

นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลการบริโภคนมอัลมอนด์สกัดเย็นต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระใน
ผู้มีน้ำหนักเกินและอ้วนฉัตรภา หัตถโกศล^{(1)*}, มณีรัตน์ เตชะวิเชียร⁽¹⁾, ญาณิศา ทับเจริญ⁽¹⁾, สุวิมล ททรัพย์โรบล⁽²⁾, เนตรนภา อุ่นที่⁽¹⁾,
พร้อมลักษณ์ สรรพอคำ⁽¹⁾

วันที่ได้รับต้นฉบับ: 12 พฤษภาคม 2563

วันที่ตอบรับการตีพิมพ์: 14 สิงหาคม 2563

* ผู้รับผิดชอบบทความ

(1) ภาควิชาโภชนวิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล(2) ภาควิชาโภชนาการและการกำหนดอาหาร
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

โรคอ้วนและน้ำหนักเกินนำไปสู่โรคไม่ติดต่อเรื้อรังและทำให้สูญเสียคุณภาพชีวิต ในผู้ที่อ้วน ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายจะต่ำกว่าผู้ที่มีน้ำหนักตัวปกติ เนื่องจากปริมาณไขมันที่สะสมมากบริเวณกลางลำตัว การบริโภคอาหารที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ สามารถเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดได้จึงช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคเรื้อรังต่างๆ อัลมอนด์ จัดเป็นถั่วเปลือกแข็งที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก โพลีฟีนอล รวมทั้งฟลาโวนอยด์ กระบวนการผลิตนมอัลมอนด์ร่วมกับกรรมวิธีสกัดเย็นและฆ่าเชื้อด้วยแรงดันสูงช่วยรักษาคุณค่าของสารอาหารไว้ ดังนั้นวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของบริโภคนมอัลมอนด์สกัดเย็นเทียบกับนมชนิดต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในผู้ที่มีน้ำหนักเกินและอ้วน รูปแบบการศึกษาเป็นการวิจัยเชิงทดลองแบบ randomized control trial, parallel study ผู้ที่มีน้ำหนักเกินและโรคอ้วนจำนวน 62 คน ถูกแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ได้รับนมวัวผ่านความร้อน นมอัลมอนด์ผ่านความร้อน นมมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น นมอัลมอนด์สกัดเย็น และนมถั่วเหลืองผ่านความร้อน ทุกกลุ่มดื่มนมทุกวัน วันละ 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ประเมินผลโดยการตรวจค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเลือดด้วยวิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในสัปดาห์ที่ 0 และ 4 ผลการศึกษาเปรียบเทียบภายในกลุ่มพบว่ากลุ่มที่บริโภคนมมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น และนมอัลมอนด์สกัดเย็นมีค่า ORAC เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่า FRAP ทั้ง 5 กลุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบก่อนและหลังการทดลอง สำหรับการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มพบว่าหลังการทดลองกลุ่มที่บริโภคนมสกัดเย็นทั้ง 2 ชนิด มีค่า ORAC สูงกว่ากลุ่มที่บริโภคนมผ่านความร้อน 3 ชนิด ดังนั้นการบริโภคนมสกัดเย็นสามารถเพิ่มค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเลือดของผู้มีน้ำหนักเกินและอ้วนได้

คำสำคัญ: นมอัลมอนด์, การต้านอนุมูลอิสระ, อ้วน

Original Article

Effect of Cold Pressed Almond Milk Consumption on Antioxidant Capacity
among Overweight and Obese Adults

Chatrapa Hudthagosol^{(1)*}, Maneerat Techavichian⁽¹⁾, Yanisa Thapcharoen⁽¹⁾, Suwimol Sapwarabol⁽²⁾,
Netnapa Ounti⁽¹⁾, Promluck Sanporkha⁽¹⁾

Received Date: May 12, 2020

Accepted Date: August 14, 2020

Abstract

Obesity and overweight lead to the chronic diseases and loss of quality of life. In obese persons, antioxidant levels are lower than normal weight due to the levels of fat accumulating in central adiposity. The consumption of excellent foods providing natural antioxidant can increase serum antioxidant capacity, thus it can reduce the risk of chronic diseases. Almonds are classified as a nut which are rich source of phenolic compounds and polyphenol, including flavonoids. The almond milk process incorporating with cold pressed and high pressure processing (HPP) can maintain the nutritive values. Therefore, the aim was to study the effect of cold pressed HPP almond milk consumption with various types of milk on antioxidant capacity among overweight and obese adults. The study design was clinical study with randomized control trial, parallel study. Sixty-two subjects with overweight and obesity were randomized into five groups, receiving UHT cow milk, UHT almond milk, cold pressed HPP cashew and oat milk, cold pressed HPP almond milk, and UHT soy milk. All groups consumed 500 ml of milk daily for four weeks. The serum antioxidant capacity was determined by the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay at week 0 and week 4. The within-group comparisons revealed that cold pressed HPP cashew and oat milk, and cold pressed HPP almond milk group showed significant improvement in ORAC levels, while FRAP levels also showed significant improvement from baseline to end of all five groups. In addition, the between-group comparisons were found that two types of cold pressed HPP milk were more significant improvement in ORAC levels than three types of UHT milk. Thus, the consumption of cold pressed HPP milk could improve the serum antioxidant capacity among overweight and obese adults.

