

EFFECTS OF REPLACING SUCROSE BY ISOMALTULOSE IN GREEN TEA BEVERAGE  
ON POSTPRANDIAL GLUCOSE, INSULIN LEVEL AND ANTIOXIDANT CAPACITY  
IN HEALTHY SUBJECTS

Mr. Passakorn Suraphad



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Food and Nutrition  
Department of Nutrition and Dietetics  
Faculty of Allied Health Sciences  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว  
ต่อระดับน้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม  
ในคนสุขภาพดี



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ ภาควิชาโภชนาการและการกำหนดอาหาร  
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2557  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title	EFFECTS OF REPLACING SUCROSE BY ISOMALTULOSE IN GREEN TEA BEVERAGE ON POSTPRANDIAL GLUCOSE, INSULIN LEVEL AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN HEALTHY SUBJECTS
By	Mr. Passakorn Suraphad
Field of Study	Food and Nutrition
Thesis Advisor	Kittana Makynen, Ph.D.

---

Accepted by the Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....Dean of the Faculty of Allied Health Sciences  
(Associate Professor Prawit Janwantanakul, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

.....Chairman  
(Associate Professor Sirichai Adisakwattana, Ph.D.)

.....Thesis Advisor  
(Kittana Makynen, Ph.D.)

.....Examiner  
(Sathaporn Ngamukote, Ph.D.)

.....External Examiner  
(Assistant Professor Sriwatana Songchitsomboon, D.Sc.)

ภาสกร สุระผัด : ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว ต่อระดับน้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม ในคนสุขภาพดี (EFFECTS OF REPLACING SUCROSE BY ISOMALTULOSE IN GREEN TEA BEVERAGE ON POSTPRANDIAL GLUCOSE, INSULIN LEVEL AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN HEALTHY SUBJECTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: กิตติภา แมคิเน็น, 116 หน้า.

การบริโภคเครื่องดื่มชาที่มีการเติมน้ำตาลมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการบริโภคเครื่องดื่มที่เติมน้ำตาลมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นระยะยาว ไอโซมอลทูลอสเป็นสารให้ความหวานที่มีดัชนีน้ำตาลต่ำจึงได้รับความสนใจในการใช้ทดแทนน้ำตาลในเครื่องดื่ม ดังนั้น การวิจัยนี้จึงศึกษาผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับน้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่มในคนสุขภาพดี การออกแบบงานวิจัยเป็นการทดลองแบบสุ่มไม่ไขว้ ผู้เข้าร่วมทั้งหมด 18 คน ได้รับการสุ่มให้ดื่มเครื่องดื่ม 5 ชนิด (400 มล.) ซึ่งมีส่วนผสมของ 1) น้ำตาลซูโครส 50 กรัม (SU) 2) ไอโซมอลทูลอส 50 กรัม (ISO) 3) ชาเขียว (GT) 4) ชาเขียว+น้ำตาลซูโครส 50 กรัม (GT+SU) หรือ 5) ชาเขียว+ไอโซมอลทูลอส 50 กรัม (GT+ISO) เครื่องดื่มชาเขียวมีปริมาณโพลิฟีนอลรวมเทียบเท่า  $1.20 \pm 0.05$  มก.กรดแกลลิก/มล. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) ในเครื่องดื่มชาเขียวทุกชนิด GT, GT+SU และ GT+ISO ไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์ระดับน้ำตาลกลูโคส, อินซูลิน, FRAP และ malonaldehyde (MDA) ในเลือดหลังดื่มเครื่องดื่ม พบว่าการบริโภค GT+SU ลดระดับน้ำตาล และ อินซูลินได้ เมื่อเทียบกับ SU และการบริโภค GT+ISO ลดระดับน้ำตาลและอินซูลินได้มากกว่า ISO และ GT+SU ผลการศึกษานี้ถูกยืนยันโดยการศึกษาในหลอดทดลองพบว่าชาเขียวสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไอโซมอลเทสได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการบริโภคชาเขียวเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) ในเลือด ขณะที่ FRAP ลดลงเมื่อบริโภคร่วมกับน้ำตาลซูโครส ในทางตรงกันข้ามการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว สามารถรักษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของชาเขียวไว้ได้ และการดื่ม GT+ISO สามารถลดระดับ MDA ในเลือดได้มากกว่าการดื่ม GT+SU สรุปได้ว่าการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียวทำให้ระดับน้ำตาล, อินซูลิน, FRAP และ MDA ในเลือด

ปริญญานิพนธ์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: กิตติภา แมคิเน็น  
ภาควิชาอาหารและโภชนาการ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา อาหารและโภชนาการ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....



# # 5576857037 : MAJOR FOOD AND NUTRITION

KEYWORDS: GREEN TEA / GLYCEMIC RESPONSE / ANTIOXIDANT / SUCROSE / ISOMALTULOSE

PASSAKORN SURAPHAD: EFFECTS OF REPLACING SUCROSE BY ISOMALTULOSE IN GREEN TEA BEVERAGE ON POSTPRANDIAL GLUCOSE, INSULIN LEVEL AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN HEALTHY SUBJECTS. ADVISOR: KITTANA MAKYNEN, Ph.D., 116 pp.

Consumption trend of sweetened tea beverage has been increased. There is a link between sweetened beverage consumption and long-term weight gain. Isomaltulose (low-glycemic sweetener) has been interested in replacing sugar in beverage. Therefore, this study investigated the effects of replacing sucrose by isomaltulose in green tea beverage on glycemic response and antioxidant capacity in healthy subjects. Eighteen healthy subjects were randomized to drink a beverage (400 mL) containing: 1) 50 g sucrose (SU), 2) 50 g isomaltulose (ISO), 3) green tea (GT), 4) green tea+50 g sucrose (GT+SU) or 5) green tea+50 g isomaltulose (GT+ISO) with crossover-design. Total polyphenol of green tea beverage was  $1.202 \pm 0.05$  mg gallic acid equivalent/mL. GT, GT+SU and GT+ISO had no significant difference of antioxidant capacity (Ferric reducing antioxidant power, FRAP). The results showed that consumption of GT+SU suppressed postprandial plasma glucose and insulin concentration, compared with SU. Moreover, consumption of GT+ISO showed a significant higher reduction of postprandial plasma glucose and insulin concentration than ISO and GT+SU. In addition, *our in vitro study* showed that green tea had inhibitory effect on isomaltase activity with dose dependent manner. Furthermore, the antioxidant capacity increased after drinking green whereas it decreased when drinking GT+SU. In contrast, replacing SU by ISO in GT preserved antioxidant capacity of GT. Besides, consumption of GT+ISO produced a greater reduction of malonaldehyde (MDA) than GT+SU. In conclusion, the glycemic response and antioxidant capacity improved when replaced sucrose by isomaltulose in green tea beverage.

Department: Nutrition and Dietetics Student's Signature .....

Field of Study: Food and Nutrition Advisor's Signature .....

Academic Year: 2014

## ACKNOWLEDGEMENTS

First and foremost, I would like to express my sincere thanks to my thesis advisor, Dr. Kittana Makynen, Ph.D. for her invaluable help, suggestion, patience and encouragement throughout the course of this research. I am most grateful for her teaching and advice, not only the research but also many other methodologies in my life. This thesis would not have been completed without all the support that I have always received from her.

In addition, I would like to express my very great appreciation to my thesis chairman, Assoc. Prof. Sirichai Adisakwattana, Ph.D. for his valuable help and constructive suggestions during the planning and development of this research work. And the special thanks for my co-advisor, Dr. Sathaporn Ngamukote, Ph.D. and Asst. Prof. Sriwatana Songchitsomboon for all of comment, good suggestion and all their help.

I would like to thanks of all participants in this study, our helpful colleague, and also the laboratory facilities at the Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University.

Moreover, I take this opportunity to thank the 90th Anniversary of Chulalongkorn University Fund (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund) and the Research Group of Herbal Medicine for Prevention and Therapeutic of Metabolic Diseases for financial supported.

Finally, I most gratefully acknowledge my family and my friends for all their support and encouragement throughout the period of this research.

## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT .....	iv
ENGLISH ABSTRACT .....	v
ACKNOWLEDGEMENTS .....	vi
CONTENTS .....	vii
LIST OF FIGURES .....	ix
LIST OF TABLES .....	xi
CHAPTER I.....	12
1.1 BACKGROUND .....	12
1.2 OBJECTIVES OF THE STUDY .....	15
1.3 HYPOTHESES OF THE STUDY.....	15
1.4 CONCEPTUAL FRAMEWORK.....	16
CHAPTER II .....	1
2.1 ANTIOXIDANT .....	1
2.2 OXIDATIVE STRESS .....	3
2.3 TEA .....	7
2.4 GREEN TEA .....	8
2.5 SUGARY BEVERAGE.....	15
2.7 ARTIFICIAL SWEETENERS .....	21
2.8 ISOMALTULOSE .....	24
CHAPTER III.....	27
3.1 MATERIAL AND EQUIPMENT .....	27
3.2 EXPERIMENTS.....	29

	Page
<u>PART I</u> PREPARATION AND ANALYSES OF BEVERAGES .....	30
<u>PART II</u> HUMAN STUDY.....	33
<u>PART III</u> INHIBITION OF $\alpha$ -GLUCOSIDASE ACTIVITY BY GREEN TEA EXTRACT .....	41
CHAPTER IV .....	44
<u>PART I</u> PREPARATION AND ANALYSES OF BEVERAGES .....	44
<u>PART II</u> HUMAN STUDY.....	48
<u>PART III</u> INHIBITION OF $\alpha$ -GLUCOSIDASE ACTIVITY BY GREEN TEA EXTRACT .....	71
CHAPTER V .....	73
CHAPTER VI .....	81
REFERENCES .....	82
VITA.....	116



## LIST OF FIGURES

<b>Figure 1</b> Mechanisms of oxidative cellular damage .....	4
<b>Figure 2</b> Lipid peroxidation process .....	5
<b>Figure 3</b> Lipid peroxidation process lead to the formation of secondary products.....	5
<b>Figure 4</b> Chemical stature of some secondary products.....	6
<b>Figure 5</b> Tea processing .....	8
<b>Figure 6</b> Chemical structures of the major green tea polyphenols .....	9
<b>Figure7</b> Fenton reaction .....	10
<b>Figure 8</b> Scavenging and formation mechanisms of ROS mechanisms by green tea polyphenols.....	11
<b>Figure9</b> Monosaccharide transport in the small intestine .....	14
<b>Figure 10</b> Potential biological mechanisms underlying the effect of SSBs on weight gain and risk of Metabolic Syndrome.....	16
<b>Figure 11</b> The progression of obesity to cardiometabolic risk. ....	17
<b>Figure 12</b> Isomaltulose production from sucrose by enzymatic rearrangement. ....	25
<b>Figure 13</b> Experiment in this study.....	29
<b>Figure 14</b> Preparation of green tea beverage.....	30
<b>Figure 15</b> The experimental design in this study .....	37
<b>Figure 16</b> Experimental period.....	37
<b>Figure 17</b> The calibration curve of gallic acid (25-400 µg/mL) .....	45
<b>Figure 18</b> The calibration curve of FeSO <sub>4</sub> (0.25-2 mmol/L).....	47
<b>Figure 19</b> The incremental postprandial plasma glucose concentration (mg/dL) after beverages consumption .....	52

<b>Figure 20</b> The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma glucose concentration in 2-hr periods after beverages consumption .....	53
<b>Figure 21</b> The calibration curve of human insulin concentration (4.4-337 $\mu$ U/mL). ...	56
<b>Figure 22</b> The incremental postprandial plasma insulin concentration ( $\mu$ U/mL) after beverages consumption .....	58
<b>Figure 23</b> The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma insulin concentration in 2-hr periods after beverages consumption .....	59
<b>Figure 24</b> Correlation between the incremental postprandial plasma glucose concentration ( $\mu$ U/mL) and the incremental postprandial plasma insulin concentration ( $\mu$ U/mL) after beverages consumption. ....	60
<b>Figure 25</b> The incremental postprandial plasma antioxidant concentration by FRAP assay after beverages consumption .....	63
<b>Figure 26</b> The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma antioxidant concentration in 2-hr periods after beverages consumption .....	64
<b>Figure 27</b> The calibration curve of MDA concentration (0.25-2 $\mu$ M).....	66
<b>Figure 28</b> The incremental postprandial plasma MDA concentration ( $\mu$ M) after beverages consumption .....	68
<b>Figure 29</b> The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma MDA concentration in 2-hr periods after beverages consumption .....	69
<b>Figure 30</b> Correlation between the incremental postprandial plasma antioxidant concentration ( $\mu$ M) and the incremental postprandial plasma MDA concentration ( $\mu$ M) after beverages consumption .....	70
<b>Figure 31</b> The percentage enzyme inhibition of isomaltase activity by green tea extract. Data are expressed as mean $\pm$ SEM, n=3. ....	72

## LIST OF TABLES

<b>Table 1</b>	The criteria to separate overweight and obesity .....	17
<b>Table 2</b>	The illustration of glycemic index (GI) (Atkinson et al., 2008).....	19
<b>Table 3</b>	The consumption beverages for each group at each experimental visit .....	37
<b>Table 4</b>	The total polyphenols of green tea beverage .....	44
<b>Table 5</b>	Antioxidant capacities in green tea beverages determined by FRPP assay....	46
<b>Table 6</b>	Baselines characteristics of fifteen subjects in this study .....	48
<b>Table 7</b>	Energy intake (kcal) calculated from food record .....	49
<b>Table 8</b>	The incremental postprandial plasma glucose concentration (mg/dL) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). .....	51
<b>Table 9</b>	The incremental postprandial plasma insulin concentration ( $\mu$ IU/mL) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). .....	57
<b>Table 10</b>	The incremental postprandial plasma antioxidant concentrations ( $\mu$ M) determined by FRAP assay after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). .....	62
<b>Table 11</b>	The incremental postprandial plasma MDA concentrations ( $\mu$ M) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). .....	67
<b>Table 12</b>	The phytochemical analysis of green tea .....	71

## CHAPTER I

### INTRODUCTION

#### 1.1 BACKGROUND

A beverage is a liquid which is specifically prepared for human consumption (Yesudian, 2012). There are many types of beverages such as fruit or vegetable juices, alcohol or non-alcoholic drinks and soft drinks. Green tea (*Camellia sinensis*) is one beverage that is the most widely consumed in the world (Wang and Ho, 2009). Due to minimal oxidation during processing of green tea, it retains high amount of phytochemical antioxidants such as polyphenolic compounds (Stangl et al., 2006). The compositions of green tea have total polyphenols approximately 35% of the dry weight (McKay and Blumberg, 2002). The major bioactive polyphenolic compound in green tea is flavonoids including catechins. Epigallocatechin 3-gallate (EGCG) is the most abundant green tea catechins subgroup (Khan and Mukhtar, 2007; Taylor et al., 2005). Previous studies found that polyphenols in tea can decrease postprandial plasma glucose level in healthy human (Bryans et al., 2007; Tsuneki et al., 2004). For example, consumption of 1.5 g green tea extracts in 500 mL water (total polyphenols approximately 500 mg gallic acid equivalent) decreased postprandial plasma glucose level after green tea consumption at 30 minutes and 90 minutes (Tsuneki et al., 2004). In addition, consumption of black tea 1 g (350 mg of total polyphenols) decreased plasma blood glucose at 120 minutes (Bryans et al., 2007). In addition to the antihypoglycemic activity, green tea also showed many additional health benefits such as anti-carcinogenic (Kavanagh et al., 2001), anti-inflammatory (Dona et al., 2003), anti-oxidative activity (Osada et al., 2001), hypocholesterolemic (Raederstorff et al., 2003) and cardiovascular disease prevention (Sueoka et al., 2001).



Nowadays, sugar consumption has been increased worldwide which correlated to the rate of sweetened beverage production (Won and Richard, 2012). Moreover, the consumption of sugar-sweetened beverages has been dramatically increased including sweetened green tea beverage (Ng et al., 2012; Won and Richard, 2012). In the other word, the addition of caloric sweetener (e.g. sucrose and high-fructose corn syrup) in beverage was generally defined as sugary beverage (Bremer and Lustig, 2012). The randomized clinical trials reported that sugary beverages increased body weight and fat mass after 10-week consumption (Raben et al., 2002). Besides, the several studies found that consumption of sugary beverages increased triglyceride level, body weight and visceral fat accumulation (Raben et al., 2002; Stanhope et al., 2009). Some studies also concluded that sugary beverages, including sweetened tea, may play a role in the elevation of obesity risk and the epidemic of obesity (Bray et al., 2004; Grimes et al., 2013; Grundy et al., 2004; Hu F. B. and Malik, 2010).

Recently, the prevalence of overweight and obesity tend to increased worldwide (WHO, 2014). Excessive body fat accumulation in overweight and obesity induced hyperlipidemia, hypertension and insulin resistance, involving in the progression of type 2 diabetes and cardiovascular disease that are main cause of death in the world (Grundy et al., 2004; WHO, 2013). Thus, overweight and obesity prevention may reduce the incidence and mortality from metabolic syndrome. There are many way to prevent the risk of overweight and obesity such as increasing physical exercise and decreasing energy intake from fat and sugar. Furthermore, replacing refined sugars with sugar substitutes has been greatly interested for decreasing overweight and obesity risk. Sugar substitutes or artificial sweeteners have sweet taste as general sugar (sucrose), but the caloric values are zero or low calories

(Yang, 2010). The most artificial sweeteners are synthetic sugar substitutes such as aspartame, sucralose, sorbitol and acesulfame-K (Tandel, 2011; Yang, 2010).

Isomaltulose (6-O-D-glucopyranosyl-D-fructose, also known as Palatinose®), one type of sugar substitutes, is a naturally occurring disaccharide and it's one of the sweet elements in honey, sugarcane and molasses (Siddiqui and Furgala, 1967). The caloric value of isomaltulose (4 kcal/g) is similar to sucrose (Hamada S., 2002; Okuno et al., 2010). The digestion and absorption of isomaltulose completed in the small intestine as sucrose (Okuno et al., 2010) that isomaltulose and sucrose are digested by isomaltase and sucrase enzyme, respectively (Hamada S, 2002). However, the digestion and absorption rate of isomaltulose are slower than sucrose because it mildly increased in the plasma glucose and insulin levels after oral administration (Dahlqvist et al., 1963; Kawai et al., 1985). In addition, glycemic index (GI) of isomaltulose is low (GI=32) when compared with sucrose (GI=65) (Atkinson et al., 2008; Holub et al., 2010). While the taste and appearance of isomaltulose are similar to sucrose, comparatively isomaltulose sweetening strength is one-half of sucrose (Hans-Dieter Belitz, 2009; Kawai et al., 1985; Okuno et al., 2010). Furthermore, the consumption of isomaltulose (high doses up to 50 g in human) was found to be safe with no gastrointestinal discomfort side effects (Lina et al., 2002).

Original unsweetened green tea beverage is recommended for health benefits, but sweetened green tea is preferable in many countries (Ng et al., 2012). The substitution of isomaltulose (low-GI sweetener) for sucrose is a possible alternative regimen to control postprandial glucose and also retain health benefits of green tea. Nevertheless, there is no proven evidence in human whether sweeteners interfere or diminish the antioxidant capacity of green tea after consumption of sweeteners with green tea. Therefore, this study designed to investigate effect of

replacing sucrose by isomaltulose in green tea beverage on postprandial plasma glucose, insulin level and antioxidant capacity in healthy subjects.

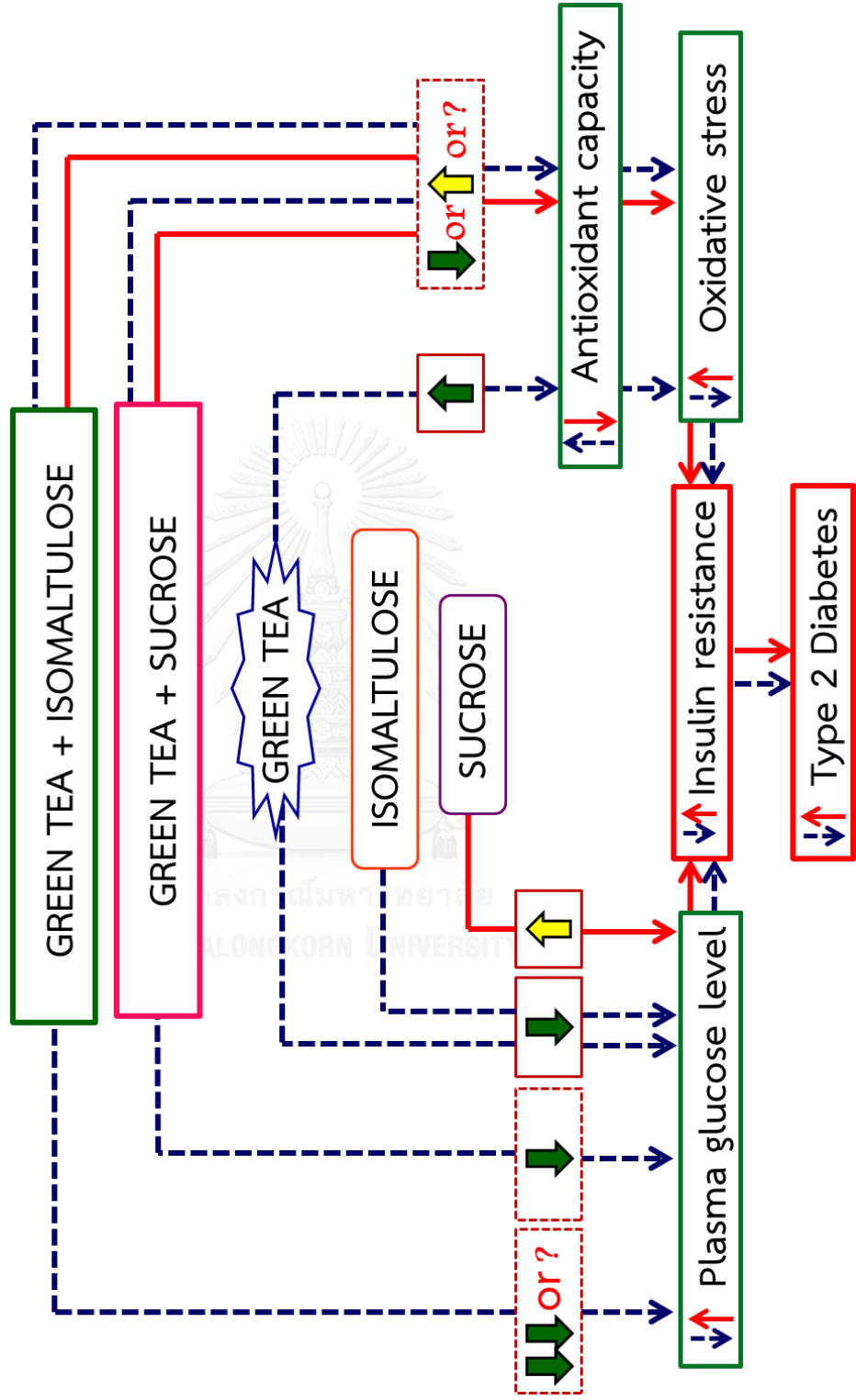
## 1.2 OBJECTIVES OF THE STUDY

- 1.2.1 To investigate effect of isomaltulose in green tea beverage on postprandial plasma glucose level and insulin level in healthy subjects.
- 1.2.2 To investigate effect of isomaltulose in green tea beverage on antioxidant status in healthy subjects.

