack of oxidative stress in a selenium deficient area in Ivory Coast. *European Journal of Nutrition, 43*(6), 367-374.

Tongco, M. D. C. (2007). Purposive sampling as a tool for informant selection. *Ethnobotany Research & Applications, 5*, 147-158.

Ullegaddi, R., Powers, H. J., & Gariballa, S. E. (2006). Antioxidant supplementation with or without B-group vitamins after acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition, 30*(2), 108–114.

Weiskirchen, S., & Weiskirchen, R. (2016). Resveratrol: How much wine do you have to drink to stay healthy? *Advances in nutrition, 7*(4), 706-718.

Willcox, J. K., Ash, S. L., & Catignani, G. L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical reviews in food science and nutrition, 44*(4), 275-295.

Wirasorn, K., Klarod, K., Hongsprabhas, P., & Boonsiri, P. (2014). Oxidative stress, antioxidant and cancer. *Srinagarind Medical Journal, 29*(2), 207-219. (in Thai)

Wongwanich, S., & Wiratchai, N. (2003). *Thesis consultation guidelines*. Bangkok: Textbooks and Academic Papers Center, Faculty of Education, Chulalongkorn University. (in Thai)

Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T., & Sato, T. (1994). Electrochemical method for estimating the antioxidative effect of methanol extracts of crude drugs. *Chemical and pharmaceutical bulletin, 42*, 1663-1665.