* Corresponding author

(1) Department of Nutrition, Faculty of
Public Health, Mahidol University

(2) Department of Nutrition and Dietetics,
Faculty of Allied Health Sciences,
Chulalongkorn University

Keywords: Almond Milk, Antioxidant Capacity, Obese Adults

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีจำนวนประชากรที่มีน้ำหนักเกินเกณฑ์เพิ่มขึ้นในทุกปี และมีแนวโน้มที่จะสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากข้อมูลการสำรวจสุขภาพประชาชนไทยโดยการตรวจร่างกายครั้งที่ 5 พ.ศ. 2557 พบว่าเกือบ 3 ใน 10 คนของชายไทย และ 4 ใน 10 คนของหญิงไทยอยู่ในเกณฑ์อ้วน (มีดัชนีมวลกาย ≥ 25 กก./ m^2) สำหรับภาวะอ้วนลงพุงในผู้ที่มีอายุ 15 ปีขึ้นไปพบในเพศชายร้อยละ 18.6 และเพศหญิงร้อยละ 45 (วิชัย เอกพลากร และคณะ, 2559) ในผู้ที่อ้วนกลไกการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระด้วยสารต้านอนุมูลอิสระจะต่ำกว่าผู้ที่มีน้ำหนักตัวปกติ ระดับของสารต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์ผกผันกับไขมันที่สะสมบริเวณพุง (Savini et al., 2013) ยังมีไขมันสะสมบริเวณพุงมากยังมีสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายน้อยลง จึงทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อการพัฒนาเป็นโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคไขมันในเลือดสูง โรคหัวใจและหลอดเลือด และโรคมะเร็งบางชนิด เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระพบได้ในอาหารและร่างกายสามารถผลิตขึ้นเองได้ ช่วยปกป้องเซลล์ในร่างกายจากการทำลายของอนุมูลอิสระ มีงานวิจัยที่ระบุว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระสามารถเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดเพื่อต่อสู้กับภาวะออกซิเดทีฟสเตรส และช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคเรื้อรังต่าง ๆ ได้ (Raman, 2018)

อัลมอนด์จัดเป็นถั่วเปลือกแข็งที่เป็นแหล่งที่ดีที่สุดของวิตามินอีที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยแมกนีเซียม ทองแดง ฟอสฟอรัส ไรโบฟลาวิน โปรตีน โยอาหารทั้งที่ละลายและไม่ละลายน้ำ รวมทั้งยังมีสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและโพลีฟีนอล และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพ ป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ (Chen, Lapsley, & Blumberg, 2006) ด้วยคุณประโยชน์มากมายจึงมีการนำอัลมอนด์มาแปรรูปเป็นนมเพื่อเป็นทางเลือกให้กับผู้ที่ต้องการดูแลสุขภาพและผู้ที่เป็นโรคอ้วน

ในปัจจุบันกระบวนการผลิตอาหารได้ก้าวหน้าไปมาก มีการใช้เทคโนโลยีการสกัดเย็นที่ใช้อัตราสูงที่ไม่ผ่านความร้อน (cold pressing) เพื่อช่วยสงวนคุณค่าทางโภชนาการ ร่วมกับใช้เทคโนโลยีการถนอมอาหาร

โดยใช้ความดันสูง (high pressure processing; HPP) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร โดยทำลายเชื้อโรค แต่ไม่ทำลายสารอาหาร จึงส่งผลดีต่อผู้บริโภค ทำให้ได้รับคุณค่าทางโภชนาการจากอาหารอย่างครบถ้วน ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการบริโภคนมที่มีจำหน่ายหลากหลายชนิด ทั้งผ่านความร้อนและใช้ความดันสูงต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด ซึ่งในการศึกษานี้ใช้การทดสอบด้วยวิธี ORAC และ FRAP

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของการบริโภคนมอัลมอนด์สกัดเย็นเทียบกับนมชนิดต่างๆ ได้แก่ นมวัวผ่านความร้อน นมถั่วเหลืองผ่านความร้อน นมอัลมอนด์ผ่านความร้อน และนมมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็นต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในผู้ที่มีน้ำหนักเกินและอ้วน

วิธีดำเนินการวิจัย**● รูปแบบการวิจัย**

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองแบบ Randomized control trial, parallel study ผู้เข้าร่วมวิจัยถูกสุ่มเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมได้รับนมวัวผ่านความร้อน กลุ่มทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ได้รับนมอัลมอนด์ผ่านความร้อน นมมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น นมอัลมอนด์สกัดเย็น และนมถั่วเหลืองผ่านความร้อน ตามลำดับ วัดผลก่อนและหลังการทดลองภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่ม

● ประชากรและขนาดตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นผู้ที่มีน้ำหนักเกินและอ้วนที่มีอายุระหว่าง 18-60 ปี และอาศัยอยู่ในกรุงเทพมหานครหรือปริมณฑล การคำนวณขนาดตัวอย่างในการศึกษานี้ ใช้สูตร (Sakpal, 2010)

$$n = \frac{[(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \times 2(\sigma)^2]}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

จากการศึกษาของ Li et al. (2011) อัลมอนด์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับคอเลสเตอรอลในเลือด

n คือ ขนาดของกลุ่มตัวอย่างต่อกลุ่ม

μ_1 คือ ค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงระดับ

คอเลสเตอรอลก่อนและหลังการทดลองในกลุ่มควบคุม = 5.5

μ_2 คือ ค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงระดับคอเลสเตอรอลก่อนและหลังการทดลองในกลุ่มทดลอง (อัลมอนต์) = 5.2

$\mu_1 - \mu_2$ คือ ค่าความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติ = 0.3

σ คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับคอเลสเตอรอล = 0.2

$Z_{\alpha/2}$ คือ ค่า Z สำหรับค่าความผิดพลาดแบบ I (Type I error) สำหรับการทดสอบสองทาง

Z_β คือ ค่า Z สำหรับค่าความผิดพลาดแบบ II (Type II error)

$$\beta = 0.20 \quad Z_\beta = Z_{0.2} = 0.84$$

$$\alpha = 0.05 \quad Z_{\alpha/2} = Z_{0.025} = 1.96$$

$$\text{แทนค่า } n = [(1.96+0.84)^2 \times 2(0.2)^2] / (5.5-5.2)^2$$

$$n = 6.969$$

Drop-out rate คำนวณจากสูตร (Sakpal, 2010)

$$N1 = n/(1-d)$$

n คือ ขนาดตัวอย่างที่ต้องการตามสูตร

d คือ อัตราการออกจากการวิจัยก่อนกำหนดระยะเวลาการศึกษา

N1 คือ จำนวนการปรับขนาดตัวอย่าง

เมื่อกำหนด Drop-out rate 40% ของจำนวนตัวอย่างที่คำนวณได้ สำหรับกรณีที่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยออกจากการวิจัยก่อนกำหนดระยะเวลาการศึกษา

$$\text{Drop-out rate 40\% } N1 = 6.969/(1-0.4) = 11.615$$

ดังนั้นขนาดตัวอย่างของแต่ละกลุ่มเท่ากับ 12 คน เมื่อรวมจำนวนตัวอย่างทั้ง 5 กลุ่มจึงเท่ากับ 60 คน

● การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง

การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างโดยคัดเลือกจากผู้ที่สนใจสมัครเข้าร่วมงานวิจัยจากการประกาศรับสมัครภายในมหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตราชวิถี บริเวณโดยรอบ และการประกาศผ่านสื่อสังคมออนไลน์ ผู้วิจัยทำการสัมภาษณ์เบื้องต้นทางโทรศัพท์ และนัดหมายให้มาคัดกรอง ซึ่งมีเกณฑ์การคัดเลือกเข้าการศึกษา ได้แก่

1. เพศชายหรือเพศหญิงมีสัญชาติไทย ที่มีอายุระหว่าง 18-60 ปี
2. มีค่าดัชนีมวลกาย 23-35 กิโลกรัม/เมตร²
3. มีรอบเอวมากกว่าหรือเท่ากับ 80 เซนติเมตร ในผู้หญิง และมากกว่าหรือเท่ากับ 90 เซนติเมตร ในผู้ชาย
4. เป็นหรือไม่เป็นโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และไขมันในเลือดสูง
5. อ่านและเขียนภาษาไทยได้ และเกณฑ์การคัดออกจากการศึกษา ได้แก่
 1. มีโรคแทรกซ้อน เช่น โรคตับ โรคไต โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และมีปัญหาการย่อยและการดูดซึม
 2. แพ้นม ถั่ว และอาหารประเภทโปรตีน
 3. รับประทานยาและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารบางชนิด หรือฮอร์โมนที่มีผลต่อการลดน้ำหนัก
 4. สูบบุหรี่
 5. เป็นผู้รับประทานมังสวิรัติ
 6. ตั้งครรภ์หรือวางแผนจะตั้งครรภ์ใน 6 เดือน หรืออยู่ในช่วงให้นมบุตร