## 1.3 HYPOTHESES OF THE STUDY

- 1.3.1 Isomaltulose can reduce and delay postprandial plasma glucose and insulin level more than sucrose
- 1.3.2 Isomaltulose in green tea beverage can reduce and delay postprandial plasma glucose and insulin level more than isomaltulose beverage
- 1.3.3 Isomaltulose interferes antioxidant capacity of green tea less than sucrose

1.4 CONCEPTUAL FRAMEWORK



## CHAPTER II

### LITERATURE REVIEWS

#### 2.1 ANTIOXIDANT

An antioxidant is any substance that, when present at low concentrations compared with that of an oxidizable substrate. An antioxidant can significantly delay or inhibit oxidation of an oxidizable substrate. This definition includes compounds of a non-enzymatic and an enzymatic nature (Halliwell, 1989). The principles of the antioxidant functions have been discussed that an antioxidant is a molecule stable enough to donate an electron to a free radical and neutralize it, so decreasing its capacity to damage. These antioxidants delay or inhibit cellular damage mainly by scavenging property of important biological oxygen-derived species (free radical) such as superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, hypochlorous acid, haem-associated ferryl species, radicals derived from activated phagocytes and peroxy radicals, both lipid-soluble and water-soluble (Halliwell, 1995). A balance between free radicals and antioxidants is necessary for proper functioning and physiological systems. Imbalanced of free radicals adversely alter lipids, proteins, and DNA, causing development of pathogenesis in several human diseases (Lobo et al., 2010). Some antioxidants are produced during normal metabolism in the body including glutathione, ubiquinol, and uric acid (Shi et al., 1999). Although, there are several enzymes system within the body for scavenging free radicals, the principle micronutrient (vitamins) antioxidants are essential for maintaining a healthy biological system such as vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol), vitamin C (ascorbic acid), and B-carotene. These micronutrients cannot manufacture by the body, so they must be supplied in the diet (Levine et al., 1999).

### 2.1.1 The measurement of antioxidant capacities

The measurement of antioxidant capacities have been developed and widely used to assess the radical scavenging/antioxidant activities of solutions. There are many methods for measurements of antioxidant capacity in plasma, serum, biological sample, food or beverage such as ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay, the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) or trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

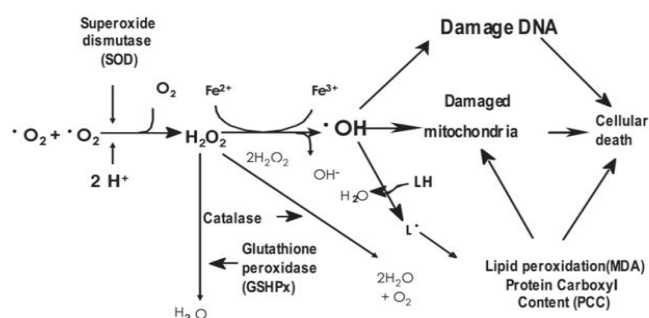
#### 2.1.1.1 Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay

The FRAP assay is widely used to examined antioxidants capacity (Reddy C.V.K. et al., 2010). The FRAP assay is presented as a novel method for assessing "antioxidant power" on electron donation by reducing Ferric ( $\text{Fe}^{3+}$ ) to Ferrous ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Ferric to ferrous ion reduction at low pH causes a colored ferrous-tripyridyltriazine ( $\text{Fe}^{2+}$  - TPTZ) complex to form. FRAP values are measured by the absorbance changes at 593 nm in test reaction mixtures with those containing ferrous ions in known concentration. Absorbance changes of ferrous ions are linear followed by concentration range with antioxidant mixtures, including plasma, and with solutions containing one antioxidant in purified form. FRAP values of fresh plasma of healthy Chinese adults were 612-1634  $\mu\text{mol/L}$  (mean  $\pm$  SD =  $1017 \pm 206$ ; n = 141). There is a positive correlation between the phenolic content in green tea and the antioxidant activity that determined by FRAP assay. The FRAP assay is inexpensive, simple to preparing reagents solution, highly reproducible of results, straightforward of the procedure and speedy. (Benzie and Strain, 1996).

## 2.2 OXIDATIVE STRESS

Oxidative stress is an imbalance equilibrium condition between oxidants (free radicle/reactive oxygen species) generation and antioxidants defense mechanisms, leading to cellular dysfunctions (Sies, 1997). The protection of oxidative stress provided by the antioxidant enzymes such as the superoxide dismutase, catalases, and glutathione peroxidases (Hybertson et al., 2011). Oxidative stress and oxidative modification of biomolecules play an important in a number of physiological and pathophysiological processes such as aging, carcinogenesis, inflammation and atherosclerosis (Lobo et al., 2010).

In normal conditions reactive oxygen species (ROS) are reduced into water by antioxidant enzymes that cells are protected against oxidative stress. There are several antioxidant enzymes for detoxification pathway. First step, superoxide dismutase (SOD) catalyzes  $O_2$  into  $H_2O_2$ , and then catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-PX) remove  $H_2O_2$  into  $H_2O$  by two different pathways. Disturbances in the normal redox state of tissues can cause toxic effects through generation of hydroxyl radicals and free radicals from hydroperoxide produces that develop to oxidative cell injury, leading to DNA damage, carboxylation of proteins, and lipid peroxidation. These oxidative damages result in the cellular death. (Muñoz Morón and Castilla-Cortázar, 2012)



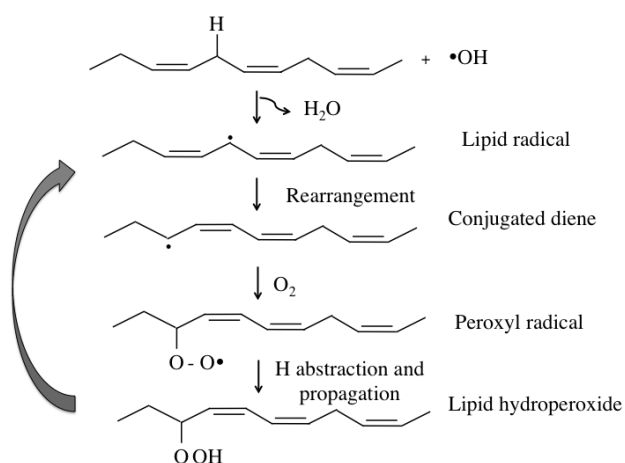
**Figure 1** Mechanisms of oxidative cellular damage

Reproduced from (Muñoz Morón and Castilla-Cortázar, 2012)

### 2.2.1 Lipid peroxidation

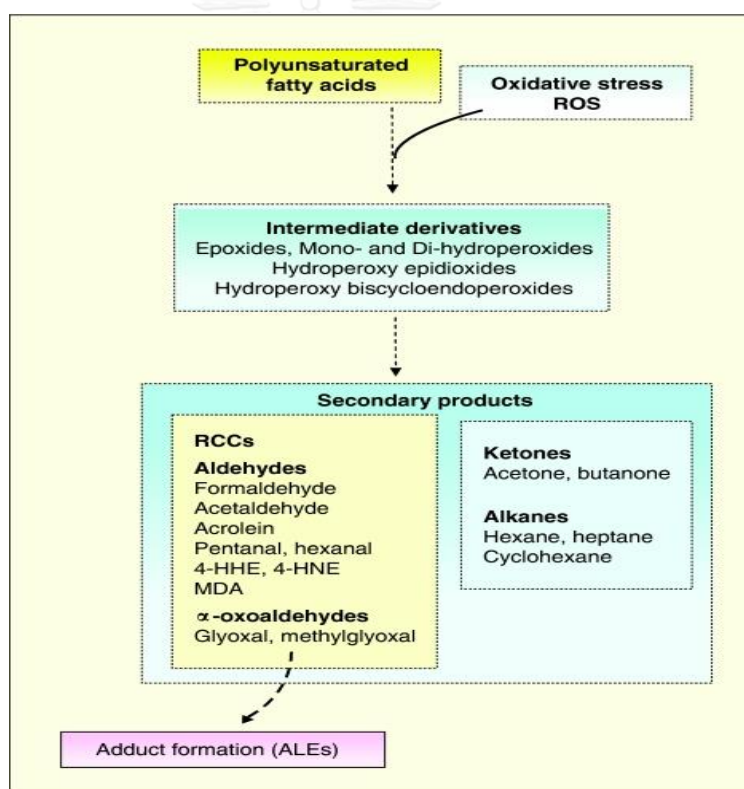
Lipid peroxidation is a process generated naturally in small amounts in the body that mainly by the effect of several reactive oxygen species (ROS) such as free radicals, hydroxyl radical and hydrogen peroxide. In addition, it can also be generated by the action of many phagocytes. The reaction of lipid peroxidation process consists of three major steps. Initiation step, of the reactive oxygen species [hydroxyl radical ( $OH\cdot$ )] attack the polyunsaturated fatty acids (PUFA) of the fatty acid membrane. Hydroxyl radical remove hydrogen atom of polyunsaturated lipid, thus producing lipid radical. Propagation step, lipid radical can react with oxygen ( $O_2$ ), leading to occurring form of lipid peroxy radical and new unsaturated lipid. Termination step, lipid peroxy radical attacks another fatty acid forming lipid hydroperoxide (LOOH) and a new radical. There are several secondary products form of lipid peroxidation such as alkanes, malanoaldehyde, and isoprotanes that are used as markers in lipid peroxidation assay. Lipid peroxidation has been implicated in disease states such as atherosclerosis, ischemic reperfusion injury, neurogenerative diseases, asthma, Parkinson's disease, kidney damage, diabetes and others. (Lobo et al., 2010; Mylonas and Kouretas, 1999)





**Figure 2** Lipid peroxidation process

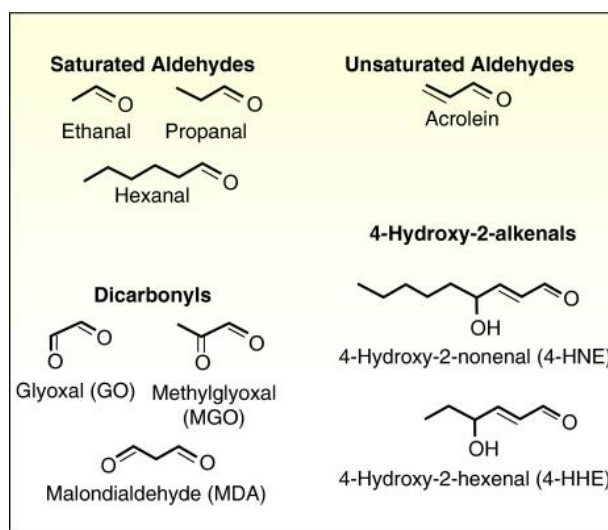
Reproduced from (Jairam et al., 2012)



**Figure 3** Lipid peroxidation process lead to the formation of secondary products.

Reactive carbonyl compounds (RCCs) can react with proteins and other biological molecules, thereby forming advanced lipid peroxidation end products (ALEs). Stable products (such as ketones and alkanes) do not react with proteins.

Reproduced from (Negre-Salvayre et al., 2008)



**Figure 4** Chemical stature of some secondary products  
 Reproduced from (Negre-Salvayre et al., 2008)

#### 2.2.1.1 Malonyldialdehyde (MDA)

Malonyldialdehyde (MDA) is a secondary product of lipid peroxidation that is widely used as an indicator of lipid peroxidation. The measurement of MDA level remains a useful indicator of lipid peroxidation and correlates well with the degree of oxidative stress (Srouf et al., 2000). An addition of free radicals in the body bring about over production of MDA (Gawel et al., 2004). Plasma MDA and urinary MDA can increase from naturally occurring product in the body and consumption of MDA food such as butter, margarine, oil and meat (Mylonas and Kouretas, 1999; Uribarri et al., 2010). Plasma MDA can excrete by kidney in urinary MDA form that the elimination half-life of MDA in plasma and urine had medians of 13 and 7 hours, respectively (Brunmark et al., 1995). The accumulations of MDA in human plasma can modified low-density lipoprotein (LDL) that is one of the main initiators of atherogenesis (Ishigaki et al., 2008; Libby et al., 2011).

## 2.3 TEA



Tea is one of the most popular beverages because of its pleasant taste and perceived health effects. There are four types of tea most commonly found in the market that are white tea, green tea, oolong tea and black tea. The difference of each tea types occur different processing or different harvesting times (in the case of white tea). In addition, there are different types of phytochemicals in each tea type. In processing of white tea, white tea leaves are picked and harvested before they fully open of leaves (the buds) that the buds are still covered by fine white hair. The white leaves are steamed quickly after harvesting for prevention of polyphenols oxidation and then dried. In processing of green tea, the leaves are steamed quickly after harvesting to prevent oxidation of polyphenols and then it are rolled before drying. In the production of black tea, the leaves are rolled with full fermentation, disrupting the cellular compartment and bringing phenolic compounds into contact with polyphenol oxidases, that the leaves undergo oxidation for 90–120 minutes before drying. During fermentation process, flavan-3-ols are converted to complex condensation products such as thearubigins and theaflavins. Furthermore, oolong tea production, the leaves are rolled and produced with a shorter fermentation period than black tea. Oolong tea have taste and color somewhere between GT and BT.

This tea type is manufactured mainly in Taiwan and exported to Japan and Germany (Serafini et al., 2011).

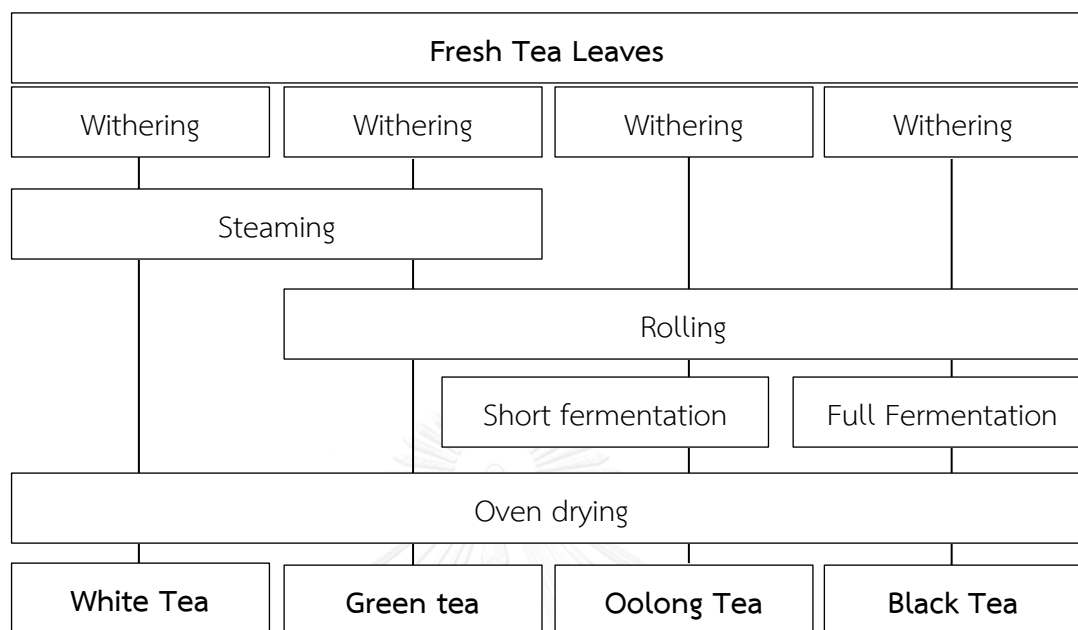
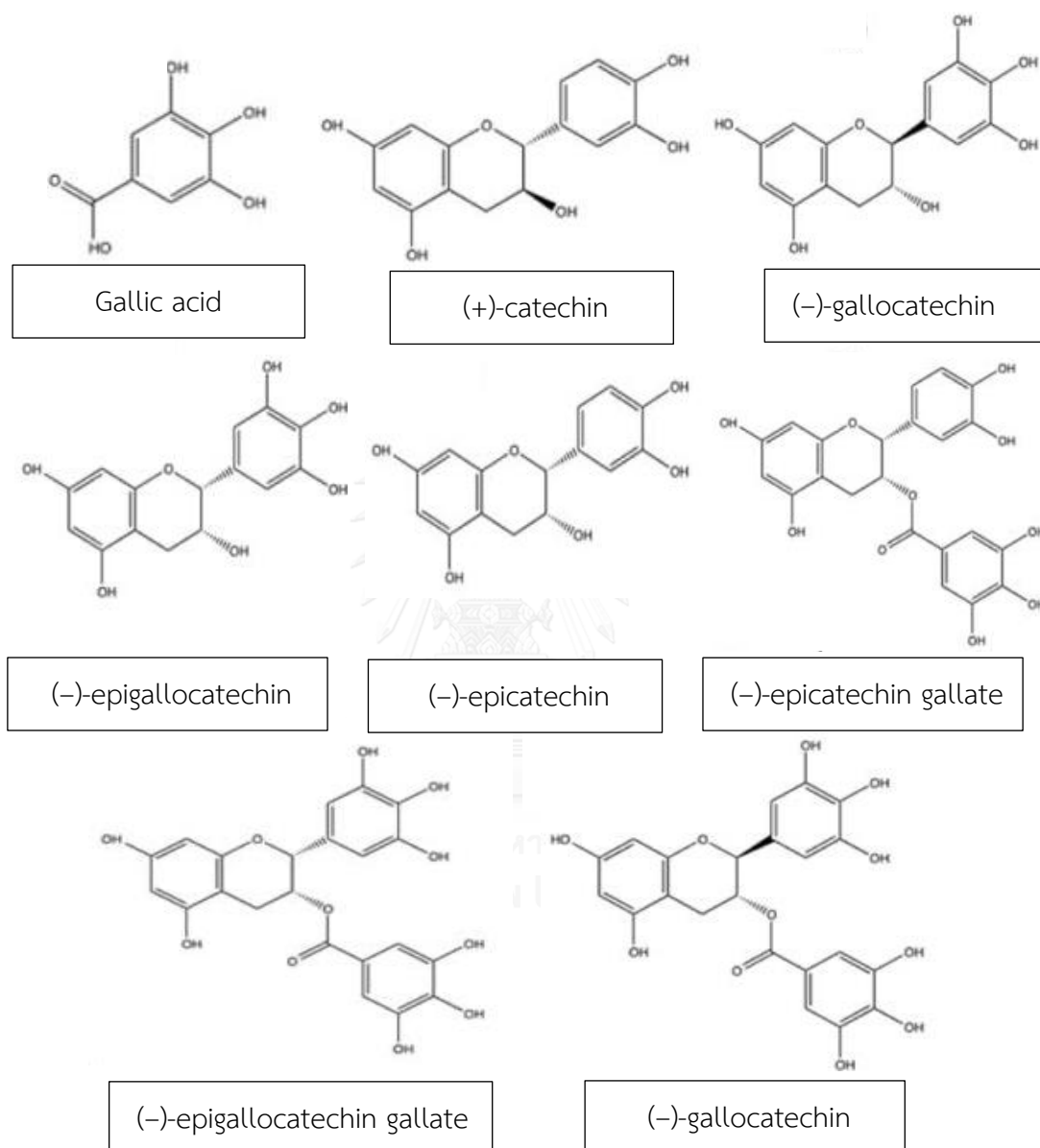


Figure 5 Tea processing

## 2.4 GREEN TEA

Green tea is the most widely consumed beverage in the world. It is dried leaves of tea that the scientific name is "*Camellia sinensis*" (Lin et al., 2003). Health benefits of green tea occur some substance that called "Polyphenols" that was antioxidant that found about 35% of the dry weight (McKay and Blumberg, 2002). Polyphenol had many type of flavonoid. The main flavonoid composition of brewed green tea commonly known as catechins that found 60-80% of polyphenols. And epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is the most abundant catechin of green tea, representing 50-80% of the total catechin content (Nutrient Data Laboratory, 2013). A typical brewed green tea beverage contains 11–20 mg caffeine per 1 g of the dry weight (Khokhar and Magnusdottir, 2002). Previous studies showed many health benefits of green tea such as antihypoglycemic activity, anti-carcinogenic (Kavanagh

et al., 2001), anti-inflammatory (Dona et al., 2003), anti-oxidative activity (Osada et al., 2001), hypocholesterolemic (Raederstorff et al., 2003) and preventing cardiovascular disease (Sueoka et al., 2001).