● อาหารทดลองและวิธีการบริโภค

นมที่ใช้ในการศึกษามี 5 ชนิด เป็นนมที่บรรจุในกล่องยูเอชทีซึ่งเป็นยี่ห้อที่วางขายทั่วไป 3 ชนิด ได้แก่ นมวัว นมอัลมอนต์ นมถั่วเหลือง และอีก 2 ชนิดเป็นนมที่สกัดเย็นผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเทคโนโลยีการถนอมอาหารด้วยความดันสูง ได้แก่ นมอัลมอนต์สกัดเย็น และนมมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น โดยมีพลังงานและสารอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 1 ผู้เข้าร่วมวิจัยต้องบริโภคนมวันละ 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แบ่งบริโภควันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 250 มิลลิลิตร ก่อนอาหารเช้าและเย็น ผู้เข้าร่วมวิจัยต้องหลีกเลี่ยงการดื่มนมทุกชนิดที่นอกเหนือจากที่ได้รับจากผู้วิจัย เช่น นมวัว นมถั่วเหลือง น้ำเต้าหู้ โยเกิร์ต นมเปรี้ยว นมผสมธัญพืช ยาคุลย์ นมผง และไอศกรีม รวมทั้งถั่วอัลมอนต์ เม็ดมะม่วงหิมพานต์ และข้าวโอ๊ต จนกว่าการวิจัยจะเสร็จสิ้น สำหรับอาหารและผลไม้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ผู้วิจัยได้ให้ผู้เข้าร่วมวิจัยจดบันทึกอาหารที่บริโภคเป็นเวลา 3 วัน (3-day food record) โดยเป็นวันทำงาน 2 วันและวันหยุด 1 วัน ก่อนและหลังการทดลอง เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของอาหารที่บริโภคว่ามีความแตกต่างกันระหว่างก่อนและหลังการบริโภค สำหรับนม

ที่เป็นส่วนผสมในอาหารปริมาณไม่มากสามารถบริโภคได้ เช่น ขนมเค้ก คุกกี้ และขนมปัง เป็นต้น และให้คงรูปแบบการดำเนินชีวิตตลอดโครงการวิจัย

● ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

ระยะเวลาการดำเนินการวิจัย 5 สัปดาห์ แบ่งเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงก่อนทดลอง 1 สัปดาห์ และช่วงทดลอง 4 สัปดาห์

1. ช่วงก่อนทดลอง ใช้เวลา 1 สัปดาห์

ผู้วิจัยนัดหมายผู้สนใจเข้าร่วมวิจัยที่ผ่านการสัมภาษณ์ทางโทรศัพท์มาคัดกรองที่คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยการชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง เพื่อคำนวณดัชนีมวลกาย และวัดรอบเอว ผู้ที่ผ่านคุณสมบัติ ผู้วิจัยได้อธิบายให้ทราบถึงวัตถุประสงค์วิธีการดำเนินการศึกษา และให้ลงนามในเอกสารยินยอมตนเข้าร่วมโครงการวิจัย จากนั้นให้ตอบแบบสอบถามข้อมูลทั่วไป

2. ช่วงทดลอง ใช้เวลา 4 สัปดาห์

ผู้เข้าร่วมวิจัยเริ่มบริโภคนมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 ถึงสัปดาห์ที่ 4 ในวันเริ่มการทดลองและวันสิ้นสุดการศึกษา ผู้วิจัยได้ให้ผู้เข้าร่วมวิจัยดื่มน้ำและอาหารมาเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำที่แขน ผู้วิจัยนำตัวอย่างเลือดปริมาณ 3 มิลลิลิตรที่บรรจุในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) มาปั่นแยกพลาสมาด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างส่วนที่เป็นซีรัมไปวิเคราะห์หาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)

● วิธีการวิเคราะห์ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ มี 2 วิธี

1. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay

ปีเปตซีรัม 25 ไมโครลิตรผสมกับ Fluorescein 150 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 15 นาทีที่ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นหยอดสารละลาย AAPH 25 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าความเข้มของแสงที่ความยาวคลื่นแสงตกกระทบ 485 และความยาวคลื่นแสงที่ต้องการวัด 528 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (Synergy HT, Bio-Tex Instruments, Vermont, USA) ใช้

สารละลายโทรลล็อกซ์ความเข้มข้น 6.25 ถึง 100 ไมโครโมลาร์เป็นสารมาตรฐาน คำนวณผลการทดลองจากความแตกต่างของพื้นที่ใต้กราฟโดยการสลายตัวของโซเดียมฟลูออเรสซิน (AUC) รายงานผลเป็นหน่วยไมโครโมลโทรลล็อกซ์ต่อลิตร ($\mu\text{mol TE/L}$)

2. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

ปีเปตซีรัม 20 ไมโครลิตรผสมกับสารละลาย FRAP (acetate buffer, TPTZ และ $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (Synergy HT, Bio-Tex Instruments, Vermont, USA) ใช้สารละลายโทรลล็อกซ์ความเข้มข้น 6.25 ถึง 400 ไมโครโมลาร์เป็นสารมาตรฐาน รายงานผลเป็นหน่วยไมโครโมลโทรลล็อกซ์ต่อลิตร ($\mu\text{mol TE/L}$)

● ข้อพิจารณาจริยธรรมวิจัยโครงการวิจัยนี้

โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจริยธรรมวิจัยในมนุษย์ โดยคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เอกสารรับรองโครงการวิจัย COA. No. MUPH 2019-102

● การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS version 20 กำหนดค่าระดับความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value} \leq 0.05$ แสดงข้อมูลด้วยการแจกแจงความถี่ ค่าเฉลี่ย และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ทดสอบค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มของข้อมูลคุณลักษณะพื้นฐานด้วย Chi-square test เปรียบเทียบค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระภายในกลุ่มด้วย Paired t-test ระหว่างกลุ่มด้วย One way ANOVA และทดสอบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์เป็นรายคู่ด้วยวิธี Duncan

ผลการวิจัย

1. ลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่เข้าร่วมการศึกษามีจำนวน 64 คน ซึ่งเกินจากที่คำนวณได้มา 4 คน ทั้งหมดเป็นผู้มีน้ำหนักเกินและโรคอ้วน มี 2 คนออกจากการศึกษาเนื่องจากเหตุผลส่วนตัว 1 คน และเข้ารับรักษาตัวในโรงพยาบาลด้วยโรคประจำตัว 1 คน จึงมีผู้เข้าร่วมวิจัยที่อยู่จนจบการศึกษา

62 คน แบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับนมวัวผ่านความร้อน 12 คน นมอัลมอนด์ผ่านความร้อน 11 คน นมมะม่วงหิมพานต์ และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น 13 คน นมอัลมอนด์สกัดเย็น 13 คน และนมถั่วเหลืองผ่านความร้อน 13 คน แต่มีผู้ที่มีค่าสูงผิดปกติจึงถูกตัดออกจำนวน 7 คน ดังนั้นจึงเหลือผู้เข้าร่วมวิจัย กลุ่มละ 11 คน สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูล คุณลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง อายุ 51-60 ปี มีอายุโดยเฉลี่ย 40-48 ปี นับถือศาสนาพุทธ จบการศึกษาระดับปริญญาตรี ประกอบอาชีพเป็นพนักงานบริษัท/ห้าง/ร้าน มีรายได้มากกว่า 25,000 บาทต่อเดือน มีโรคประจำตัวเป็นไขมันในเลือดสูงที่สุด รองลงมาเป็นโรคความดันโลหิตสูง และโรคเบาหวาน ตามลำดับ ไม่ดื่มสุรา ไม่สูบบุหรี่ และออกกำลังกายแต่ไม่สม่ำเสมอ ซึ่งทั้ง 5 กลุ่มมีคุณลักษณะพื้นฐานไม่แตกต่างกันเมื่อทดสอบทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 2

2. ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อเปรียบเทียบค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระภายในกลุ่มก่อนและหลังบริโภคด้วยวิธี ORAC พบว่ากลุ่มที่บริโภคนมสกัดเย็นทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ นมมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น และนมอัลมอนด์สกัดเย็นมีค่า ORAC เพิ่มขึ้น $5,011.15 \pm 1,091.55$ และ $4,128.60 \pm 1,197.82$ $\mu\text{mol TE/L}$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value}=0.001$ และ 0.006 ตามลำดับ ส่วนค่า FRAP พบว่าทุกกลุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value}=0.000$ ถ้าเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า ORAC พบว่าก่อนการทดลองแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน แต่หลังการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบว่า นมอัลมอนด์สกัดเย็นมีค่า ORAC สูงกว่านมถั่วเหลืองผ่านความร้อนและนมอัลมอนด์ผ่านความร้อน สำหรับนมวัวผ่านความร้อนและนมมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็นมีค่า ORAC สูงกว่านมอัลมอนด์ผ่านความร้อน และนมถั่วเหลืองผ่านความร้อนมีค่า ORAC สูงกว่านมอัลมอนด์ผ่านความร้อน ขณะที่ในนมสกัดเย็นทั้ง 2 ชนิดพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนค่า FRAP เนื่องจากมีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มตัวอย่างตั้งแต่ก่อนการทดลอง ดังนั้นผลของการเปลี่ยนแปลงภายหลังการทดลองจึงไม่อาจสรุปได้ว่ามาจากการบริโภคนม ดังแสดงในตารางที่ 3