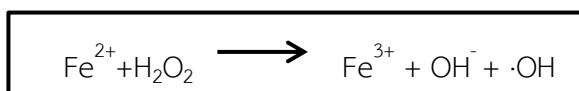


**Figure 6** Chemical structures of the major green tea polyphenols

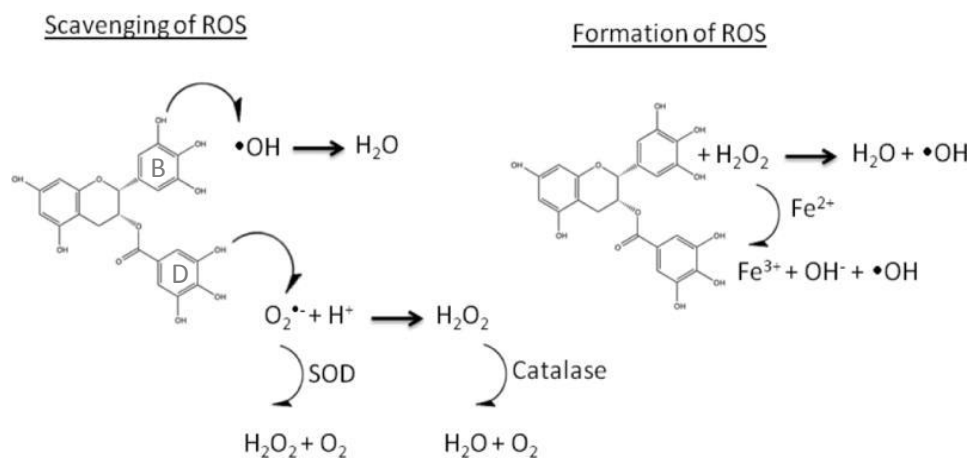
Reproduced from (Forester and Lambert, 2011)

### 2.4.1 Green tea and antioxidant

Green tea polyphenols act as antioxidant activity. It can be direct antioxidants by scavenging reactive oxygen species or chelating transition metals. Alternatively, it may act indirect antioxidants properties by up-regulating phase II antioxidant enzymes. In addition, green tea polyphenols can also be potent pro-oxidants *in vitro* and *in vivo studies*, leading to the formation of hydrogen peroxide, the hydroxyl radical, and superoxide anion. 1) Green tea polyphenols can scavenge reactive oxygen species (ROS) by generating more stable phenolic radicals. The radical scavenging ability of EGCG has been a focus of several studies because it is the one type of catechin that high relative concentrations in green tea and presence of the galloyl group on the B and D ring. Electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy has revealed that EGCG can react with  $O^{2-}$  leading to oxidation of the D ring, and it also can scavenge OH and  $O^{2-}$  for stabilize of free radical. 2) Green tea polyphenols can react with transitional metals by chelating transition metals (including iron). Free iron (II) can produce hydroxyl radical from Fenton reaction leading to cellular DNA damage. Green tea polyphenols (including EGCG) can bind iron (II) to polyphenol-iron complex that can against Fenton-mediated cellular damage. (Forester and Lambert, 2011)



**Figure7** Fenton reaction



**Figure 8** Scavenging and formation mechanisms of ROS mechanisms by green tea polyphenols. These mechanisms are applicable to all green tea polyphenols, but epigallocatechin gallate (EGCG) is shown as a representative molecule. Reproduced from (Forester and Lambert, 2011)

#### 2.4.2 Green tea and lipid peroxidation

Green tea polyphenols act as antioxidant properties by mechanisms that reduce the generation of superoxide anions, hydroxyl radicals and lipid peroxy radicals (Chen et al., 1990; Husain et al., 1987; Torel et al., 1986). The reduction of those free radicals can decrease lipid peroxidation, leading to decreasing of MDA formation (Mylonas and Kouretas, 1999). The previous study found that antioxidant properties of polyphenols can decrease MDA (Gorelik et al., 2008; Netzel et al., 2007; Sirota et al., 2013; Torabian et al., 2009). For example, Sirota R et al (2013) found that consumption of 200 mL roasted coffee (total polyphenols ~ 500 mg gallic acid equivalents) by healthy volunteers during a meal of red-meat cutlets decreased accumulation of malonyldialdehyde (MDA) in plasma (Sirota et al., 2013). In addition, Netzel M et al (2007) found that consumption of beverage (total polyphenols ~ 780 mg gallic acid equivalents) was

significantly reduced of urinary MDA from  $1.65 \pm 0.57$  to  $1.22 \pm 0.37$   $\mu\text{mol}/24$  hour (-26% vs. control) (Netzel et al., 2007). Moreover, green tea can increase antioxidant that can reduce the development or the enhancement of oxidative stress. Therefore, it can protect the individual for oxidative stress diseases (Coimbra et al., 2006).

### **2.4.3 Green tea and anti-hyperglycemia**

#### **2.4.3.1 Hyperglycemia**

Hyperglycemia or high blood sugar is a common effect of uncontrolled diabetes. Hyperglycemia may be a marker of acute illness, severe, insulin resistance, one of many physiological derangements associated with an abundance of counter-regulatory hormones, and suppression of anabolic pathways. Hyperglycemia may induce inflammation, oxidative stress, poor immune function, and endothelial dysfunction (Kansagara D. et al., 2008). In addition, long-term hyperglycemia induce long-term complications of diabetes such as cerebrovascular disease, peripheral vascular disease, peripheral nervous system, retinopathy, ulceration and amputation, nephropathy and coronary heart disease (Michael J. and Fowler M.D., 2008)

#### **2.4.3.2 Carbohydrate digestion**

Digestion of carbohydrate in the human involves the function of several enzymes in body. Starches are digested at different enzymes and rates that depend on food form. Salivary and pancreatic  $\alpha$ -amylases are secreted to initiate and degrade starch to maltooligosaccharides (Gropper et al., 2004). Pancreatic  $\alpha$ -amylase plays a more dominant role than salivary amylase for starch digestion (Lebenthal, 1987).  $\alpha$ -Amylase can hydrolyze the



internal  $\alpha$ -1,4 glycosidic linkages of amylose and amylopectin to form short linear (i.e., maltose, maltotriose, maltotetraose) and branched dextrin chains (Semenza et al., 2001). And then, these maltooligosaccharide products are further digested to monosaccharides (i.e. glucose and fructose) by the mucosal  $\alpha$ -glycosidases, sucrase-isomaltase (SI) and maltase-glucoamylase (MGAM) in small intestine. (Cheng et al., 2014)

#### 2.4.3.2.1 The mucosal alpha-glucosidases

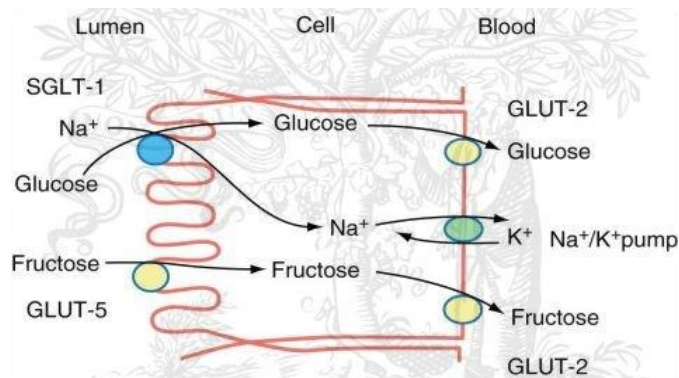
Mucosal alpha glucosidase ( $\alpha$ -glucosidases) is one type of enzyme for digestion. This enzyme secretes in the small intestine. The function of this enzyme is digestion of disaccharides to monosaccharide. The mucosal alpha glucosidases are two membrane-bounded protein complexes including maltase-glucoamylase (MGAM) and sucrase-isomaltase (SI). There are four subunits including C-terminal (Ct) and N-terminal (Nt) subunit of MGAM and SI complexes (D Sushil, 2013). Thus, this enzyme consists of Ct-MGAM (Glucoamylase), Nt-MGAM (maltase), Ct-SI (Sucrase) and Nt-SI (Isomaltase) (Nutrient Data Laboratory, 2013). All four subunits of SI and MGAM can hydrolyze  $\alpha$ -1,4 glycosidic linkages, whereas the isomaltase subunit has the capacity to hydrolyze the  $\alpha$ -1,6 glycosidic linkage (Cheng et al., 2014).

There was the experimental study about releasing glucose from normal maize granular starch to investigate starch digestion by each enzyme including Ct-MGAM (Glucoamylase) of human, Nt-MGAM (maltase) of human, Nt-SI (Isomaltase) of human and Ct-SI (Sucrase) of mouse for determination of enzyme activity. They found Ct-MGAM and Ct-SI had releasing glucose from normal

maize granular starch more than Nt-SI and Nt-MGAM (D Sushil, 2013). Conclusion, Nt-SI (Isomaltase) and Nt-MGAM (maltase) enzymes were lower starch digestion than Ct- MGAM (Glucoamylase) and Ct-SI (Sucrase). So, using starch which are digested by Nt-SI (Isomaltase) or Nt-MGAM (maltase) enzymes may help to decrease absorption of glucose that may have benefit for obese and type 2 diabetic patients.

### 2.4.3.3 Carbohydrate absorption

Glycemic carbohydrate absorption occurs in the form of the monosaccharides, including glucose, fructose, and galactose. Delivery of monosaccharides to the body depends on the expression of the monosaccharide transporters that glucose and galactose are transported into small intestinal enterocytes through the sodium-dependent glucose transporter (SGLT1), while fructose is transported into enterocytes by the facilitated glucose transporter type 5 (GLUT5). These monosaccharides are transported from enterocytes into the blood circulation system by the facilitated glucose transporter type 2 (GLUT2). (Cheng et al., 2014)



**Figure9** Monosaccharide transport in the small intestine

Reproduced from (Wright E.M. et al., 1994)

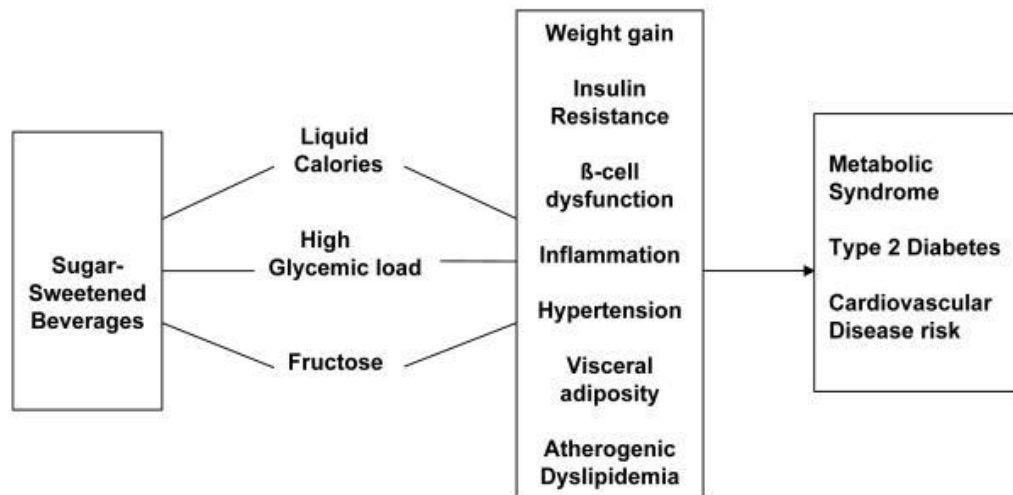
#### 2.4.3.4 Anti-hyperglycemia by green tea

Several studies found green tea polyphenols can decrease postprandial plasma glucose, leading to reduction of hyperglycemia risk (da Silva Pinto et al., 2008; Kaiser et al., 2013). Previous in vitro studies found polyphenols can inhibit intestinal glucose transport SGLT-1 and GLUT-2 in the Caco-2 intestinal cell (Farrell et al., 2013; Kwon et al., 2007; Shimizu et al., 2000), leading to decreasing of glucose absorption. In addition, green tea polyphenols can inhibit alpha-glucosidases that can inhibit digestion of disaccharides (da Silva Pinto et al., 2008; Kaiser et al., 2013). Koh LW et al (2010) reported green tea (total polyphenols about 106 mg gallic acid equivalences/ g dried leaves) can inhibit both salivary  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase in vitro with IC50 = 3 mg/mL and 0.98 mg/mL, respectively (Koh et al., 2010). Thus, green tea polyphenols can suppress postprandial plasma glucose level by inhibition of intestinal glucose transport,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase.

## 2.5 SUGARY BEVERAGE

Sugar-sweetened beverages (SSBs) are typically defined as beverages containing added caloric sweeteners such as high-fructose corn syrup (HFCS), sucrose, or fruit-juice concentrates, that include sweetened tea, soft drinks, fruit drinks, sports drinks, energy and vitamin water drinks, and lemonade (Bremer and Lustig, 2012). Sugar-sweetened beverages are high glycemic load. The randomized clinical trial reported that sugary beverages increased body weight and fat mass after 10 weeks (Raben et al., 2002). Moreover, the consumption of sugary beverages increased the level of triglyceride and the accumulation of visceral fat, involving in the progression of metabolic syndrome (Grundy et al., 2004; Stanhope et al., 2009). Some studies

also concluded that sugary beverages, including sweetened tea, may play a role in the elevation of obesity risk and the epidemic of obesity (Bray et al., 2004; Grimes et al., 2013; Hu F. B. and Malik, 2010).



**Figure 10** Potential biological mechanisms underlying the effect of SSBs on weight gain and risk of Metabolic Syndrome. Reproduced from (Malik et al., 2010)

## 2.6 OVERWEIGHT AND OBESITY (WHO, 2014)

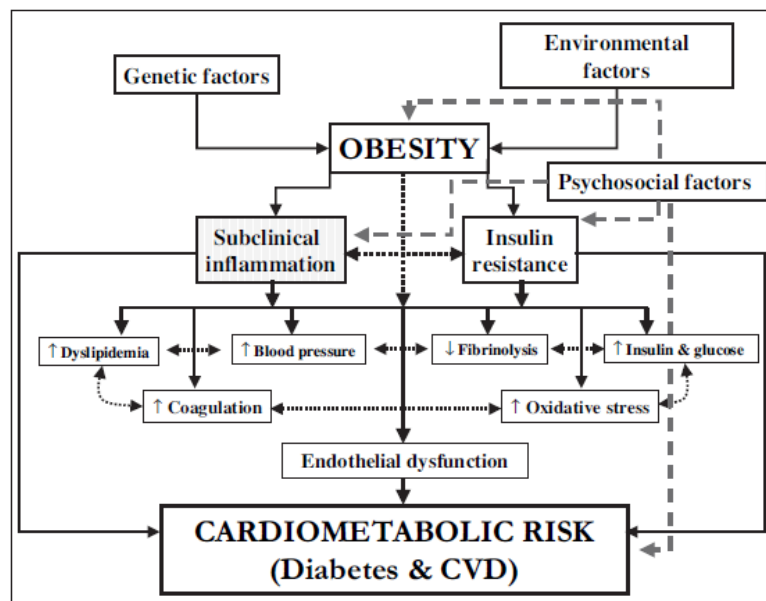
According to the World Health Organization, overweight and obesity are defined as abnormal or excessive fat accumulation in the body that may impair health. There were many causes of overweight and obesity such as energy imbalance, high calories intake, high fat intake, high sugar intake and sugary beverage intake etc. and physical inactivity (Dehghan et al., 2005). The marker commonly used to classify overweight and obesity in adults is body mass index (BMI) that is a simple index of weight-for-height. BMI calculate by a person's weight in kilograms and height in meters in following equation:

$$\text{Body mass index (BMI)} = \frac{\text{Weight (kg)}}{\text{Height}^2 (\text{m}^2)}$$

**Table 1** The criteria to separate overweight and obesity

	Asia	Europe
Overweight	BMI $\geq$ 23 kg/m <sup>2</sup>	BMI $\geq$ 25 kg/m <sup>2</sup>
Obesity	BMI $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup>	BMI $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup>

The obese person has accumulated body fat, including visceral fat that high risk in pro-inflammatory status. Visceral fat can promote releasing of the inflammatory cytokine that overproduction of cytokine induce the pathological changes of insulin resistance and endothelial dysfunction (Emanuela et al., 2012; Grundy et al., 2004). These pathological changes increase risks of dyslipidemia, hypertension, glucose intolerance, type 2 diabetes etc., resulting in elevation of cardiovascular disease (Balagopal, 2006).

**Figure 11** The progression of obesity to cardiometabolic risk.

Reproduced from (Balagopal, 2006)

### 2.6.1 Overweight and obesity prevention (WHO, 2014)

Overweight and obesity related non communicable diseases that are largely preventable. Overweight and obesity may need the support of environments and communities that are fundamental in shaping people's choices, making the healthier choice of foods and regular physical activity the easiest choice (accessible, available and affordable). The prevention of obesity may be separate to multiple levels such as the societal level, the industry and the individual level. At the societal level is important to support individuals in following the recommendations of food and nutrient. In addition, the social can support good behavior about regular physical activity and healthier dietary choices available, affordable and easily accessible to all of supportive envelopment, especially in the poorest individuals. The food industry can play a significant role in promoting healthy diets by reducing the fat, sugar and salt in products that healthy and nutritious products are available and affordable to all consumers. Furthermore, individual level is very important for preventing of overweight and obesity which people have access to a healthy lifestyle.

At individual level for preventing of overweight and obesity

- Regular physical activity (60 minutes a day for children and 150 minutes per week for adults).
- Control of energy balance and limitation of energy intake from total fats and sugars, including sugary beverage.
- Avoiding or even limiting of high-glycemic index and high-glycemic load food such as sugary beverage, rice cakes, pancake and ice cream.
- Consumption of fruit (low glycemic index) and vegetables, as well as legumes, whole grains and nuts that high fiber.

### 2.6.1.1 Glycemic Index (GI)

Glycemic index (GI) describes the blood glucose response after consumption of a carbohydrate containing test food that used to evaluate the quality of carbohydrate. To evaluate of glycaemic index (GI) values was calculated by area under the curve (AUC) from the 2 hours (seven times) of postprandial capillary blood glucose after consumption between a test food and a similar weight of carbohydrate containing reference food, typically glucose or white bread (Wolever, 2004). GI was originally designed for diabetes patients as a guide to food selection and advice being given to select foods with a low GI (Venn and Green, 2007). Dietary glycemic index is slightly associated with risk of cardiovascular disease, but not with stroke and stroke-related death (Fan et al., 2012). There was ranking of GI references to three classifications, including low GI, medium GI and high GI that was shown in Table 2.

**Table 2** The illustration of glycemic index (GI) (Atkinson et al., 2008)

GI	Range	Food types
Low GI	< 55	barley, spaghetti (white), kidney beans, orange, apple, soy milk, isomaltulose
Medium GI	55-69	pumpkin, udon noodles, popcorn, pineapple, sucrose
High GI	≥ 70	white rice, white wheat bread, cornflakes, potato (boiled), watermelon, glucose

### 2.6.1.2 Glycemic load (GL)

The glycemic load (GL) is used to represent both the quality and quantity of carbohydrates (Hu Y. et al., 2009). The glycemic load (GL) values calculated by multiplying the GI of a food item with its carbohydrate content per serving (Fan et al., 2012). There were three classifications of GL, including low GL ( $\leq 10$ ), moderated GL (11-19) and high GL ( $\geq 20$ ). High dietary glycemic load is related with a higher risk of CHD and stroke (Fan et al., 2012).

### 2.6.1.3 Low GI and GL and health

Consumption of low GI and GL diets decreased the risk of chronic diseases. In previous randomized controlled trials, diets with lower GI or GL have been beneficial for insulin sensitivity and lipids (Liu et al., 2001; Rizkalla et al., 2004). Meta-analyses suggest that a low GI or GL foods could glycemic control in diabetes and lipid management (Venn and Green, 2007). Several studies found that lower levels of both GL and overall GI were associated with lower risk of cardiovascular disease and diabetes (Ebbeling et al., 2005; Liu et al., 2000). In addition, consumption of low GL can decrease obesity risk by increased satiety, delayed return of hunger and decreased ad libitum food intake (Afaghi et al., 2012). Most studies have demonstrated health benefits of low GI or GL involved naturally occurring and minimally processed carbohydrate containing cereals, vegetables and fruit that these foods have qualities other than their immediate impact on postprandial glycemia as a basis to recommend their consumption (Venn and Green, 2007). Therefore, low GI and GL diet may be food choice for healthy.



## 2.7 ARTIFICIAL SWEETENERS

Artificial sweeteners are widely used around the world. These substances are used in place of sweeteners with sugar or sugar alcohols. Artificial sweeteners may also be called sugar substitutes, non-nutritive sweeteners (NNS), and non-caloric sweeteners.

### 2.7.1 Function

Sugar substitutes may assist in weight management and control of blood glucose of diabetics. It provides sweetness to foods and beverage for reduction of calories or without adding extra calories. In addition, replacing sugar by artificial sweeteners can also help prevent dental decay. (Polyak et al., 2010)

### 2.7.2 Food Sources

All artificial sweeteners are chemically processed that it can be added to food and during preparation. Many types of diet or low-calorie food products in the market are made using artificial sweeteners. Nowadays, there were many types of artificial sweeteners such as aspartame, sucralose, saccharin, stevia, acesulfame k, neotame and cyclamates.

#### 2.7.2.1 Aspartame

- The chemical synthesis of aspartame occur a combination of two amino acids (phenylalanine and aspartic acid).
- The sweetened strength of aspartame was 220 times of sugar.
- Aspartame loses sweetness when exposed to heat.

- There were no shown any serious side effects in several studies.
- The Food and Drug Administration (FDA) approved.

#### 2.7.2.2 Sucralose

- The sweetened strength of sucralose was 600 times of sugar.
- Sucralose was used in many diet foods and drinks, chewing gum, frozen dairy desserts, fruit juices, and gelatin.
- The Food and Drug Administration (FDA) approved.

#### 2.7.2.3 Saccharin

- The sweetened strength of saccharin was 200 to 700 times of sugar.
- Saccharin was used in many diet foods and drinks that may have a bitter or metallic aftertaste in some liquids.
- It does not used in cooking and baking.
- The Food and Drug Administration (FDA) approved.

#### 2.7.2.4 Stevia

- Stevia is non-caloric plant that based sweetener.
- It made from the plant *Stevia Rebaudiana* that is grown for its sweet leaves.
- There were many common names, including sweet leaf, sweet leaf, sugar leaf, or simply stevia.
- Rebaudiana extract is approved as a food additive and considered a dietary supplement.

#### 2.7.2.5 Acesulfame K

- Acesulfame K is heat-stable that can be used in cooking and baking.
- This sweetener used together with other sweeteners, such as saccharin, in carbonated low-calorie beverages and other products.
- The Food and Drug Administration (FDA) approved.

#### 2.7.2.6 Neotame

- It used in many diet foods and drinks.
- The powdered extract of monk fruit, a round green melon.
- The sweetened strength of neotame was 150-200 times of sugar.
- It is stable to heat, and it can use in baking and cooking.
- It is more concentrated than sugar ( $\frac{1}{4}$  teaspoon of neotame equals the sweetness of 1 teaspoon sugar)
- The U.S. Food and Drug Administration (FDA) approved.