บทสรุปและอภิปรายผล

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการบริโภคนมที่ผ่านกระบวนการถนอมอาหารที่แตกต่างกันส่งผลต่อค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเลือด ได้แก่ ค่า ORAC และ FRAP ที่แตกต่างกัน หลังการทดลองพบว่า นมทั้ง 5 ชนิดสามารถเพิ่มค่า FRAP ในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนทดลอง ในการศึกษาที่ยังพบความแตกต่างของค่า ORAC ระหว่างก่อน (สัปดาห์ที่ 0) และหลังการทดลอง (สัปดาห์ที่ 4) เฉพาะในกลุ่มที่บริโภคนมสกัดเย็นเท่านั้น ได้แก่ นมมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น และนมอัลมอนด์สกัดเย็นโดยมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อาจเนื่องมาจากสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ตามธรรมชาติในเมล็ดอัลมอนด์ เม็ดมะม่วงหิมพานต์ และข้าวโอ๊ต ดังนั้นเมื่อบริโภคเข้าไปในร่างกายจึงช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเลือดได้ Milbury และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาศาสตร์ต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดอัลมอนด์ 8 สายพันธุ์ พบว่ามีฟลาโวนอยด์ 18 ชนิด และกรดฟีนอลิก 3 ชนิด ในขณะที่ Kornsteiner และคณะ (2006) พบสารประกอบฟีนอลิก แอลฟา, เบต้า และแกมมา-โทโคฟีรอลในเมล็ดอัลมอนด์ด้วย ส่วนเม็ดมะม่วงหิมพานต์พบเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก เบต้า และแกมมา-โทโคฟีรอล สำหรับข้าวโอ๊ตพบสารประกอบฟีนอลิกเช่นกัน และยังพบว่ามีค่า FRAP สูงเป็นลำดับที่ 3 เมื่อเทียบกับธัญพืชเต็มเมล็ดทั้ง 7 ชนิด (Hodzic et al., 2009) โดยผลการศึกษาในครั้งนี้ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Davis และคณะ (2007) ที่ศึกษาในผู้ที่มีภาวะเมตาบอลิกซินโดรมจำนวน 64 คน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มทดลองที่ 1 บริโภคคอลนัท กลุ่มทดลองที่ 2 บริโภคเม็ดมะม่วงหิมพานต์ และกลุ่มควบคุมงดการบริโภคถั่วและผลิตภัณฑ์จากถั่วทุกชนิด ทุกกลุ่มได้รับอาหารควบคุมจากผู้วิจัยครบทั้ง 3 มื้อ เป็นเมนูอาหารหมุนเวียน 14 วัน เพื่อควบคุมน้ำหนักของผู้เข้าร่วมวิจัยระหว่างการทดลองไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อครบ 8 สัปดาห์พบว่าค่า ORAC ของกลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่มมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

สำหรับการเปรียบเทียบค่า ORAC ในสัปดาห์ที่ 4 ของนมทั้ง 5 ชนิด พบว่าในกลุ่มที่บริโภคนมสกัดเย็นทั้ง 2 ชนิดมีค่า ORAC สูงกว่ากลุ่มที่บริโภคนมผ่านความร้อนอาจเนื่องมาจากเทคโนโลยีการผลิตด้วยวิธีการสกัดเย็นที่ใช้แรงบีบอัดสูงที่ไม่ผ่านความร้อนและใช้วิธีการ

ถนอมอาหารด้วยความดันสูง ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตและถนอมอาหารที่ไม่ใช้ความร้อน สามารถช่วยยับยั้งการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหารได้ โดยไม่ส่งผลเสียต่อคุณภาพและรสชาติของอาหาร ในขณะที่กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยการใช้ความร้อน เช่น พาสเจอร์ไรส์ สเตอริไลซ์ และยูเอชที ทำให้อาหารสูญเสียคุณภาพและคุณค่าทางโภชนาการ (ฤทธิชัย อัครราชันย์, 2559) มีการศึกษาของ Zhang และคณะ (2016) ที่เปรียบเทียบการแปรรูปเครื่องดื่มน้ำแครอทด้วยการใช้ความดันสูง 550 เมกะปาสคาล เป็นเวลา 6 นาที กับการใช้ความร้อนสูงระยะเวลาสั้นที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 8 วินาที พบว่าน้ำแครอทที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการใช้ความดันสูงมีสารแคโรทีนอยด์ โพลีฟีนอล และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิธีการใช้ความร้อนสูงระยะเวลาสั้น ยังมีการศึกษาของ Patras และคณะ (2009) ที่เปรียบเทียบผลของการใช้ความดันสูงที่แตกต่างกัน ได้แก่ ความดัน 400, 500 และ 600 เมกะปาสคาล เป็นเวลา 15 นาที กับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ในสตรอว์เบอร์รีบด และแบล็คเบอร์รีบด พบว่าการใช้ความดันสูงส่งผลให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการใช้ความร้อนในผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด นอกจากนี้ใน สตรอว์เบอร์รีบดที่ผ่านการใช้ความดันสูงยังมีสารประกอบฟีนอลิก กรดแอสคอร์บิก และแอนโทไซยานิน มากกว่าสตรอว์เบอร์รี

เอกสารอ้างอิง

- ฤทธิชัย อัครราชันย์. (2559). ผลของการใช้ความดันสูงในการทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ของจุลินทรีย์ในอาหาร [ฉบับออนไลน์]. วารสารสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย, 22(2), 41-48
- วิชัย เอกพลากร, หทัยชนก พรรคเจริญ, กนิษฐา ไทยกล้า, & วราภรณ์ เสถียรนพแก้ว. (2559). การสำรวจสุขภาพประชาชนไทยโดยการตรวจร่างกายครั้งที่ 5 พ.ศ. 2557. นนทบุรี: สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข.
- Chen, C. Y., Lapsley, K., & Blumberg, J. (2006). A nutrition and health perspective on almonds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14), 2245-2250.
- Davis, L., Stonehouse, W., Mukuddem-Petersen, J., van der Westhuizen, F. H., Hanekom, S. M., & Jerling, J. C. (2007). The effects of high walnut and cashew nut diets on the antioxidant status of subjects with metabolic syndrome. *European journal of nutrition*, 46(3), 155-164.
- Hodzic, Z., Pasalic, H., Memisevic, A., Srabovic, M., Saletovic, M., & Poljakovic, M. (2009). The influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extracts. *European Journal of Scientific Research*, 28(3), 471-477.
- Kornsteiner, M., Wagner, K.-H., & Elmadfa, I. (2006). Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. *Food Chemistry*, 98(2), 381-387.