#### 2.7.2.7 Cyclamates

- The sweetened strength of cyclamates was 30 times of sugar.
- Cyclamates is banned in the United States because previous studies shown to cause bladder cancer in animals.

### 2.7.3 Side Effects of artificial sweeteners

In 2012 the American Heart Association and the American Diabetes Association published a report concluded that sensible use of artificial sweeteners could help lower caloric and carbohydrate intake. There is also not enough evidence of artificial sweetener for using to weight loss or lower heart disease risk. Further research also needed on the safety of artificial sweeteners.

The artificial sweeteners that are sold and used in the United States have no clear evidence about cancer or coronary heart disease risk in humans.

#### 2.7.4 Recommendations of artificial sweeteners

The FDA regulates all artificial sweeteners in the United States for sale or use in prepared foods. The FDA has set an acceptable daily intake (ADI) for safety amount. FDA approved artificial sweeteners, including aspartame, acesulfame K, saccharin, neotame, and sucralose. However, aspartame is not recommended for people with phenylketonuria (PKU) because their body is unable to break down one of the amino acids in component of aspartame.

### 2.8 ISOMALTULOSE

Isomaltulose (6-O-D-glucopyranosyl-D-fructose) is a structural isomer of sucrose and naturally occurring disaccharide which is one component of the honey, sugarcane and molasses. There are the caloric values (4 kcal/g) and the taste of isomaltulose is similar to sucrose (Kawai et al., 1985; Okuno et al., 2010). But, the comparatively isomaltulose sweetening strength is 0.5 times of sucrose (Okuno et al., 2010). Glycemic index (GI) of isomaltulose is low (GI=32), compared with sucrose (GI = 65) (Atkinson et al., 2008; Holub et al., 2010). The structure of isomaltulose is composed of glucose and fructose as sucrose. The commercial isomaltulose is produced from sucrose by enzymatic rearrangement that changed linked between glucose and fructose from  $\alpha$ -1,2-glucosidic linkage to  $\alpha$ -1,6-glucosidic linkage (Figure 12) (Lina et al., 2002).

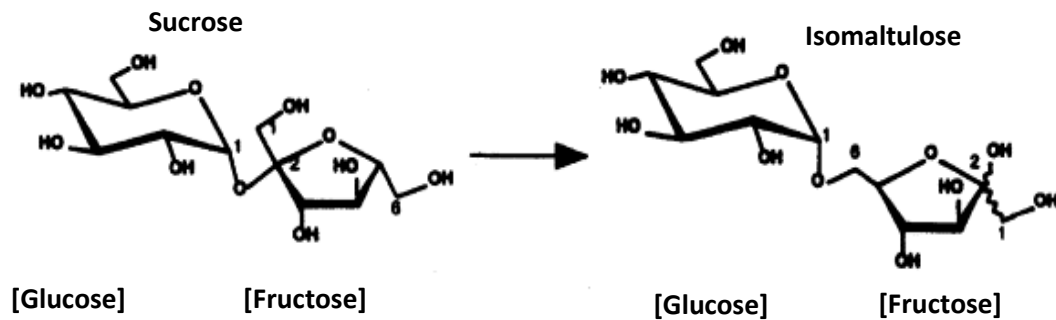


Figure 12 Isomaltulose production from sucrose by enzymatic rearrangement.

Reproduced from (Lina et al., 2002)

Hydrolysis and absorption of isomaltulose complete in the small intestine as sucrose (Tandel, 2011). Isomaltulose are hydrolyzed by isomaltase (Hamada S, 2002). However, the rate of hydrolysis and absorption of isomaltulose is very slow compared with sucrose (Okuno et al., 2010). Moreover, isomaltulose can inhibit  $\alpha$ -glucosidases that decreased digestion of disaccharides to monosaccharide, and then disaccharide can't absorption in small intestine (Kashimura et al., 2008). Therefore, isomaltulose can decrease postprandial plasma glucose level and energy that may decrease risk of overweight and obesity. Furthermore, previous studies found that isomaltulose help to decrease risk of hyperlipidemia, hypertension, cardiovascular disease and insulin resistance that cause of type 2 diabetes mellitus (Grundy et al., 2004).

The most consumption form of isomaltulose founds in the beverages such as milk, soft drink and fruit juice. Moreover, isomaltulose were mixed with foods such as cracker, and it was ingredient in some meal (Brunner et al., 2012; Freedman et al., 2012; Griffiths et al., 1989). The previous studies found isomaltulose affects to decreased plasma glucose level and decreased insulin level results from the slow hydrolysis of  $\alpha$ -1,6-glycosidic bond and low absorption (Dye et al., 2010; Freedman et al., 2012; Hamada S, 2002; Salmeron et al., 1997). Furthermore, isomaltulose may

help to increase lipid metabolism because the body have few carbohydrate uptake. So, the body may use energy from body fat that cause of lowering of fatty acid and triglyceride (Salmeron et al., 1997).

### **2.8.1 Safety of isomaltulose**

Isomaltulose can be considered to be safe. It is particularly suitable for sucrose replacement that it is a non-cariogenic sugar substitute. In animal studies, consumption of isomaltulose up to 7 g/kg in male rat and 8.1 g/kg in female rat, did not result in adverse effects. In human studies, including healthy and diabetes patients, consumption of isomaltulose up to 50 g of isomaltulose did not report adverse effects on the gastrointestinal system such as irritable bowel syndrome. (Linaa B.A.R. , 2002)

## CHAPTER III

### MATERIALS AND METHODS

#### 3.1 MATERIAL AND EQUIPMENT Green tea product

The pure green tea leaf (*Camellia sinensis*), one commercial brand, were purchased from the local market which green tea products in this study used same production date for decreasing differences of green tea quality in each production.

#### 3.1.2 Isomaltulose

Isomaltulose (palatinose®) was come from Rajburi Sugar Co., Ltd. (Rajburi, Thailand)

#### 3.1.3 Chemical (Company)

- 3.1.3.1 Folin-Ciocalteu's reagent (Sigma Chemical Co., St., USA)
- 3.1.3.2 Sodium carbonates ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Ajax finechem, New Zealand)
- 3.1.3.3 Gallic acid (Fluka, USA)
- 3.1.3.4 Acetic acid (HeBei Welcome Pharmaceutical Co., China)
- 3.1.3.5 2,4,6- tripyridyl-1-5-triazine (TPTZ) (Sigma Chemical Co., USA)
- 3.1.3.6 Hydrochloric acid (HCL) (Loba chemie, India)
- 3.1.3.7 Iron(III) chloride ( $\text{FeCl}_3$ ) (Ajax Finechem Pty Ltd, Aустarlia)
- 3.1.3.8 Iron (II) sulfate heptahydrate ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )  
(Ajax Finechem Pty Ltd, Aустarlia)
- 3.1.3.9 Rat intestinal acetone powder (Sigma Chemical Co., USA)
- 3.1.3.10 Sodium chloride (NaCl) (Ajax finechem, New Zealand)
- 3.1.3.11 Bovine serum albumin (BSA) (Sigma-Aldrich CO., USA)

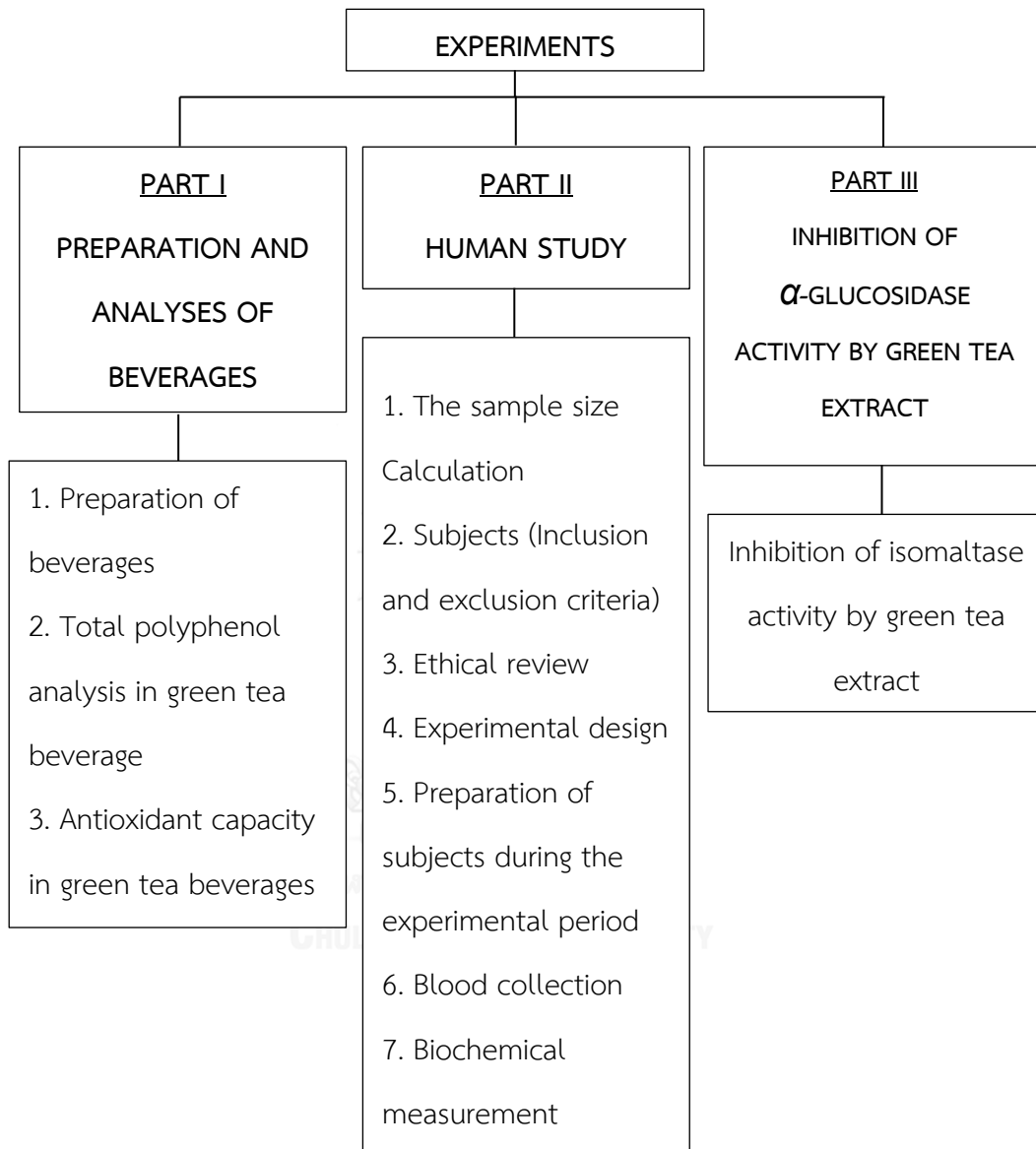
- 3.1.3.12 Glucose liquicolor (Human GmbH, Germany)
- 3.1.3.13 insulin human ELISA kit (BQ kits, USA)
- 3.1.3.14 Malondialdehyde (MDA) (Sigma Chemical Co., USA)
- 3.1.3.15 Sodium dodecyl sulfate (SDS) (Sigma Chemical Co., USA)
- 3.1.3.16 Thiobarbituric acid (TBA) (Sigma Chemical Co., USA)
- 3.1.3.17 Sodium hydroxide (NaOH) (Ajax finechem, New Zealand)
- 3.1.3.18 Monosodium phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )  
(Qrec chemical Co, Ltd., New Zealand)
- 3.1.3.19 Disodium phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )  
(Ajax finechem, New Zealand)

#### **3.1.4 Equipment**

- 3.1.4.1 Centrifuge (Hettich zentrifugen®, USA)
- 3.1.4.2 Spectrophotometer (Biotac®, Powerwave XS2, USA)
- 3.1.4.3 Fluorescence reader (Perkin Elmer®, Finland)
- 3.1.4.4 Incubator (Labnet®, Vortemp56, USA)
- 3.1.4.5 Spray dryer (Eyela world®, Tokyo Rikakikai Co., LTD, Japan)
- 3.1.4.6 pH meter (Thermo Fisher Scientific Inc., USA)
- 3.1.4.7 Vortex (Gemmy industrial corp., Taiwan)
- 3.1.4.8 Laboratory refrigerator (Sanden intercool, Thailand)
- 3.1.4.9 Heat block (Labnet International, Inc., USA)
- 3.1.4.10 Magnetic stirrer (IKA®, China)



## 3.2 EXPERIMENTS

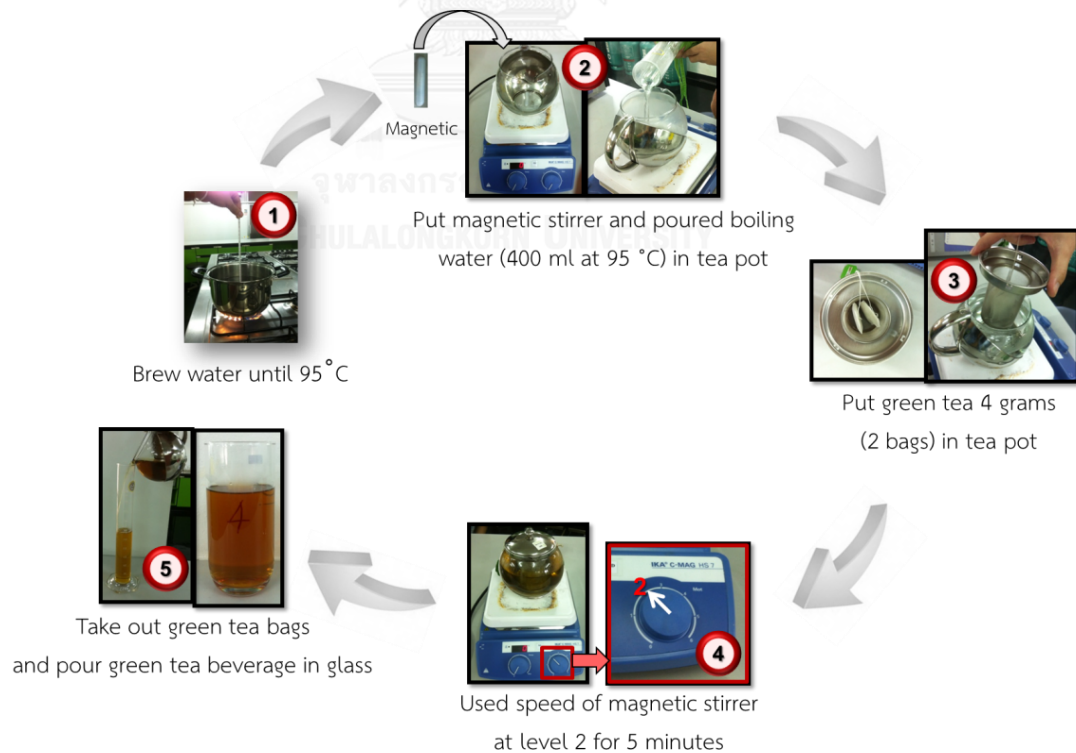


**Figure 13** Experiments in this study

## PART I PREPARATION AND ANALYSES OF BEVERAGES

### 3.2.1 Preparation of beverages for a serving portion

- Test 1 (Sucrose beverage, SU)
  - : 50 grams of sucrose was infused in 400 mL of boiling water (95 °C)
- Test 2 (Isomaltulose beverage, ISO)
  - : 50 grams of isomaltulose was infused in 400 mL of boiling water (95 °C)
- Test 3 (Green tea beverage, GT)
  - : 4 grams (two bags) of green tea leaf from one commercial brand was infused in 400 mL of boiling water (95 °C) for 5 min.
- Test 4 (Green tea beverage with sucrose, GT+SU)
  - : 50 grams of sucrose added into 400 mL of green tea beverage
- Test 5 (green tea beverage with isomaltulose, GT+ISO)
  - : 50 grams of isomaltulose added into 400 mL of green tea beverage



**Figure 14** Preparation of green tea beverage

### **3.2.2 Controlling the amount of total polyphenols in green tea**

- 3.2.2.1 Green tea products used same production date for same quality.
- 3.2.2.2 Brewing green tea used same method in each visit.
- 3.2.2.3 Brewing green tea was stirred by using magnetic stirrer for speed stable.
- 3.2.2.4 Each brewing green tea in each visit was mixed together before sweeteners (sucrose or isomaltulose) was added in green tea beverage.
- 3.2.2.5 Each brewing green tea in each visit was determined amount of total polyphenols in green tea beverage.

### **3.2.3 Total phenolic compound analysis of green tea**

This assay used to measured amount of total polyphenols in green tea beverage and extract. Total polyphenol determined by Folin-Ciocalteu method according to Singleton and Rossi (1965) method with some slight modification. The first step, the samples preparation of green tea extract and green tea beverage that was diluted 10 fold with distilled water. Second step, 10  $\mu$ L of dilution of green tea samples were mixed with 75  $\mu$ L of 10-fold diluted Folin-Ciocalteu's reagent (Sigma Chemical Co., USA) in microplate that incubated at room temperature for 5 min. Next step, 75  $\mu$ L of 7.5% sodium carbonate solution was added to the mixture. The mixture was incubated at room temperature for 90 min. After that the mixture was measured the absorbance at the wavelength 725 nm with spectrophotometer (Biotac®, Powerwave XS2, USA). Total polyphenol content of green tea was calculated by calibration standard curve from measuring absorbance of gallic acid standard (25, 50, 100, 200, 400  $\mu$ g/ml).

Each sample was determined for three replicates (n=3). The results of green tea extract were expressed as milligram gallic acid equivalent/gram dry weight of extract, and the results of green tea beverage were expressed as milligram gallic acid equivalent/a serving portion (400 mL).

### 3.2.4 Antioxidant capacity by FRAP assay

Ferric ion reducing antioxidant power assay (FRAP) used to measured antioxidant capacities of green tea beverages (unsweetened and sweetened green tea beverages) in this study that was performed according to the method described by Benzie and Strain (1996) with a slight modification. The principle of FRAP method is based on the reduction of a ferric ( $\text{Fe}^{3+}$ ) to ferrous ( $\text{Fe}^{2+}$ ). The FRAP reagent was prepared freshly and warmed at 37 °C by the mixing: 1) 0.3 M sodium acetate buffer solution (pH 3.6), 2) 10 mM 2,4,6- tripyridyl-1-5-triazine (TPTZ) in 40 mM HCl solution, and 3) 20 mM  $\text{FeCl}_3$  solution at the ratio of 10:1:1 (V/V/V), respectively. FRAP assay for the green tea beverages were performed by mixing 10  $\mu\text{L}$  of 10-fold diluted of beverages with 90  $\mu\text{L}$  of FRAP reagent in microplate and incubated for 30 min at room temperature in dark. After that the mixture was measured the absorbance at the wavelength 595 nm with spectrophotometer (Biotac®, Powerwave XS2, USA). Antioxidant capacities of green tea beverages were calculated by calibration standard curve from measuring absorbance of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (72.5, 125, 250, 500, 1000, 2000  $\mu\text{M}$ ). Antioxidant activity was measured five times of each beverage (n=5). The results of green tea beverages were expressed as mM  $\text{FeSO}_4/\text{L}$ .

## PART II HUMAN STUDY

**3.3.1 The Sample Size Calculation** The sample size was calculated from previous randomized crossover study (Torronen R, et al. 2012) by using significant difference of plasma glucose level between green tea beverage group and without green tea beverage group. The mean and standard deviation values (mean  $\pm$  SD) of plasma glucose level in green tea beverage group and without green tea beverage group were  $1.9\pm 0.9$  mmol/l and  $2.7\pm 0.9$  mmol/l, respectively. The sample size was calculated by using the following formula that the significance level ( $\alpha$ ) is 0.05 and the level of confidence is 90% ( $\beta = 0.10$ )

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 Sd^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_0)^2}$$

$$\alpha = 0.05 \quad (Z_{\alpha/2} = 1.96), \quad \beta = 0.10 \quad (Z_{\beta} = 1.28)$$

$\alpha$  = significance level

$\beta$  = the level of confidence

$Z_{\alpha/2}$  = the test statistic in Z-test of 0.025 ( $Z_{0.025}$ )

$Z_{\beta}$  = the test statistic in Z-test of 0.10 ( $Z_{0.10}$ )

$\bar{X}_1$  = mean of plasma glucose level in without green tea group

$\bar{X}_0$  = mean of plasma glucose level in green tea group

S = the standard deviation of the average of blood glucose level.

Calculated " $Sd^2$ " by using the following formula;  $Sd^2 = 2 S^2 (1-r)$

"r" was correlation coefficient of two observation variables in statistics from previous study. This study used "r=0.5" because it got the most sample size (considered in terms of "r" values).

Substitution of data in " $Sd^2$ " formula:  $Sd^2 = 2(0.9)^2 [1-0.5] = 0.81$

Substitution of data in sample size formula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 Sd^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_0)^2}$$

$$= \frac{(1.96 + 1.28)^2 \times (0.81)}{(0.8)^2}$$

$$= 13.28 \sim 14 \text{ volunteers/an intervention}$$

The sample size needed at least 14 volunteers to provide **subficient** power of statistical analysis. The percentage of withdraw in previous crossover study was approximately 25 percentage (Audrey R, et al. 2003). Therefore, the total subjects of this study required 18 volunteers per a test (a type of beverage).

### 3.3.2 Subjects

Healthy subjects were recruited from local community through poster advertisement and flyers. There were anthropometric, blood pressure and biochemical screening before enroll this study. They were eligible for this study if they had the following criteria

#### 3.3.2.1 Inclusion criteria

: Healthy male or female (aged 18-35 years old)

##### 3.3.2.1.1 Anthropometry measurement

- Body mass index (BMI) from body weight and height

:The normal BMI ranged 18.5-22.9 kg/m<sup>2</sup>

- Body fat percentage measure by Bioelectrical Impedance Analysis (BIA)
  - : Normal % body fat; male < 20% and female < 30%
- Waist circumference (cm)
  - : male ≤ 90 cm and female ≤ 80 cm

3.3.2.1.2 Blood pressure < 140/90 mmHg

3.3.2.1.3 Biochemical test (after 12-h fasting)

- Fasting plasma glucose level (mg/dl) ≤ 100 mg/dL
- Total cholesterol < 200 mg/dL
- LDL-cholesterol < 150 mg/dL
- Triglyceride < 150 mg/dL
- Blood creatinine level ranged 0.7-1.4 mg/dL
- Alanine aminotransferase (ALT) < 40 IU/L

3.3.2.1.4 The subjects avoided supplement at least 1 month before experimental period.

### 3.3.2.2 Exclusion criteria

Exclusion criteria included: history of chronic disease such as metabolic disease and cancer, allergy, gastrointestinal pathologies (absorption and digestion problem) such as short bowel syndrome, abnormality of liver and kidney function, smoker, heavy drinker, using medications for treatment or food supplements that could affect the results of study.

### 3.3.3 Ethical review

The clinical study protocol was approved by the Ethics Review Committee for Research Involving Human Research Subjects, Health Science Group, Chulalongkorn University (No.135/56). All subjects provided their written informed consents to participate this study after the study protocol was fully explained.

### 3.3.4 Experimental design

This experiment was randomized crossover clinical trial. Twenty-two volunteers interested to participate in this study. Four volunteers were excluded on the basic of inclusion and exclusion criteria. Thus, total healthy subjects included 18 volunteers that according to the sample size calculation. The first visit, all subjects were randomized by simple random sampling into five groups to consume 400 mL of each beverage containing; 1) 50 g sucrose (SU), 2) 50 g isomaltulose (ISO), 3) green tea (GT), 4) green tea with 50 g sucrose (GT+SU), or 5) green tea with 50 g isomaltulose (GT+ISO) with crossover-design (Figure 14). After first visit, the subjects changed to different types of beverages at 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> visit (2-week for wash out period) until the subjects consumed all five type of beverage (Table 3). At each visit, a serving portion (400 mL) of one type of beverages was provided for each subject and was completely consumed within 5 min from the starting time. In addition, the subjects were asked to provide their food records and physical activity questionnaire in every visit.



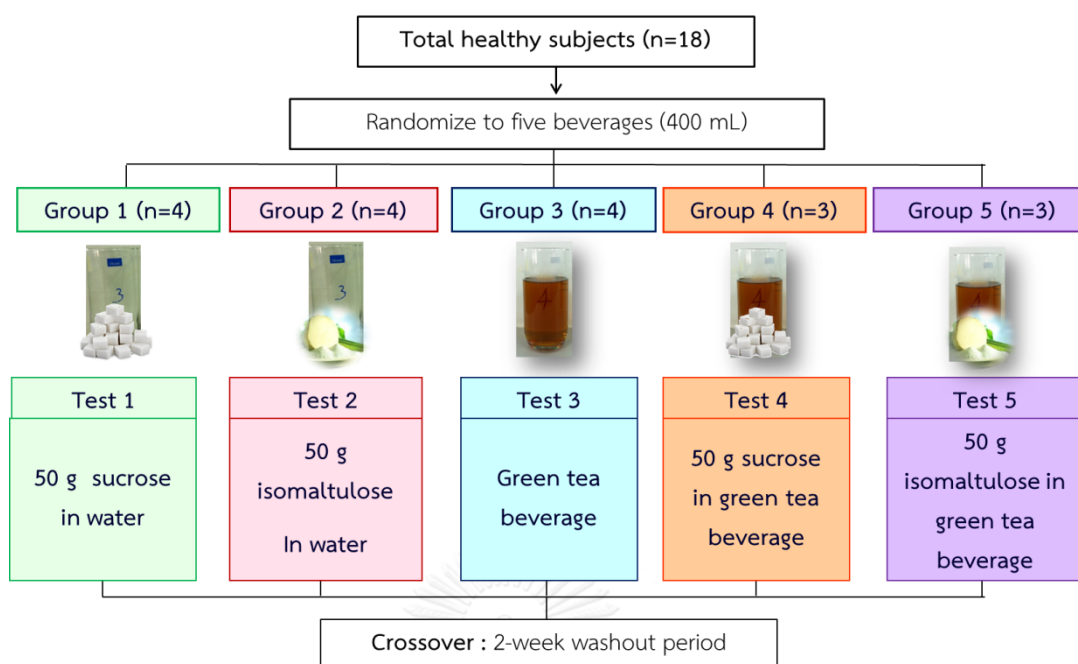


Figure 15 The experimental design in this study

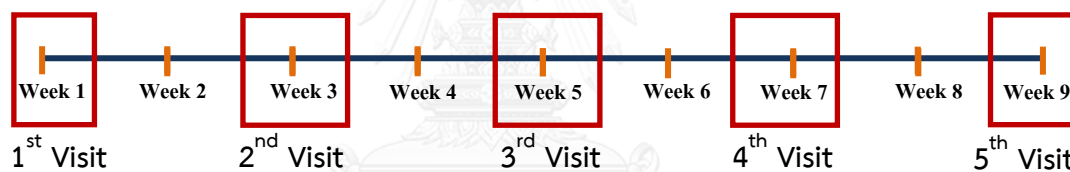


Figure 16 Experimental period

Table 3 The consumption beverages for each group at each experimental visit

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
1 <sup>st</sup> Visit	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5
2 <sup>nd</sup> Visit	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5	Test 1
3 <sup>rd</sup> Visit	Test 3	Test 4	Test 5	Test 1	Test 2
4 <sup>th</sup> Visit	Test 4	Test 5	Test 1	Test 2	Test 3
5 <sup>th</sup> Visit	Test 5	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4

### 3.3.5 Preparation of subjects during the experimental period

- One week before each visit

All subjects were instructed not to consume high-antioxidant diet, phenolic-rich foods (e.g. tea, coffee, fruit juices, berries fruit and chocolate etc.), no alcoholic beverage and no exercise.

- One day before each visit

All subjects should consume regular diet. They must fast for 12 hours before blood sampling test and get enough sleep.

### 3.3.6 Blood collection

Blood samples were collected into NaF and EDTA tubes by intravenous catheter inserted into a forearm vein for a total 120 min period from the starting point. The first blood samples were collected before consumption of beverage (baseline), and they were collected blood after consumption of beverage at 15, 30, 45, 60, 90 and 120 min. Plasma samples were separated from the blood samples by centrifugation at 3,000 rpm for 15 minutes at 4 °C. The plasma samples were kept into microtube and stored at -20 °C until analysis. The NaF-plasma was used to analyze plasma glucose. The EDTA-plasma was used to evaluate the postprandial plasma insulin, plasma FRAP and plasma MDA.

### 3.3.7 Biochemical measurement

#### 3.3.7.1 Evaluation of the glycemic response

##### 3.3.7.1.1 Plasma glucose concentration

Plasma glucose was determined by using a glucose oxidase method (The enzymatic colorimetric kits, GLUCOSE liquicolor, Human GmbH, Germany)

##### 3.3.7.1.2 Plasma insulin level

Plasma insulin level was determined by using insulin human ELISA kit (BQ kits, USA).

#### 3.3.7.2 Evaluation of plasma antioxidant capacity

##### 3.3.7.2.1 Ferric reducing ability of plasma (FRAP)

The principle of FRAP method is based on the reduction of a ferric ( $\text{Fe}^{3+}$ ) to ferrous ( $\text{Fe}^{2+}$ ) for measuring of antioxidants status according to the method described by Benzie and Strain (1996) with a slight modification. The FRAP reagent prepared freshly and warm at 37 °C the mixing: 1) 0.3 M sodium acetate buffer solution (pH 3.6), 2) the solution containing 10 mM 2,4,6- tripyridyl-1-5-triazine (TPTZ) in 40 mM HCl, and 3) 20 mM  $\text{FeCl}_3$  solution at the ratio of 10:1:1 (V/V/V), respectively. Ten microliters of plasma samples mixed with 90  $\mu\text{L}$  of the FRAP reagent in microplate and incubated for 30 min at 37 °C in dark. After that the mixture was measured the absorbance at the wavelength 595 nm with spectrophotometer (Biotac®, Powerwave XS2, USA). Antioxidant activity was calculated by calibration

standard curve from measuring absorbance of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (72.5, 125, 250, 500, 1000, 2000  $\mu\text{M}$   $\text{FeSO}_4$ ). Antioxidant activity was measured five times for plasma samples ( $n=5$ ). Antioxidant activity was measured five times of each beverage ( $n=5$ ). The results of green tea beverages were expressed as mM  $\text{FeSO}_4/\text{L}$ .

#### 3.3.7.2.2 Malondialdehyde assay (MDA assay)

Malondialdehyde (MDA) is a major product of lipid peroxidation which is markers of free radicle and oxidative stress. The MDA assay involved the reaction of malondialdehyde containing 60  $\mu\text{L}$  of sample or standard MDA (Sigma Chemical Co., USA) with 30  $\mu\text{L}$  of 10% sodium dodecyl sulfate (SDS, Sigma Chemical Co., USA) and 1.2 mL of TBA reagent (530 mg thiobarbituric acid in a mixed solution containing 50 mL of 20% acetic acid and 50 mL of 1 M NaOH that the TBA reagent (Sigma Chemical Co., USA) was stable for 24 hours). The mixtures were put in a heat block (Labnet International, Inc., USA) at 97 °C for 1 hour after that it was immediately removed from heat block and place in -20 °C for 10 minutes to stop reaction. Next, it was centrifuged at 13,000 rpm for 10 minutes at 4 °C and then loaded supernatant to microplate. The microplate was measured by fluorescence reader (Perkin Elmer®, Finland) at excitation wavelength 530 nm and emission wavelength 550 nm.

### 3.3.8 STATISTICAL ANALYSIS

The data were expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). The incremental area under curves (iAUCs) was calculated using SigmaPlot program version 11.0. The statistical analyses were conducted by SPSS Program version 17.0 (SPSS Inc.). One-way analysis of variance (ANOVA), followed by the Least-Significant Difference (LSD) post hoc test for multiple comparison test, was performed to assess the differences between FRAP values in unsweetened and sweetened green tea beverage. In addition, the incremental data at each time points and iAUCs of plasma glucose, plasma insulin, plasma FRAP and plasma MDA after beverages consumption were analyzed using a repeated measurement ANOVA, followed by the LSD post hoc test for the pairwise comparisons. For all the statistical tests, significant difference was considered at P-values  $< 0.05$ .

## PART III INHIBITION OF $\alpha$ -GLUCOSIDASE ACTIVITY BY GREEN TEA EXTRACT

Intestinal  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity was performed according to the method described by Adisakwattana et al (2010) with a slight modification. This assessment used to examine inhibition of the isomaltase activity (enzyme for isomaltulose digestion) by green tea.

### **Step 1 Preparation of green tea extract**

Twenty-gram of the pure green tea leaf was infused in 2 L of boiling water (95 °C) for 5 minutes that used same preparation of green tea beverage method (Figure 13). The solution of green tea was dried using a spray dryer (Eyela world®, Tokyo Rikakikai Co., LTD, Japan). The condition of spray dryer was inlet temperature 170 °C, outlet temperature 89-99 °C, blower 0.8-0.9 m<sup>3</sup>/min and atomizing at 90 kPa. The powder extract of green tea was kept in dry place. Green tea extract was measured amount of total polyphenols that the method for the analysis of phenolic compounds in green tea extract followed by 2.1.3.

### **Step 2 Preparation of the $\alpha$ -glucosidase solution (enzyme solution)**

The solution of rat intestinal acetone powder (100 mg) homogenized in 3 ml of 0.9% NaCl solution and then it will be centrifuged at 12,000 g for 30 minutes at 4 °C. The supernatant (crude enzyme solution) was kept in microtube at -20 °C.

The specific activity of isomaltase in crude enzyme solution determined by Bradford protein assay according to Bradford (1976) and a slight modification. The protein solution for determination of isomaltase activity containing 40  $\mu$ L of 96 mM isomaltulose in 0.1 M phosphate buffer (pH 6.9), 10  $\mu$ L of distilled water and 50  $\mu$ L of crude enzyme solution was pipetted into in microtube. One milliliters of commercial protein reagent was added 4  $\mu$ L of isomaltase solution and the contents mixed by vortexing. The mixture was measured the absorbance after 2 min and before 1 hr at the wavelength 595 nm with spectrophotometer (Biotac®, Powerwave XS2, USA). Isomaltase content

of crude enzyme solution was calculated by calibration standard curve of bovine serum albumin (BSA) in phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4) from measuring absorbance of BSA standard (0.625, 1.25, 2.5 and 5 mg/ml). There was determined for three replicates (n=3). The results were expressed as units ( $\mu\text{mol}/\text{min}$ )/mg protein.

### Step 3 Intestinal isomaltase inhibitory activity by green tea extract

Fifty microliters of isomaltulose solution (96 mM) in 0.1 M phosphate buffer (pH 6.9) was incubated with 10  $\mu\text{L}$  of green tea extract (0.25, 0.5, 1, 2, 4 and 6 mg/ml) and 40  $\mu\text{L}$  of crude enzyme solution at 37  $^{\circ}\text{C}$  for 90 minutes. Then, the mixtures were suspended in a heat block at 100  $^{\circ}\text{C}$  for 10 minutes to stop the reaction. Next, the glucose oxidase method was used to measure concentration of glucose release from reaction. The absorbance was measured at 500 nm by spectrophotometer (Biotac®, Powerwave XS2, USA). The percentage of isomaltase enzyme inhibition of the green tea extract was calculated by using the following equation:

$$\% \text{ Enzyme inhibition} = \frac{\text{Abs.of blank} - \text{Abs.of extract}}{\text{Abs.of blank}} \times 100$$

## CHAPTER IV

## RESULTS

PART I PREPARATION AND ANALYSES OF BEVERAGES

## 4.1 The total polyphenols in green tea beverage

The total polyphenols in green tea beverage was calculated from brewing green tea of every visit in clinical trials. As shown in Table 4, total polyphenols of green tea beverage was  $1.202 \pm 0.05$  mg gallic acid equivalents/mL. Total phenolic contents were calculated using the calibration curve of gallic acid concentrations on Folin-Ciocalteu method (Figure 16).

**Table 4** The total polyphenols of green tea beverage

	Green tea beverage (mg gallic acid equivalents/mL)
Total polyphenols	$1.202 \pm 0.05$

Data are expressed mean  $\pm$  SEM; Green tea beverage (n=10)



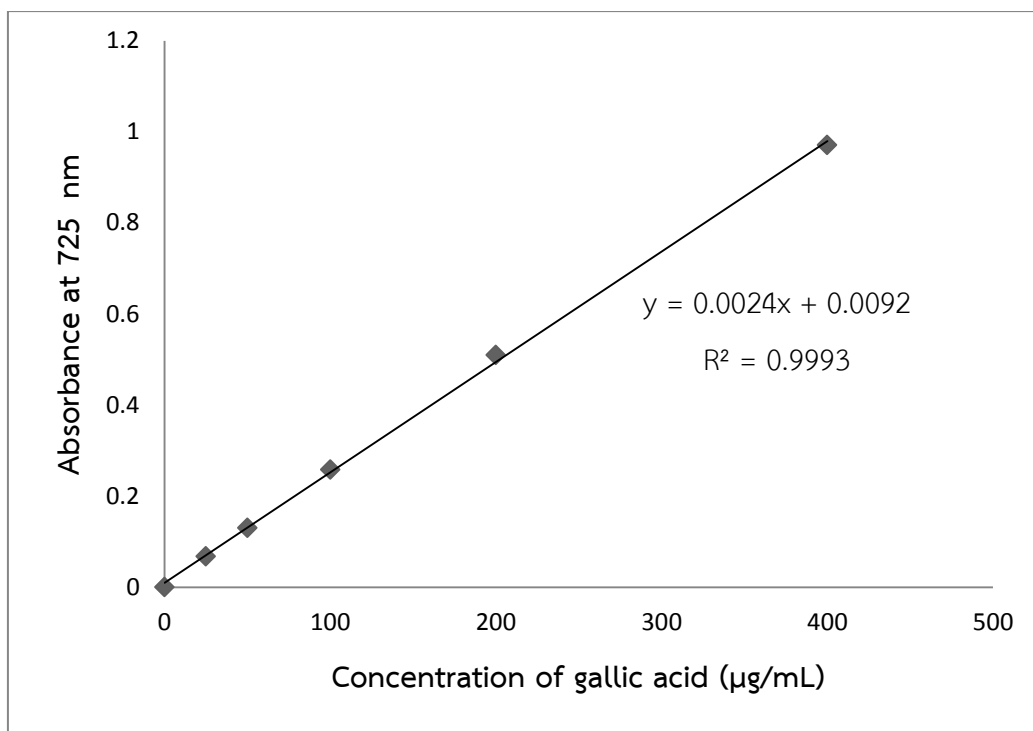
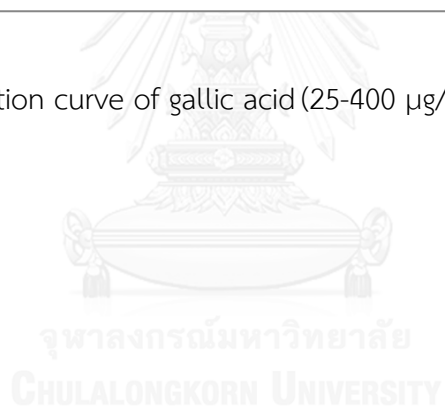


Figure 17 The calibration curve of gallic acid (25-400 µg/mL)



## 4.2 Evaluation of antioxidant capacities in green tea beverages by the ferric reducing antioxidant power (FRAP)

FRAP assay was used for measurement of antioxidant capacities in green tea beverages. FRPP values of beverages were  $13.15 \pm 1.40$  mM FeSO<sub>4</sub>/L in green tea beverage (GT),  $13.09 \pm 1.56$  mM FeSO<sub>4</sub>/L in combination of sucrose with green tea beverage (GT+SU) and  $13.35 \pm 1.47$  mM FeSO<sub>4</sub>/L in combination of isomaltulose with green tea beverage (GT+ISO) (Figure 17). There were no significant differences of FRAP values in FRAP values between unsweetened green tea beverage (GT) and sweetened green tea beverages (GT+SU and GT+ISO). The FRAP values were calculated using the calibration curve of FeSO<sub>4</sub> (Figure 18).

**Table 5** Antioxidant capacities in green tea beverages determined by FRPP assay.

Type of beverages	FRAP values (FeSO <sub>4</sub> /L)
Green tea beverage (GT)	$13.15 \pm 1.40^a$
Green tea beverage with Sucrose (GT+SU)	$13.09 \pm 1.56^a$
Green tea beverage with Isomaltulose (GT+ISO)	$13.35 \pm 1.47^a$

Data are expressed as mean  $\pm$  SEM, n=3. The difference of FRAP values in beverages were analyzed by one-way ANOVA followed by LSD post hoc test.

<sup>a</sup> Values not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

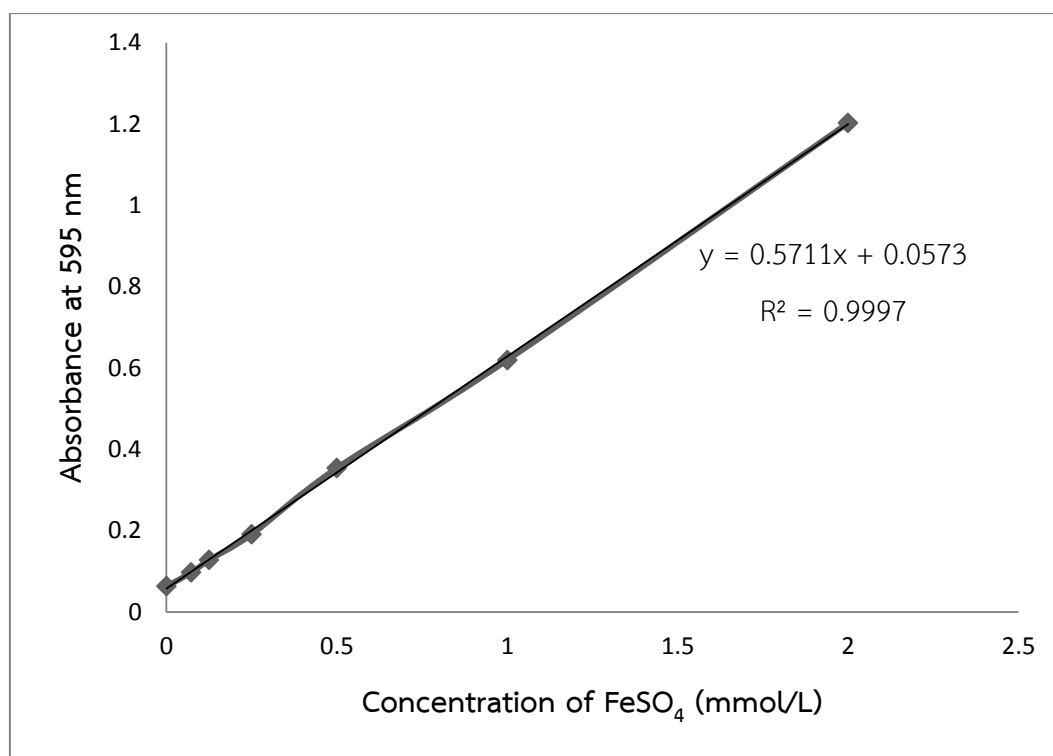


Figure 18 The calibration curve of FeSO<sub>4</sub> (0.25-2 mmol/L)

## PART II HUMAN STUDY

Eighteen subjects were recruited from local community. Fifteen subjects completed in this study including seven male and eight female. Three subjects dropped out after first week with personal reasons. The baselines characteristics of fifteen subjects are shown in Table 5. During the experimental period, the subjects did not have adverse effect from beverages consumption such an irritable bowel syndrome.