บดที่ผ่านการใช้ความร้อน จึงสรุปได้ว่ากระบวนการถนอมอาหารด้วยการใช้ความดันสูงช่วยคงคุณค่าสารอาหารได้มากกว่า ดังนั้นเมื่อบริโภคอาหารที่อุดมไปด้วยทั้งสารต้านอนุมูลอิสระและผ่านกระบวนการใช้ความดันสูงจึงส่งผลให้ในเลือดมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าการบริโภคอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระต่ำและผ่านกระบวนการใช้ความร้อน

ข้อเสนอแนะหรือการนำไปใช้ประโยชน์

ควรทำการวิเคราะห์หาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง ORAC และ FRAP ของทุกผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง เพื่อเป็นการยืนยันว่าถ้าผลิตภัณฑ์มีค่าสารต้านอนุมูลอิสระสูง เมื่อร่างกายดูดซึมไปใช้ได้ดี จะส่งผลให้ในเลือดมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง จึงช่วยลดอนุมูลอิสระที่ทำให้เซลล์ในร่างกายเสื่อมและเป็นสาเหตุของการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ร่วมกับศูนย์ความเป็นเลิศด้านชีววิทยาศาสตร์ (องค์การมหาชน) กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และบริษัท เฟรชเชอร์คิทเช่น จำกัด ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย และขอขอบคุณผู้เข้าร่วมวิจัยทุกท่านที่เข้าร่วมการศึกษาและให้ความร่วมมือในการวิจัยในครั้งนี้

- Li, S. C., Liu, Y. H., Liu, J. F., Chang, W. H., Chen, C. M., & Chen, C. Y. O. (2011). Almond consumption improved glycemic control and lipid profiles in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, *60*(4), 474-479.
- Milbury, P. E., Chen, C. Y., Dolnikowski, G. G., & Blumberg, J. B. (2006). Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(14), 5027-5033
- Patras, A., Brunton, N. P., Da Pieve, S., & Butler, F. (2009). Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *10*(3), 308-313.
- Raman, R. (2018). **12 Healthy Foods High in Antioxidants**. Retrieved May 1, 2020, from <https://www.healthline.com/nutrition/foods-high-in-antioxidants>
- Sakpal, T. (2010). Sample size estimation in clinical trial. *Perspectives in Clinical Research*, *1*(2), 67.
- Savini, I., Catani, M. V., Evangelista, D., Gasperi, V., & Avigliano, L. (2013). Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *International journal of molecular sciences*, *14*(5), 10497-10538.
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Zhao, F., Sun, Z., & Liao, X. (2016). Quality comparison of carrot juices processed by high-pressure processing and high-temperature short-time processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *33*, 135-144.

ตารางที่ 1 ปริมาณพลังงานและสารอาหารของนมแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดลอง

พลังงานและสารอาหาร	นมวัว ผ่านความร้อน	นมอัลมอนต์ ผ่านความร้อน	นมมะม่วงหิมพานต์และ ข้าวโอ๊ตสกัดเย็น	นมอัลมอนต์ สกัดเย็น	นมถั่วเหลือง ผ่านความร้อน
พลังงานทั้งหมด (kcal)	163	98	160	220	160
ไขมันทั้งหมด (g)	10	8.4	10	17	7
ไขมันอิ่มตัว (g)	6.3	0.7	1	1.5	2
โปรตีน (g)	7.5	2.8	5	9	9
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (g)	11.3	1.4	12.5	8	15

ตารางที่ 2 คุณลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง

คุณลักษณะ	จำนวนคน (n)					p-value
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลองที่ 1	กลุ่มทดลองที่ 2	กลุ่มทดลองที่ 3	กลุ่มทดลองที่ 4	
เพศ						0.970
ชาย	2	2	2	2	1	
หญิง	9	9	9	9	10	
กลุ่มอายุ (ปี)						0.676
21-30	1	1	3	0	1	
31-40	1	2	3	3	1	
41-50	3	3	3	2	2	
51-60	6	5	2	6	7	
Mean±S.D.	46.7±9.9	45.6±11.1	40.6±11.8	47.3±8.8	48.1±10.1	
รายได้ (บาทต่อเดือน)						0.184
≤5,000	2	0	0	1	2	
5,001-10,000	3	0	1	0	1	
10,001-15,000	2	4	3	1	2	
15,001-20,000	1	3	3	0	2	
20,001-25,000	0	2	0	4	1	
>25,000	3	2	4	5	3	