**Table 6** Baselines characteristics of fifteen subjects in this study

	Normal range	Mean $\pm$ SEM
Age (years)		23.50 $\pm$ 0.69
Weight (kg)		59.36 $\pm$ 1.84
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	18.5-22.9	21.03 $\pm$ 0.38
% Body fat	Male < 20%,	13.58 $\pm$ 1.10
	Female <30%	22.56 $\pm$ 1.36
Waist circumference (cm)	Male $\leq$ 90	80.00 $\pm$ 2.25
	Female $\leq$ 80	69.94 $\pm$ 2.40
Systolic blood pressure (mmHg)	< 140	115.31 $\pm$ 1.97
Diastolic blood pressure (mmHg)	<90	71.92 $\pm$ 2.34
Fasting glucose (mg/dL)	$\leq$ 100	81.46 $\pm$ 2.29
Total cholesterol (mg/dL)	< 200	186.54 $\pm$ 3.17
LDL-cholesterol (mg/dL)	<150	119.00 $\pm$ 5.16
Triglyceride (mg/dL)	<150	76.54 $\pm$ 6.32
Creatinine (mg/dL)	0.7-1.4	0.98 $\pm$ 0.03
Alanine aminotransferase, ALT (U/L)	< 40	10.76 $\pm$ 1.30

Results expressed as the mean  $\pm$  SEM, n = 15

### 4.3 Food record and physical activity questionnaire

All subjects were no significant differences in energy intake calculated from food record between experimental periods (Table 7). In addition, they did not consume high-antioxidant diet, phenolic-rich foods (e.g. tea, coffee, fruit juices, berries fruit and chocolate etc.) and alcoholic beverage before one-week experiment at each visit. Moreover, all subjects did not exercise during the experimental periods. Furthermore, all subjects were no change physical behavior during the experimental period. The most physical activities of subjects were mild-intensity physical activity such as housework (i.e. sweep the floor, mop the floor, ironing, cooking, etc.), office activity (i.e. meeting, copy, printed matter, etc.) and walking (< 5 km/hr.).

**Table 7** Energy intake (kcal) calculated from food record

	Energy intake (kcal)/day
1 <sup>st</sup> Visit	1,402.13±76.05 <sup>a</sup>
2 <sup>nd</sup> Visit	1,540.20±70.51 <sup>a</sup>
3 <sup>rd</sup> Visit	1510.08±63.44 <sup>a</sup>
4 <sup>th</sup> Visit	1496.73±71.24 <sup>a</sup>
5 <sup>th</sup> Visit	1442.07±59.10 <sup>a</sup>

Results expressed as the mean ± SEM, n = 15. The differences of energy intake between each visit were analyzed by one-way ANOVA followed by LSD post hoc test. <sup>a</sup> Values not sharing the same superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

### 4.4 Total polyphenols in green tea beverage

Total polyphenols of green tea beverage were 1.202±0.05 mg gallic acid equivalents/mL (Table 4). Thus, a serving of green tea beverages (400 mL) in each visit contained total polyphenols approximately 480 mg gallic acid equivalents.

## 4.5 Biochemical measurement

### 4.5.1 The glycemic response

#### 4.5.1.1 Plasma glucose

The effects of beverages consumption on the incremental plasma glucose concentration are shown in Table 8 and Figure 19. Repeated-measures analysis of variance revealed a significant test x time interaction ( $P < 0.001$ ) for postprandial plasma glucose concentration, a significant test effect ( $P < 0.001$ ) and time effect ( $P < 0.001$ ), followed by LSD post hoc test. The consumption of sucrose had rapid rise of glucose concentration and the peak of plasma glucose concentration was 30 min and thereby rapid fell the baseline concentration within 120 min. In comparison of sucrose, the concentration of glucose in the group consumed isomaltulose lower than consumption of sucrose at 15 min ( $P = 0.001$ ), 30 min ( $P < 0.001$ ), 45 min ( $P < 0.001$ ) and 60 min ( $P = 0.015$ ). Ingestion of green tea together with sucrose decreased plasma glucose concentration at 15 min ( $P = 0.015$ ), 30 min ( $P < 0.001$ ), 45 min ( $P = 0.007$ ), 60 min ( $P = 0.004$ ) and 90 min ( $P = 0.044$ ) when compared with consumption of sucrose alone. In addition, ingestion of green tea together with isomaltulose results in lower plasma glucose concentration than consumption of isomaltulose alone at 15 min ( $P = 0.002$ ) and 30 min ( $P = 0.009$ ). Moreover, replacing of sucrose by isomaltulose in green tea beverage was significantly decreased in plasma glucose concentration at 15 min ( $P < 0.001$ ), 30 min ( $P < 0.001$ ) and 45 min ( $P = 0.047$ ) when compared with consumption of sucrose with green tea beverage.

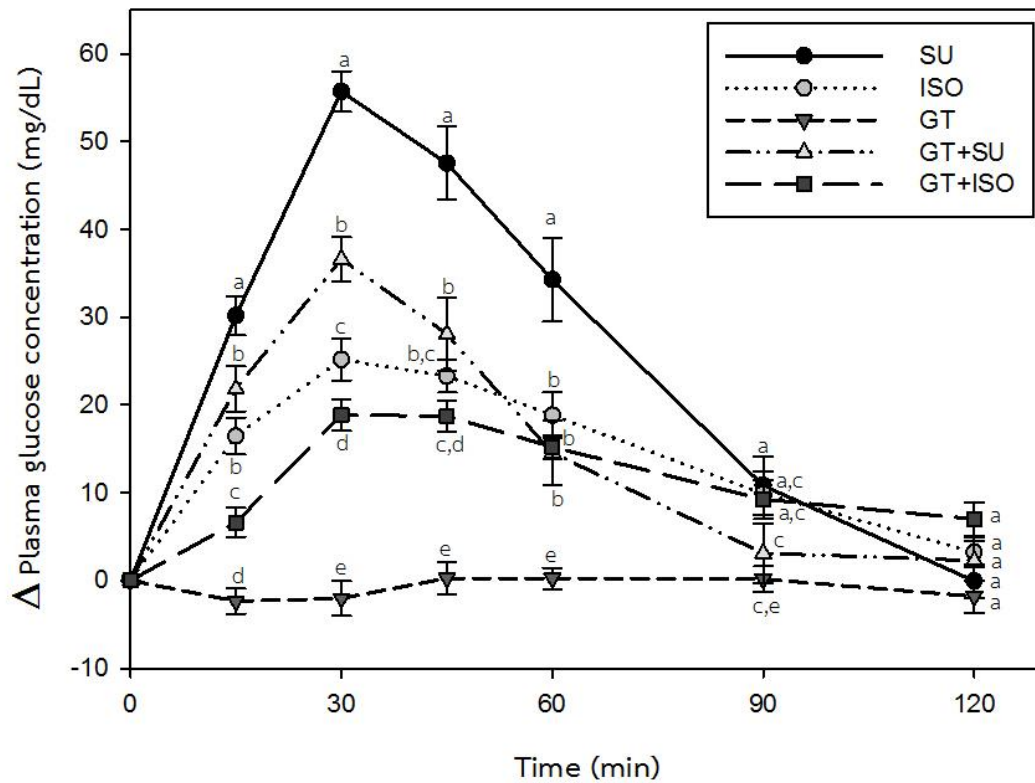
The incremental areas under the curves (iAUCs) of plasma glucose concentration are shown in Figure 20. The iAUCs of plasma glucose concentration in sucrose, isomaltulose, green tea, green tea plus sucrose and green tea plus isomaltulose were  $3,095.5 \pm 234.7$ ,  $1,741.2 \pm 134.3$ ,  $-80.1 \pm 139.8$ ,

1,752.3±231.8 and 1,385.8±127.9 mg x min/dL, respectively. The iAUCs of plasma glucose concentration was significantly reduced approximately 43.73 % in isomaltulose group compared to sucrose group ( $P<0.001$ ). In addition, iAUCs of plasma glucose concentration in sucrose plus green tea group was significantly lower than sucrose approximately 43.39 % ( $P=0.001$ ). Moreover, the iAUCs of plasma glucose concentration in isomaltulose together with green tea was significantly lower than isomaltulose consumption by 20.92 % ( $P=0.027$ ). In addition, the iAUCs of plasma glucose concentration was no significant difference between isomaltulose plus green tea and sucrose plus green tea.

**Table 8** The incremental postprandial plasma glucose concentration (mg/dL) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO).

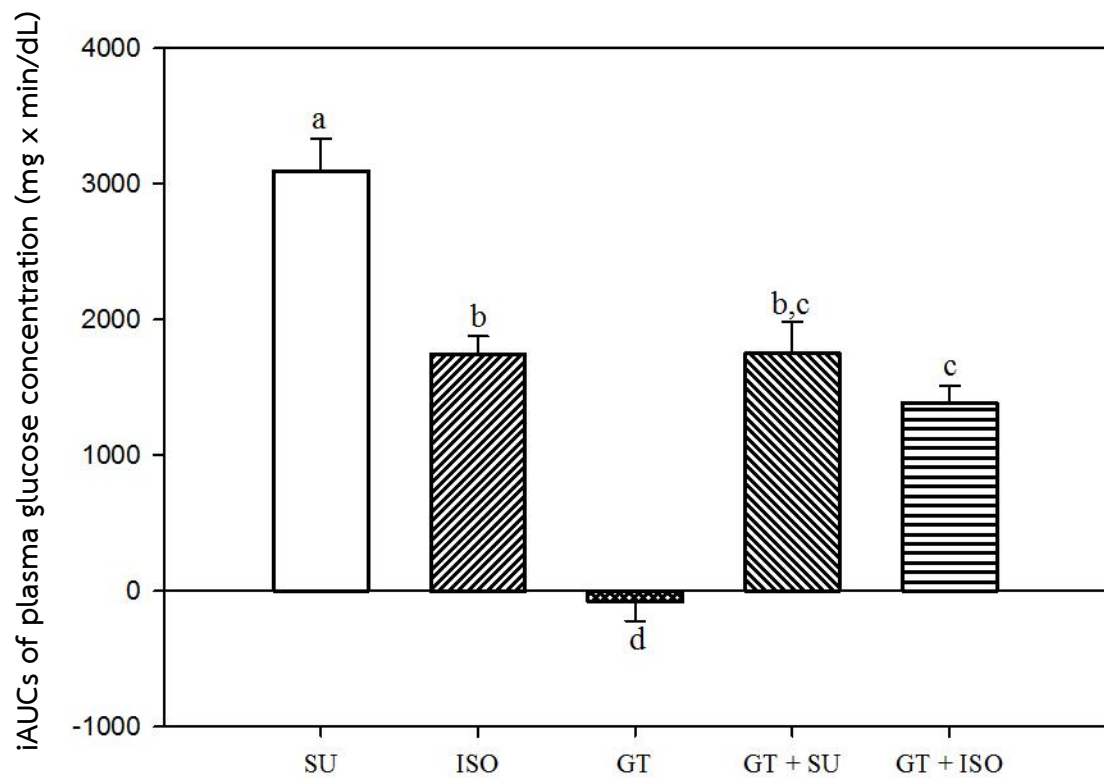
Time (min)	The incremental postprandial plasma glucose concentration (mg/dL)				
	SU	ISO	GT	GT+SU	GT+ISO
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
15	30.17±2.20**	16.44±2.1**	-2.38±1.45	21.83±2.57**	6.61±1.64*
30	55.70±2.32**	25.16±2.38**	-2.05±1.98	36.60±2.52**	18.83±1.80**
45	47.52±4.17**	23.26±1.85**	0.25±1.82	28.08±4.17**	18.72±1.82**
60	34.25±4.76**	18.82±2.58**	0.23±1.22	14.55±3.68*	15.19±1.37**
90	10.83±3.28*	9.90±2.49*	0.15±1.46	3.10±3.35	9.23±2.24*
120	-0.06±1.91	3.20±1.69	-1.81±1.85	2.27±2.25	6.98±1.85*

Data are expressed as mean ± SEM, n=15. \* $P < 0.05$  or \* $P < 0.001$  compared to baseline (0 min) within test group in each time points.



**Figure 19** The incremental postprandial plasma glucose concentration (mg/dL) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). The incremental peak of plasma glucose concentration in sucrose, isomaltulose, green tea, sucrose in green tea and isomaltulose were  $55.70 \pm 2.32$ ,  $25.16 \pm 2.38$ ,  $0.25 \pm 1.82$ ,  $36.60 \pm 2.52$  and  $18.83 \pm 1.80$  mg/dL, respectively. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM n=15. a, b, c, d, e Values not sharing the same superscript were significantly different between test group in each time points ( $P < 0.05$ ).





**Figure 20** The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma glucose concentration in 2-hr periods after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). Data are expressed as mean  $\pm$  SEM, n=15. <sup>a, b, c, d</sup> Values not sharing the same superscript were significantly different between test groups ( $P < 0.05$ ).

#### 4.5.1.2 Plasma insulin

The effects of beverages consumption on the incremental postprandial plasma insulin concentration are shown in Table 9 and Figure 22. Repeated-measures analysis of variance revealed a significant test x time interaction ( $P<0.001$ ) for postprandial plasma insulin concentration, a significant test effect ( $P<0.001$ ) and time effect ( $P<0.001$ ), followed by LSD post hoc test. The consumption of sucrose had rapid rise of insulin concentration and the peak of plasma insulin concentration was 30 min and returned the baseline concentration after 120 min. In comparison of sucrose, the postprandial plasma insulin concentrations in the group consumed isomaltulose lower than consumption of sucrose at 15 min ( $P<0.001$ ), 30 min ( $P<0.001$ ) and 45 min ( $P<0.001$ ). Ingestion of green tea together with sucrose had significantly lower plasma insulin concentration than sucrose at 30 min ( $P<0.001$ ) and 45 min ( $P<0.001$ ). Moreover, ingestion of green tea together with isomaltulose showed lower plasma insulin concentration than consumption isomaltulose alone at 30 min ( $P=0.017$ ) and 45 min ( $P=0.008$ ). Furthermore, replacing of sucrose by isomaltulose in green tea significantly decreased in postprandial plasma insulin concentration at 15min ( $P=0.006$ ), 30 min ( $P=0.003$ ) and 45 min ( $P=0.003$ ) when compared with consumption of sucrose with green tea beverage.

The incremental areas under the curves (iAUCs) of plasma insulin concentration are shown in Figure 23. The iAUCs of plasma insulin concentration in sucrose, isomaltulose, green tea, green tea plus sucrose and green tea plus isomaltulose were  $2,676.2\pm 299.3$ ,  $1,551.8\pm 269.77$ ,  $-72.88\pm 47.54$ ,  $1,816.28\pm 267.53$  and  $966.32\pm 156.63$   $\mu\text{IU} \times \text{min/mL}$ , respectively. The iAUCs of plasma insulin concentration was significantly reduced approximately 42.01 % in isomaltulose group compared to sucrose

group ( $P=0.002$ ). In addition, the iAUCs of insulin concentration in sucrose plus green tea group was significantly lower than sucrose group approximately 32.13 % ( $P=0.003$ ). Moreover, the iAUCs of plasma insulin concentration in isomaltulose together with green tea was significantly lower than isomaltulose alone by 37.73 % ( $P<0.001$ ). Furthermore, there was significant difference of iAUCs of plasma insulin concentration between sucrose with green tea group and isomaltulose with green tea group that isomaltulose with green tea group was significantly lower than sucrose with green tea approximately 46.80 %.



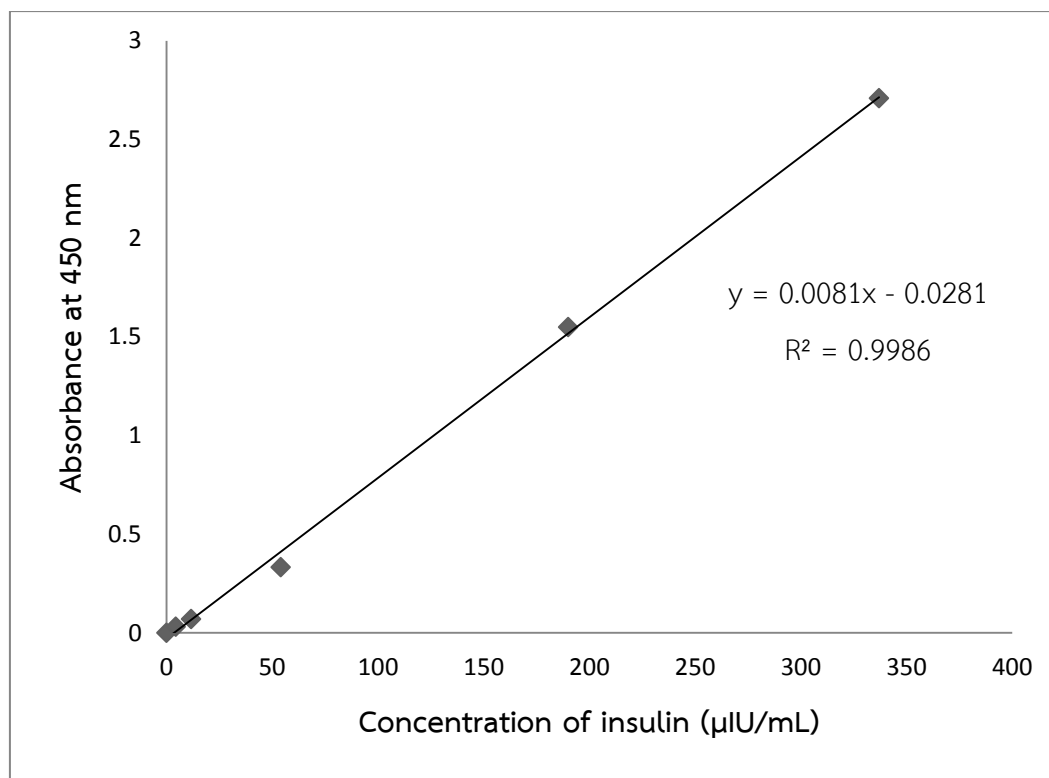
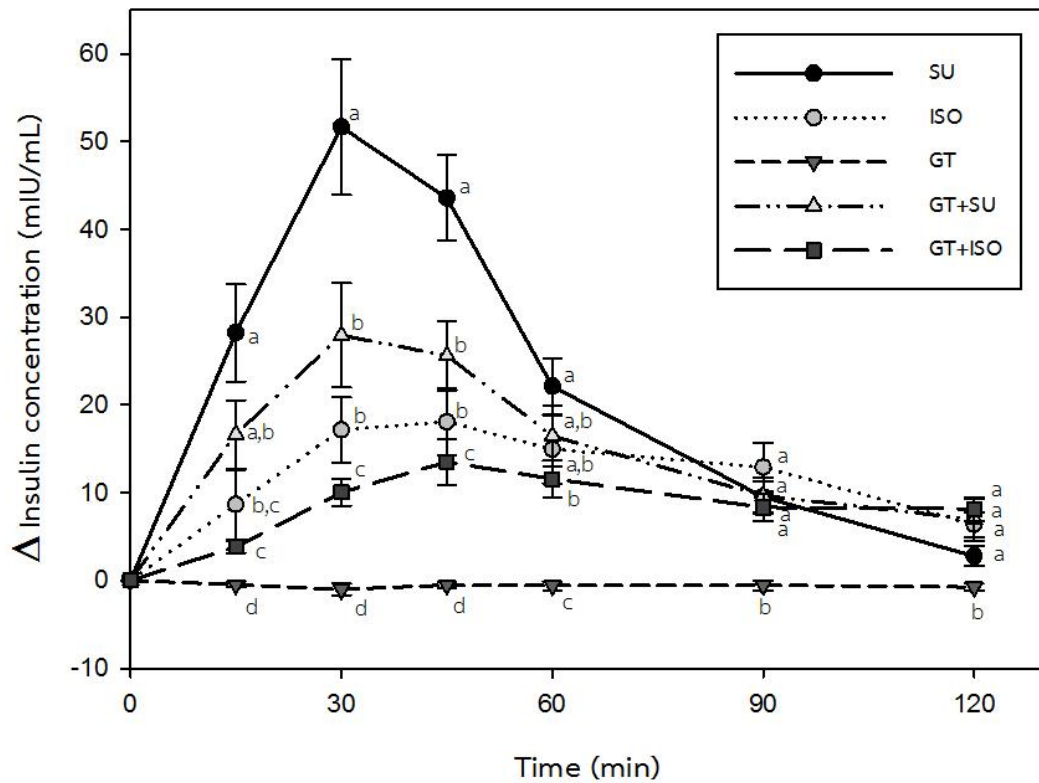


Figure 21 The calibration curve of human insulin concentration (4.4-337 μIU/mL).

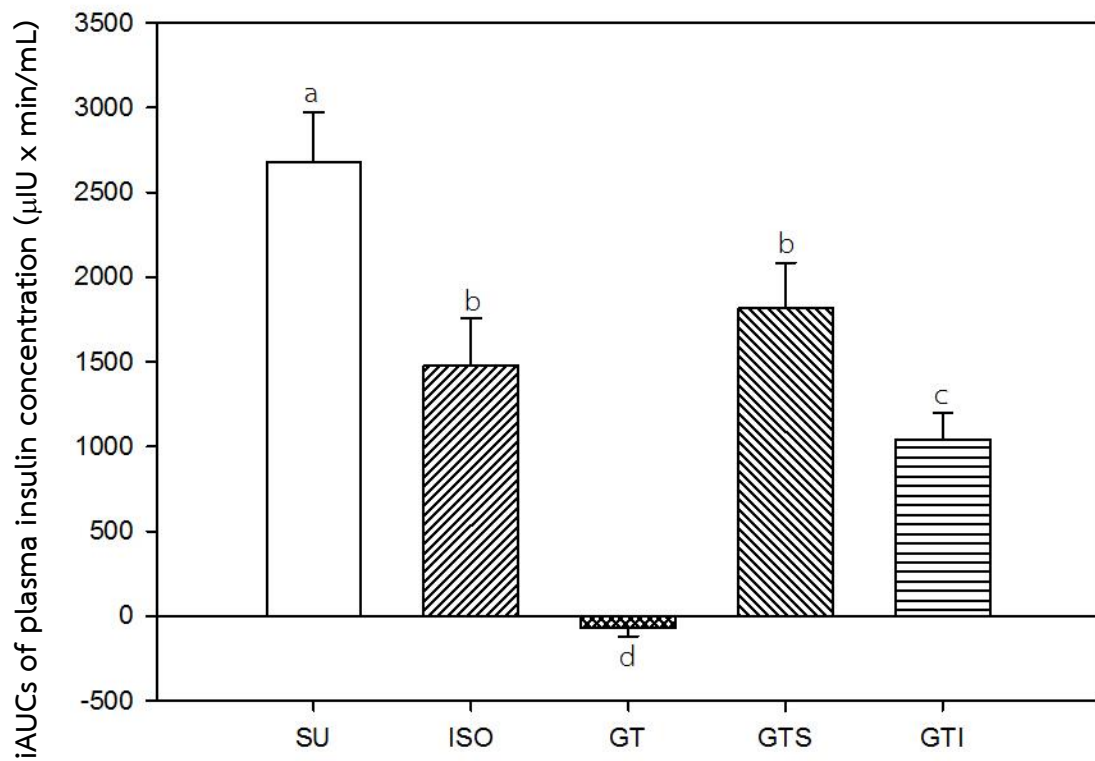
**Table 9** The incremental postprandial plasma insulin concentration ( $\mu\text{IU/mL}$ ) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO).

Time (min)	The incremental postprandial plasma insulin concentration ( $\mu\text{IU/mL}$ )				
	SU	ISO	GT	GT+SU	GT+ISO
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
15	28.22 $\pm$ 5.56**	8.70 $\pm$ 3.96*	-0.48 $\pm$ 0.33	16.63 $\pm$ 3.91*	3.77 $\pm$ 0.71**
30	51.64 $\pm$ 7.72**	18.17 $\pm$ 3.60**	-1.03 $\pm$ 0.65	27.93 $\pm$ 5.92**	9.02 $\pm$ 1.43**
45	43.57 $\pm$ 4.89**	19.48 $\pm$ 3.77**	-0.53 $\pm$ 0.38	25.59 $\pm$ 3.92**	12.06 $\pm$ 2.46**
60	22.11 $\pm$ 3.17**	16.12 $\pm$ 3.77*	-0.62 $\pm$ 0.52	16.45 $\pm$ 3.48**	10.37 $\pm$ 2.13**
90	9.52 $\pm$ 1.82**	13.38 $\pm$ 2.75**	-0.57 $\pm$ 0.57	9.65 $\pm$ 2.05**	7.84 $\pm$ 1.50**
120	2.78 $\pm$ 1.17*	6.19 $\pm$ 1.41*	-0.75 $\pm$ 0.36	6.95 $\pm$ 2.39*	8.33 $\pm$ 1.33**

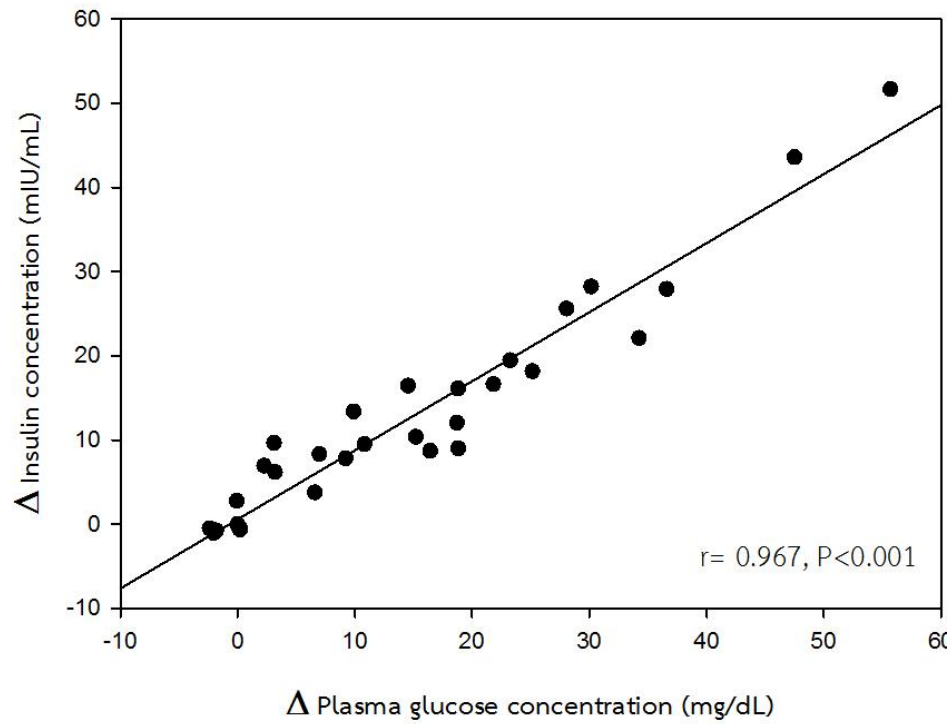
Data are expressed as mean  $\pm$  SEM, n=15. \*P < 0.05 or \*\*P < 0.001 compared to baseline (0 min) within test group in each time points.



**Figure 22** The incremental postprandial plasma insulin concentration ( $\mu\text{IU/mL}$ ) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea with sucrose (GT+SU) and green tea with isomaltulose (GT+ISO). The incremental peak of plasma insulin concentration in sucrose, isomaltulose, sucrose in green tea and isomaltulose were  $51.64 \pm 7.72$ ,  $19.48 \pm 3.77$ ,  $27.93 \pm 5.92$  and  $12.06 \pm 2.46$   $\mu\text{IU/mL}$ , respectively. Data are expressed as mean  $\pm$ SEM,  $n=15$ . <sup>a, b, c, d</sup> Values not sharing the same superscript were significantly different between test groups in each beverage ( $P < 0.05$ ).



**Figure 23** The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma insulin concentration in 2-hr periods after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). Data are expressed as mean  $\pm$  SEM,  $n=15$ . <sup>a,b,c,d</sup> Values not sharing the same superscript were significantly different between test groups in each time points ( $P < 0.05$ ).



**Figure 24** Correlation between the incremental postprandial plasma glucose concentration ( $\mu\text{IU/mL}$ ) and the incremental postprandial plasma insulin concentration ( $\mu\text{IU/mL}$ ) after beverages consumption. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM,  $n=15$ ,  $r = 0.967$  and  $P<0.001$ .



## 4.5.2 Plasma antioxidant capacities

### 4.5.2.2 Ferric reducing ability of plasma (FRAP)

The effects of beverages consumption on the incremental plasma antioxidant concentrations using FRAP assay are shown in Table 10 and Figure 24. Repeated-measures analysis of variance revealed a significant test x time interaction ( $P=0.013$ ) for postprandial plasma antioxidant concentration, a significant time effect ( $P<0.001$ ) and test effect ( $P<0.001$ ), followed by LSD post hoc test. The consumption of green tea beverage increased high antioxidant concentration that the peak of plasma antioxidant concentration was  $50.20\pm 9.31$   $\mu\text{M}$  at 30 min. However, consumption of green tea together with sucrose was significantly decreased in increasing of antioxidant level at 15 min ( $P=0.039$ ), 30 min ( $P=0.033$ ) and 60 min ( $P=0.023$ ) compared to consumption of green tea alone. On the other hand, consumption of green tea together with isomaltulose was no significant difference in plasma antioxidant concentration at individual time points when compared with consumption of green tea alone.

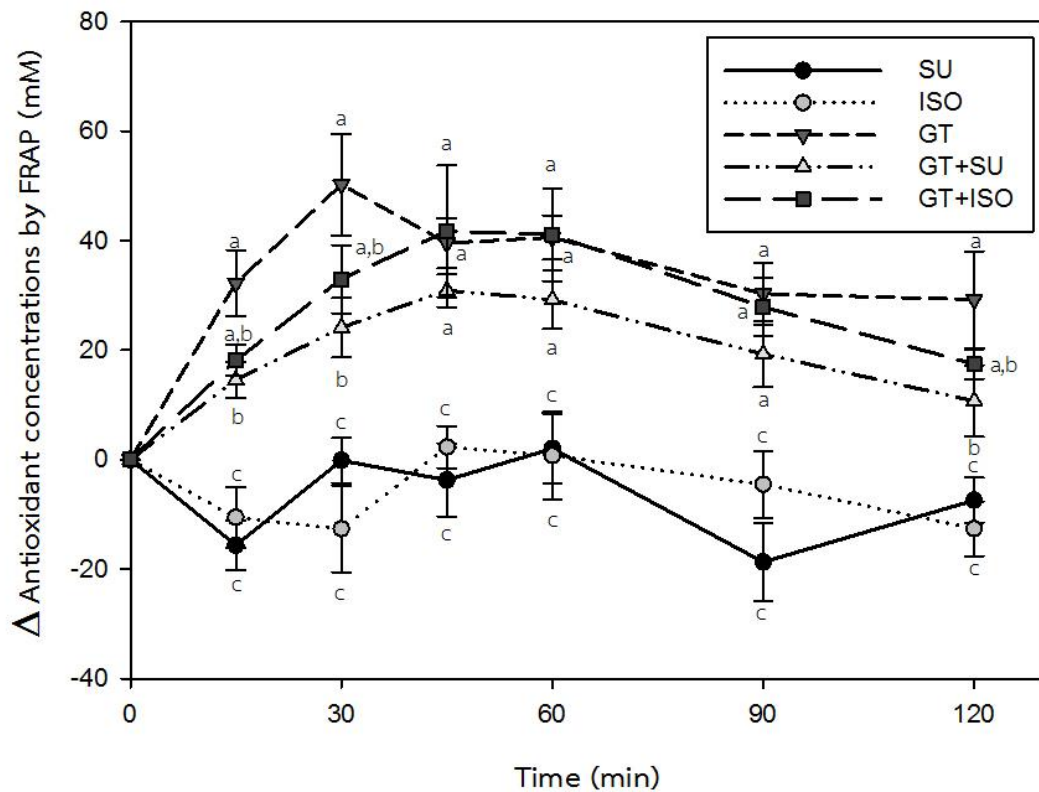
The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma antioxidant concentrations are shown in Figure 25. The iAUCs of plasma antioxidant concentrations in sucrose, isomaltulose, green tea plus sucrose and green tea plus isomaltulose were  $-920.1\pm 311.9$ ,  $-623.1\pm 291.1$ ,  $4,087.6\pm 419.3$ ,  $2,437.2\pm 418.2$  and  $3,412.2\pm 398.2$   $\mu\text{M} \times \text{min}$ , respectively. The iAUCs of plasma antioxidant concentration was significantly reduced approximately 40.38 % in green tea with sucrose group compared to green tea group ( $P<0.001$ ), whereas replacing of sucrose by isomaltulose in green tea beverage was significantly increased approximately 28.57 % in the iAUCs of plasma antioxidant concentrations when compared with sucrose with green tea ( $P=0.032$ ). Furthermore, there was no significant difference in the iAUCs of plasma

antioxidant concentrations between green tea plus isomaltulose group and green tea alone.

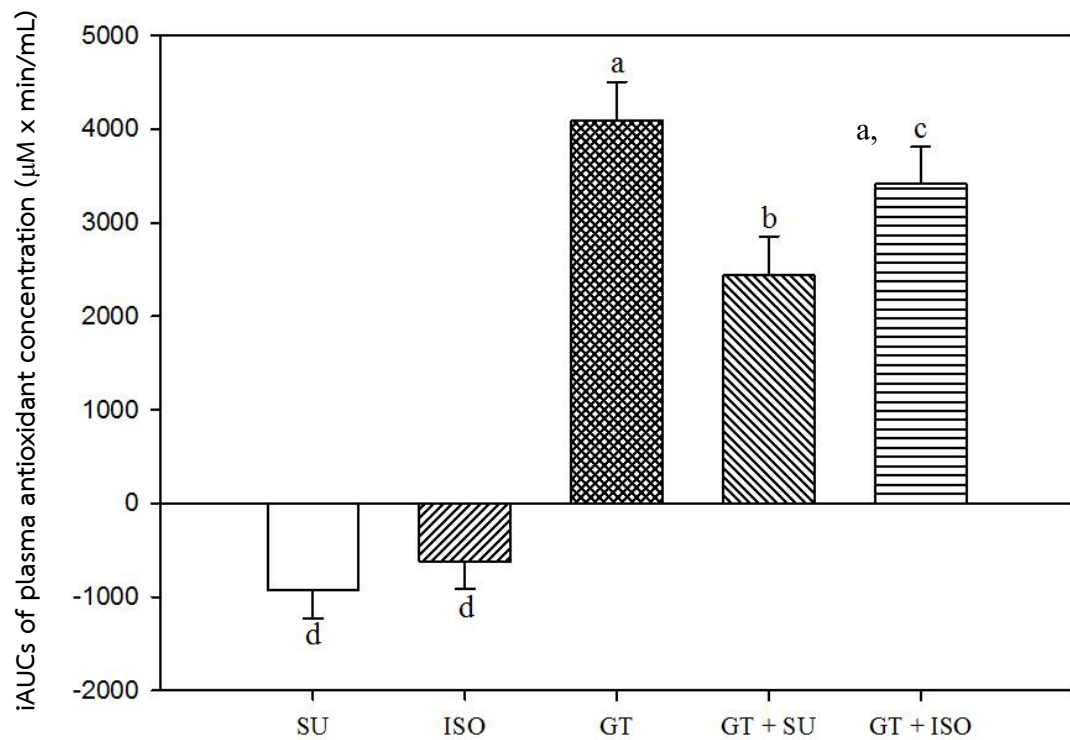
**Table 10** The incremental postprandial plasma antioxidant concentrations ( $\mu\text{M}$ ) determined by FRAP assay after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO).

Time (min)	The incremental postprandial plasma antioxidant concentrations ( $\mu\text{M}$ )				
	SU	ISO	GT	GT+SU	GT+ISO
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
15	-15.63 $\pm$ 4.48*	-10.58 $\pm$ 5.47	32.23 $\pm$ 6.05**	14.52 $\pm$ 3.34*	18.11 $\pm$ 2.83**
30	-0.16 $\pm$ 4.11	-12.65 $\pm$ 7.92	50.20 $\pm$ 9.31**	24.10 $\pm$ 5.41*	32.96 $\pm$ 6.23**
45	-3.73 $\pm$ 6.66	2.29 $\pm$ 3.84	39.53 $\pm$ 4.56**	30.88 $\pm$ 3.01**	41.69 $\pm$ 12.03*
60	2.03 $\pm$ 6.36	0.72 $\pm$ 7.99	40.56 $\pm$ 4.05**	29.17 $\pm$ 5.34**	41.06 $\pm$ 8.44**
90	-18.72 $\pm$ 7.09*	-4.53 $\pm$ 6.09	30.25 $\pm$ 5.64**	19.26 $\pm$ 6.03*	27.85 $\pm$ 5.30**
120	-7.42 $\pm$ 4.13	-12.61 $\pm$ 4.97*	29.20 $\pm$ 8.79*	10.69 $\pm$ 6.53	17.43 $\pm$ 2.68**

Data are expressed as mean  $\pm$  SEM, n=15. \* $P < 0.05$  or \*\* $P < 0.001$  compared to baseline (0 min) within test groups in each time points.



**Figure 25** The incremental postprandial plasma antioxidant concentration by FRAP assay after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). The incremental peak of plasma antioxidant concentration in green tea, sucrose in green tea and isomaltulose were  $50.20 \pm 9.31$ ,  $30.88 \pm 3.01$  and  $41.69 \pm 12.03$   $\mu\text{M}$ , respectively. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM,  $n=15$ . <sup>a,b,c</sup> Values not sharing the same superscript were significantly different between test groups in each time points ( $P < 0.05$ ).



**Figure 26** The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma antioxidant concentration in 2-hr periods after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). Data are expressed as mean  $\pm$  SEM,  $n=15$ . <sup>a,b,c,d</sup> Values not sharing the same superscript are significantly different between test groups in each time points ( $P < 0.05$ ).

#### 4.5.2.3 Plasma Malondialdehyde (MDA)

The effects of beverages consumption on the incremental plasma MDA concentration is shown in figure 26. The consumption of green tea reduced plasma MDA concentration and the highest reduction of plasma MDA concentration was  $-0.208 \pm 0.040 \mu\text{M}$  at 120 min. Consumption of green tea together with sucrose significantly decreased reduction of plasma MDA concentration at 30 min ( $P=0.001$ ) and 45 min ( $P=0.008$ ) when compared with consumption of green tea. In addition, consumption of green tea together with isomaltulose produced a greater reduction of plasma MDA concentration than green tea with sucrose at 15 min ( $P=0.041$ ) and 30 min ( $P=0.024$ ). Nevertheless, there were no significant differences of plasma MDA concentration between green tea alone and green tea plus isomaltulose.

The incremental areas under the curves (iAUCs) of plasma MDA concentration are shown in Figure 27. The iAUCs of plasma MDA concentration in sucrose, isomaltulose, green tea, green tea plus sucrose and green tea plus isomaltulose were  $-5.72 \pm 1.47$ ,  $-7.11 \pm 1.14$ ,  $-18.00 \pm 1.93$ ,  $-11.75 \pm 1.31$  and  $-14.89 \pm 1.62 \mu\text{M} \times \text{min}$ , respectively. The iAUCs of plasma MDA in green tea plus sucrose was significantly lower than green tea alone about 34.72 % ( $P=0.041$ ). In addition, consumption of green tea together with isomaltulose was higher reduction of plasma MDA concentration than green tea plus sucrose about 21.09 % ( $P=0.040$ ). In contrast, there were no significant differences in iAUCs of plasma MDA concentration between consumption of green tea and green tea plus isomaltulose.

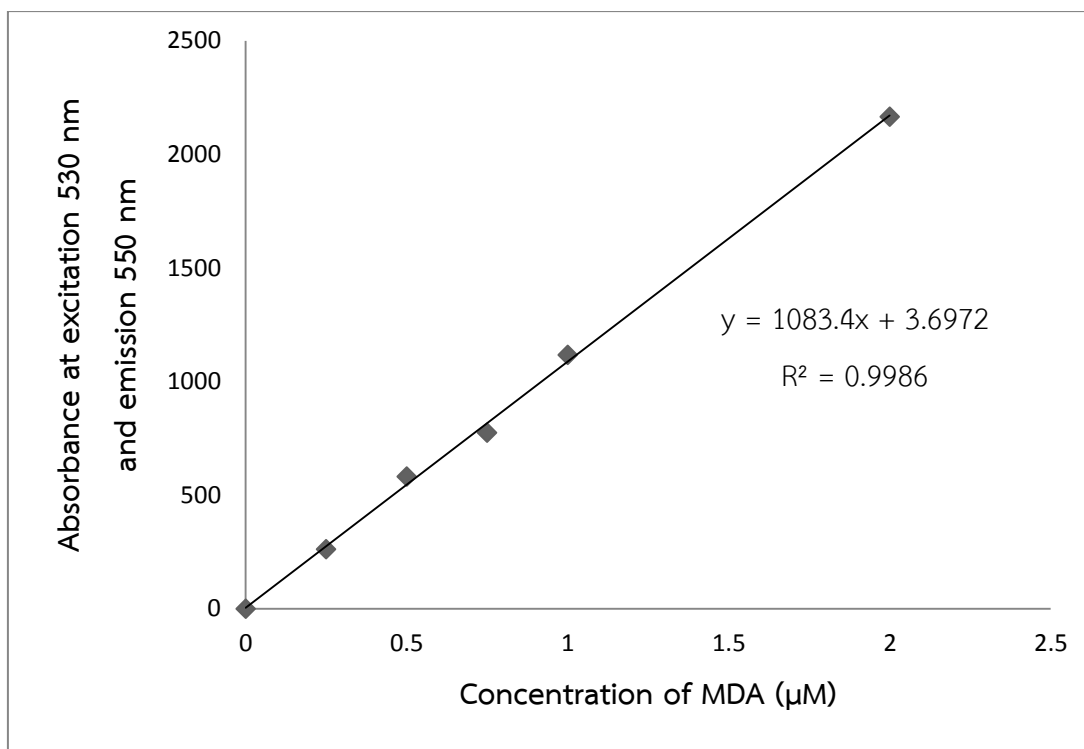


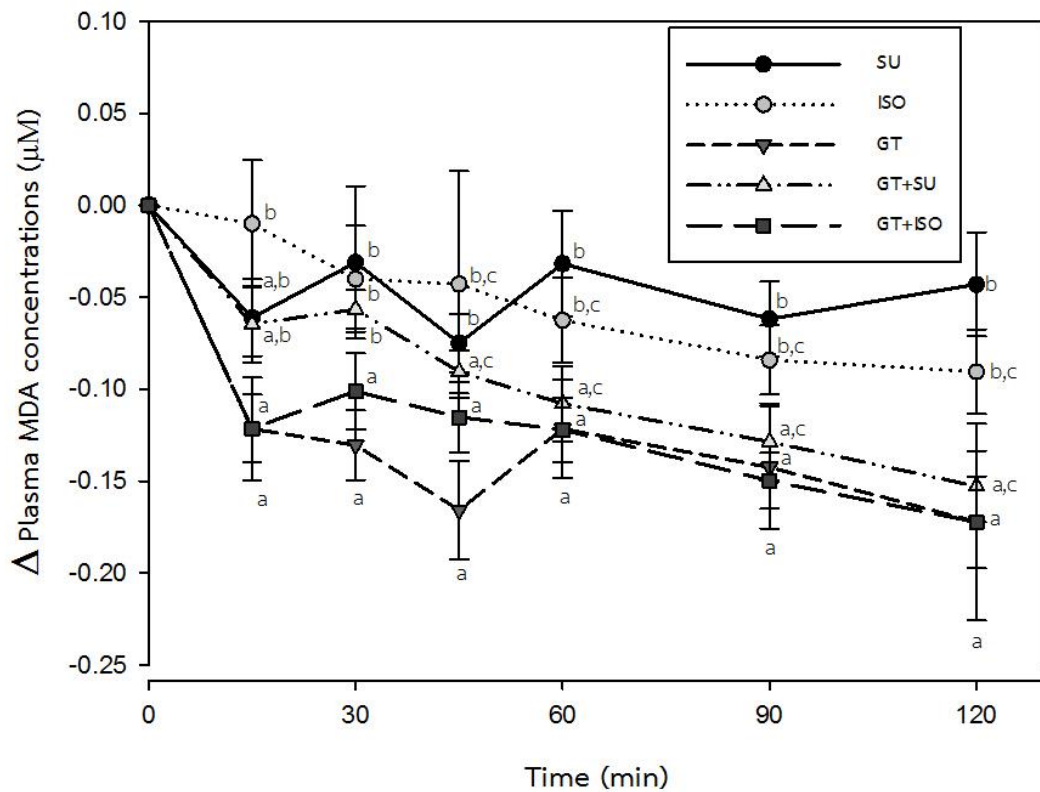
Figure 27 The calibration curve of MDA concentration (0.25-2  $\mu\text{M}$ )



**Table 11** The incremental postprandial plasma MDA concentrations ( $\mu\text{M}$ ) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO).