ตารางที่ 2 คุณลักษณะพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง (ต่อ)

คุณลักษณะ	จำนวนคน (n)					p-value
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลองที่ 1	กลุ่มทดลองที่ 2	กลุ่มทดลองที่ 3	กลุ่มทดลองที่ 4	
โรคประจำตัว (1 คนอาจมีโรคประจำตัวมากกว่า 1 โรค)						
ภาวะก่อนเป็นเบาหวาน	0	0	3	2	1	-
เบาหวาน	4	3	0	1	2	
ไขมันในเลือดสูง	10	11	10	9	8	
ความดันโลหิตสูง	2	3	1	5	2	
ภูมิแพ้	1	2	1	1	0	
อื่น ๆ	1	2	1	0	1	
กินยารักษาโรคประจำตัว (1 คนอาจมีโรคประจำตัวมากกว่า 1 โรค)						
ยาลดน้ำตาลในเลือด	2	2	1	1	2	-
ยาลดไขมันในเลือด	0	2	0	2	2	
ยาลดความดันโลหิต	3	3	1	4	2	
ยารักษาภูมิแพ้	0	0	0	0	0	
อื่น ๆ	1	3	0	0	1	
การดื่มแอลกอฮอล์						
ดื่ม	2	1	2	3	1	0.762
ไม่ดื่ม	9	10	9	8	10	
การสูบบุหรี่						
ไม่สูบ	10	10	11	10	11	0.715
เคยสูบ	1	1	0	1	0	
ออกกำลังกาย						
ไม่ออกกำลังกาย	3	2	1	3	2	0.889
ออกกำลังกายแต่ไม่สม่ำเสมอ	8	7	9	7	8	
ออกกำลังกายสม่ำเสมอ	0	2	1	1	1	

กลุ่มควบคุม = นมวัวผ่านความร้อน, กลุ่มทดลองที่ 1 = นมอัลมอนต์ผ่านความร้อน, กลุ่มทดลองที่ 2 = นมเม็ดมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น, กลุ่มทดลองที่ 3 = นมอัลมอนต์สกัดเย็น, กลุ่มทดลองที่ 4 = นมถั่วเหลืองผ่านความร้อน

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจำแนกตามกลุ่มและระยะเวลาการศึกษา

ตัวแปร	ระยะเวลาการศึกษา		การเปลี่ยนแปลง (สัปดาห์ 4-0)	p-value ^a
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 4		
ORAC (μmol TE/L)				
กลุ่มควบคุม	21,490.43±1,208.18	23,645.92±598.08 ^{ab}	2,155.49±1,416.45	0.159
กลุ่มทดลองที่ 1	18,704.28±799.35	16,342.32±935.70 ^c	-2,361.96±1,310.13	0.102
กลุ่มทดลองที่ 2	19,316.12±746.50	24,327.28±1,037.68 ^{ab}	5,011.15±1,091.55	0.001*
กลุ่มทดลองที่ 3	21,464.89±935.38	25,593.49±881.78 ^a	4,128.60±1,197.82	0.006*
กลุ่มทดลองที่ 4	20,901.97±1,146.66	22,117.25±865.76 ^b	1,215.28±1,527.01	0.445
p-value ^b	0.163	0.000*		
FRAP (μmol TE/L)				
กลุ่มควบคุม	158.31±14.48 ^{bc}	591.44±45.29 ^a	433.13±49.24	0.000*
กลุ่มทดลองที่ 1	144.44±14.41 ^c	486.56±28.61 ^b	342.12±35.77	0.000*
กลุ่มทดลองที่ 2	198.81±11.73 ^a	510.19±16.41 ^{ab}	311.38±17.56	0.000*
กลุ่มทดลองที่ 3	180.28±7.24 ^{ab}	579.94±25.49 ^a	399.67±27.59	0.000*
กลุ่มทดลองที่ 4	139.34±5.64 ^c	520.09±16.55 ^{ab}	380.76±19.26	0.000*
p-value ^b	0.002*	0.049*		

กลุ่มควบคุม = นมวัวผ่านความร้อน, กลุ่มทดลองที่ 1 = นมอัลมอนต์ผ่านความร้อน, กลุ่มทดลองที่ 2 = นมเม็ดมะม่วงหิมพานต์และข้าวโอ๊ตสกัดเย็น, กลุ่มทดลองที่ 3 = นมอัลมอนต์สกัดเย็น, กลุ่มทดลองที่ 4 = นมถั่วเหลืองผ่านความร้อน

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่า Mean±SEM

^a ค่า p-value ที่ได้จากสถิติ Paired t-test และ ^b ค่า p-value ที่ได้จากสถิติ One way ANOVA

^{a-c} คือ ค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละชุดในแนวตั้งที่มีตัวอักษรแตกต่างกัน ซึ่งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)