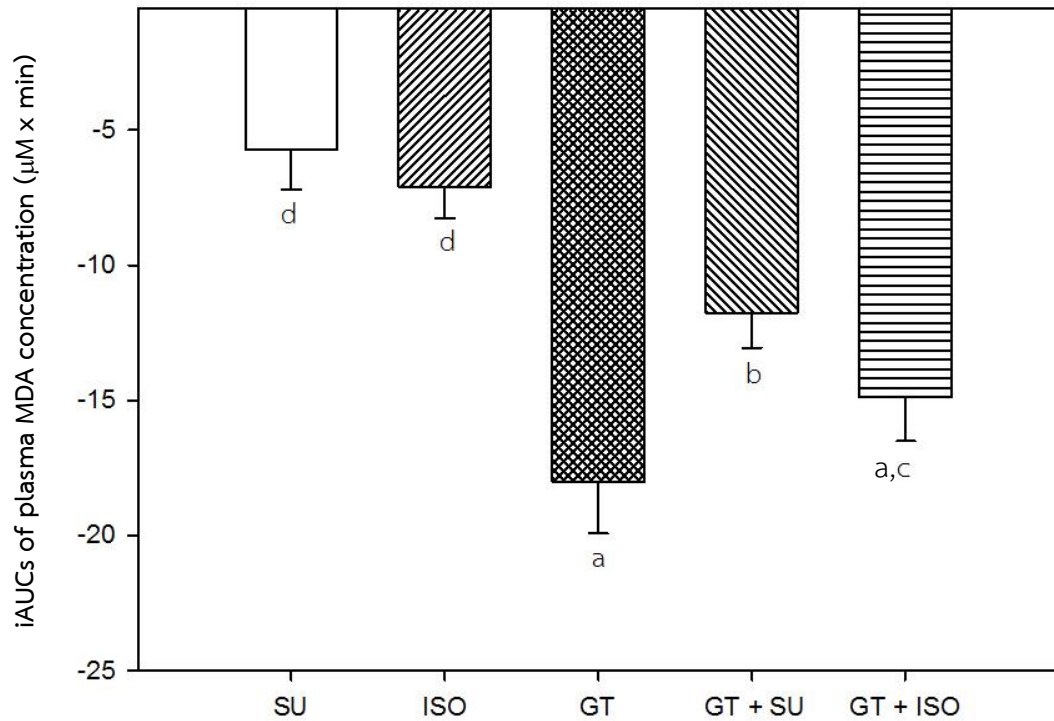
Time (min)	The incremental postprandial plasma MDA concentrations ( $\mu\text{M}$ )				
	SU	ISO	GT	GT+SU	GT+ISO
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
15	-0.061 $\pm$ 0.021*	-0.010 $\pm$ 0.035	-0.122 $\pm$ 0.028**	-0.065 $\pm$ 0.021*	-0.121 $\pm$ 0.018**
30	-0.031 $\pm$ 0.042	-0.040 $\pm$ 0.029	-0.130 $\pm$ 0.019**	-0.057 $\pm$ 0.010**	-0.101 $\pm$ 0.021**
45	-0.075 $\pm$ 0.016**	-0.043 $\pm$ 0.061	-0.166 $\pm$ 0.027**	-0.091 $\pm$ 0.012**	-0.115 $\pm$ 0.019**
60	-0.032 $\pm$ 0.028	-0.063 $\pm$ 0.023*	-0.122 $\pm$ 0.027**	-0.108 $\pm$ 0.021**	-0.122 $\pm$ 0.017**
90	-0.062 $\pm$ 0.020*	-0.084 $\pm$ 0.019*	-0.142 $\pm$ 0.033**	-0.129 $\pm$ 0.021**	-0.150 $\pm$ 0.015**
120	-0.043 $\pm$ 0.028	-0.090 $\pm$ 0.023*	-0.172 $\pm$ 0.054**	-0.153 $\pm$ 0.019**	-0.172 $\pm$ 0.025**

Data are expressed as mean  $\pm$  SEM, n=15. \* $P < 0.05$  or \*\* $P < 0.001$  compared to baseline (0 min) within test group in each time points.

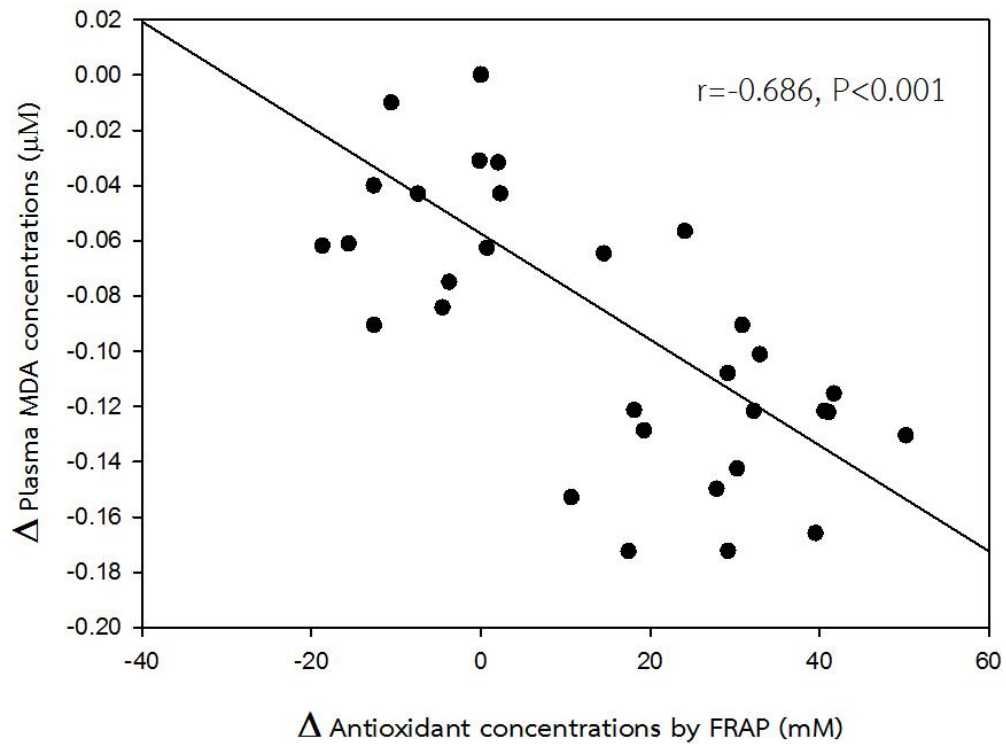


**Figure 28** The incremental postprandial plasma MDA concentration ( $\mu\text{M}$ ) after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). The highest reduction of plasma MDA concentration in sucrose, isomaltulose, green tea, sucrose in green tea and isomaltulose were  $-0.075 \pm 0.016$ ,  $-0.090 \pm 0.023$ ,  $-0.208 \pm 0.004$ ,  $-0.153 \pm 0.019$  and  $-0.172 \pm 0.018 \mu\text{M}$ , respectively. There was no significant test  $\times$  time interaction effect ( $P=0.271$ ) for postprandial plasma MDA concentration, but a significant treatment main effect ( $P<0.001$ ), followed by LSD post hoc test. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM,  $n=15$ . <sup>a,b,c</sup> Values not sharing the same superscript are significantly different between test groups ( $P < 0.05$ ).





**Figure 29** The incremental area under the curves (iAUCs) of plasma MDA concentration in 2-hr periods after beverages consumption of sucrose (SU), isomaltulose (ISO), green tea (GT), green tea plus sucrose (GT+SU) and green tea plus isomaltulose (GT+ISO). Data are expressed as mean  $\pm$  SEM,  $n=15$ . <sup>a,b,c,d</sup> Values not sharing the same superscript are significantly different between test groups ( $P < 0.05$ ).



**Figure 30** Correlation between the incremental postprandial plasma antioxidant concentration ( $\mu\text{M}$ ) and the incremental postprandial plasma MDA concentration ( $\mu\text{M}$ ) after beverages consumption. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM,  $n=15$ ,  $r = 0.687$  and  $P<0.001$ .

### **PART III INHIBITION OF $\alpha$ -GLUCOSIDASE ACTIVITY BY GREEN TEA EXTRACT**

#### **3.1 The total polyphenols in green tea extract**

As shown in Table 7, total polyphenols of green tea extract were  $246.44 \pm 1.64$  mg gallic acid equivalents/g dried extract. Total phenolic contents were calculated using the calibration curve of gallic acid concentrations on Folin-Ciocalteu method (Figure 16).

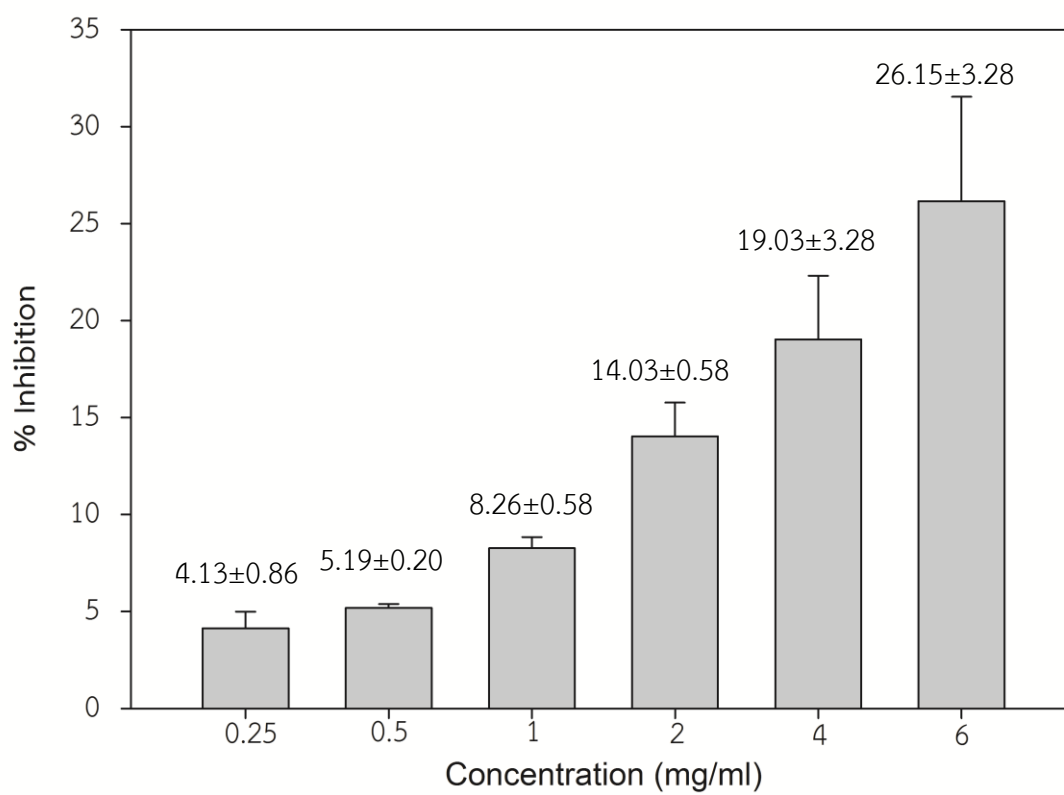
**Table 12** The phytochemical analysis of green tea

	Green tea extract (mg gallic acid equivalents/g dried extract)
Total polyphenols	$246.44 \pm 1.64$

Data are expressed mean  $\pm$  S.E.M; Green tea extract (n=3)

#### **3.2 The intestinal $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of green tea**

The green tea extract was determined for intestinal  $\alpha$ -glucosidase (isomaltase) inhibitory activity. Total polyphenols in green tea extract was  $246.44 \pm 1.64$  mg gallic acid equivalents/g dried extract. In the assay solution, the specific activity of isomaltase enzyme was  $0.021 \pm 0.003$  units/mg protein. The percentage intestinal isomaltase inhibition of green tea at various concentrations is shown in Figure 29. The green tea extract of each concentration at 0.25, 0.5, 1, 2, 4 and 6 mg/ml inhibited intestinal isomaltase by  $4.13 \pm 0.86$ ,  $5.19 \pm 0.20$ ,  $8.26 \pm 0.58$ ,  $14.03 \pm 1.74$ ,  $19.03 \pm 3.28$  and  $26.15 \pm 3.28$  %, respectively.



**Figure 31** The percentage enzyme inhibition of isomaltase activity by green tea extract. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM, n=3.

## CHAPTER V

### DISCUSSION

Sugary beverage contained high amount of adding sugar which leading to low satiety and potential incomplete compensation for total energy result in the elevation of energy intake (Malik et al., 2010). Long-term consumption of sugary beverage related to triglyceride accumulation, visceral fat, and body weight that were a risk of development of metabolic syndrome (Grimes et al., 2013; Grundy et al., 2004; Stanhope et al., 2009). The randomized clinical trial reported that sugary beverages, sucrose (to 28% of total energy), increased body weight and fat mass after 10 weeks (Raben et al., 2002). Moreover, the consumption of sugary beverages (providing 25% of energy requirements) for 10 weeks increased the level of triglyceride and the accumulation of visceral fat (Stanhope et al., 2009). Some studies also concluded that sugary beverages may play a role in the elevation of obesity risk and the epidemic of obesity (Bray et al., 2004; Grimes et al., 2013; Hu F. B. and Malik, 2010). In addition, sugary beverages contained high level of dietary glycemic load (GL) which lead to inflammation, insulin resistance, and impaired  $\beta$ -cell function (Malik et al., 2006; Schulze et al., 2004). A meta-analysis study reported that in individuals the highest quantile of sugary beverage (most often 1–2 servings/day) had a 26% greater risk of developing type 2 diabetes than those in the lowest quantile (none or <1 serving/month) (Malik et al., 2010). Isomaltulose, a natural occurring disaccharide, has been interested in replacing sweeteners in beverage because of slow digestion and absorption rate (Dahlqvist et al., 1963; Kawai et al., 1985).

### *Postprandial plasma glucose concentration*

The results showed that postprandial plasma glucose concentration was decreased when replacing sucrose by isomaltulose (Palatinose<sup>®</sup>) which was consistent with previous studies. For example, consumption of palatinose-based liquid diet in healthy men reduced their postprandial plasma glucose compared to control liquid diet containing dextrin and sucrose (Arai et al., 2007). In addition, consumption of 140 g cookies and 250 mL drink containing in a total of 50 g Palatinose<sup>®</sup> in overweight subjects was considerably lowered the postprandial plasma glucose than consumption of sucrose (Konig et al., 2012). The possible mechanism of isomaltulose on the reduction of postprandial blood glucose concentration may be due to its slow rate of digestion and absorption. Dahlqvist A et al (1963) reported that the digestion rate of isomaltulose by the homogenate of human intestinal mucosa was one-fourth that of sucrose (Dahlqvist et al., 1963). In addition, the absorption rate of isomaltulose was also found to be slower than that of sucrose (Kawai et al., 1985). Accordingly, this mechanism may lead to decrease postprandial plasma glucose concentration.

In term of green tea, it contained high amount of phenolic compounds, especially flavonoids and catechins; mainly in epigallocatechin-3-gallate (EGCG) (Chacko et al., 2010). Previous *in vitro studies* that polyphenols can inhibit intestinal glucose transports SGLT-1 and GLUT-2 in Caco-2 intestinal cell (Farrell et al., 2013; Kwon et al., 2007; Shimizu et al., 2000), and inhibit alpha-glucosidase (Koh et al., 2010). These inhibitory activities of polyphenols may lead to decreasing on the digestion of disaccharide and absorption of monosaccharide, and consequently lowering postprandial plasma glucose concentration. The present study also showed the consumption of green tea together with sucrose led to reduce postprandial plasma glucose when compared with sucrose.

Furthermore, consumption of green tea beverage together with isomaltulose showed greater reduction of postprandial plasma glucose compared to consumption of isomaltulose alone. This result was confirmed in *our vitro study* that found green tea could be inhibit isomaltase (enzyme for isomaltulose digestion) activity that examined by intestinal  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity assay, which may result in delaying digestion of isomaltulose.

Nevertheless, the replacing of sucrose by isomaltulose in green tea beverage reduced postprandial plasma glucose concentration more than consumption of sucrose with green tea that was the effect of the combinations effect of isomaltulose and green tea. The possible mechanism may be resulted from the slow digestion and absorption rate of isomaltulose. Moreover, isomaltulose was inhibited digestion enzyme by green tea. Thus, consumption of green tea together with isomaltulose enhanced the reduction of postprandial plasma glucose concentration. Therefore, consumption of isomaltulose with green tea beverage can decrease glucose concentration in blood. In long term consumption of isomaltulose with green tea may decrease risk of obesity and metabolic syndrome when compared with other sugary beverage. In addition, it may be helpful in postprandial hyperglycemia management that was an important contributor to the development of insulin resistance and type 2 diabetes (Ludwig, 2002).

### ***Postprandial plasma insulin concentration***

The result showed that the reduction of the postprandial plasma insulin concentration in isomaltulose compared to sucrose. König D et al (2012) found also consumption of 50 g isomaltulose in breakfast decreased postprandial insulin concentration when compared with consumption of 50 g sucrose (König et al., 2012). Previous studies of artificial sweeteners also showed the depletion of postprandial plasma insulin compared to sucrose (Anton et al., 2010; Ma et al., 2009). This result

was suggested that plasma glucose stimulated insulin secretion, leading to increased insulin concentration in blood (Straub and Sharp, 2002) that the result showed plasma glucose concentration was positively correlated with plasma insulin concentration. Consumption of isomaltulose reduced plasma glucose concentration when compared with sucrose. Thus, plasma insulin concentration in isomaltulose group was lower than sucrose group.

In addition, the result found that consumption of sucrose together with green tea beverage decreased plasma insulin concentration compared to consumption of sucrose alone as the previous study (Bryans et al., 2007). In the same way, consumption of isomaltulose together with green tea beverage showed greater reduction of plasma insulin concentration compared to isomaltulose alone. These results was suggested that plasma glucose induced insulin secretion, and then increased insulin concentration in blood for facilitating glucose entry into cells (Straub and Sharp, 2002). Consumption of green tea with sweeteners reduced postprandial plasma glucose when compared with consumption of sweeteners alone, leading to reduction of insulin concentration in blood vessel. Although the previous studies showed polyphenols in green tea can enhance insulin secretion of pancreatic  $\beta$ -cell (Hii and Howell, 1984, 1985), this result did not found increasing of insulin after consumption of green tea with sweeteners, compared with consumption of sweeteners alone. In contrast, the result found that increasing of plasma insulin concentration was consistent with increasing of plasma glucose concentration.

Furthermore, consumption of isomaltulose with green tea was higher reduction of plasma insulin concentration than consumption of sucrose with green tea. This result explained as correlation of plasma glucose concentration and insulin secretion. Plasma glucose concentration of isomaltulose with green tea group was lower than sucrose with green tea group, leading to lowering of plasma insulin



concentration in consumption of isomaltulose with green tea. Therefore, consumption of isomaltulose with green tea beverage can help to control blood sugar and insulin concentration that in long term consumption of isomaltulose with green tea may decrease risk of obesity and metabolic syndrome.

### ***Postprandial plasma antioxidant concentration***

Antioxidants protect against free radicals that it important for preserving good health. Imbalanced of free radicals adversely alter lipids, proteins, and DNA, leading to development of pathogenesis in several human diseases (Lobo et al., 2010). A balance between antioxidants and free radicals is necessary for proper function and physiological systems. Consumption of antioxidant from diet has been implicated as a possible to prevent or reduce the development of cancer, diabetes, hypertension and cardiovascular disease (Pandey and Rizvi, 2009). The FRAP assay is widely used to examined antioxidants capacity on electron donation by reducing Ferric ( $\text{Fe}^{3+}$ ) to Ferrous ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (Benzie and Strain, 1996). Green tea polyphenols have been shown to act as antioxidants, including *iron*-chelating capacities (Forester and Lambert, 2011; Srichairatanakool et al., 2006).

The results showed that consumption of green tea increased plasma antioxidant concentration (FRAP) which was consistent with previous studies (Benzie et al., 1999; Leenen et al., 2000; Pecorari et al., 2010). Frei and Higdon (2003) supported that green tea contain rich polyphenols, especially flavonoids (e.g. catechins) that has shown to anti-oxidative activities by scavenging reactive oxygen and nitrogen species and chelating redox-active transition metal ions, leading to increasing of antioxidants status in the body (Frei and Higdon, 2003).

Furthermore, this study was the first investigation for the consumption effect of adding sweetener in green tea beverage on antioxidant capacity. The result found that consumption of green tea together with sucrose were significantly decreased

antioxidant status (FRAP) when compared with consumption of green tea alone, but there was no significant difference of antioxidant status between green tea plus isomaltulose and green tea alone. In contrast, consumption of green tea together with isomaltulose markedly improved the depletion in total antioxidant status of green tea with sucrose. The underlying mechanism how refined sugar attenuates the antioxidant capacity of green tea that found in this study remains unclear. It is postulated that polyphenols and flavonoids in green tea may compete with glucose for the absorption at the same transporter (sodium-dependent glucose transporters, SGLT1) (Walgren et al., 2000). Thus, high glucose concentration in small intestine may interrupt polyphenols (flavonoids) absorption, leading to decreasing of antioxidant capacity of green tea. Sucrose was digested into high amount glucose and fructose, so consumption of sucrose was high interruption of polyphenols (flavonoids) absorption. As a result, consumption of sucrose with green tea beverage significantly decreased antioxidant status when compared with consumption of green tea alone. On the other hand, replacing sucrose by isomaltulose may result in the reduction of glucose absorption as a consequence the competitive absorption between glucose and polyphenols may also decline. This could be probably explained the improvement of depleting antioxidant status when sucrose was replaced with isomaltulose in green tea. Therefore, replacing of sucrose by isomaltulose in green tea beverage was significantly increased antioxidant status. Our finding suggested that consumption of green tea with isomaltulose may help to preserve antioxidant capacity of green tea that consumption of green tea with isomaltulose may reduce protein oxidation, DNA damage, and lipid peroxidation more than consumption of green tea with sucrose.

### *Postprandial plasma MDA concentration*

Lipid peroxidation is a process generated naturally in the body which several reactive oxygen species such as free radicals, hydroxyl radical and hydrogen peroxide attack lipids containing carbon-carbon double bond(s), particularly polyunsaturated fatty acids (PUFAs) (Mylonas and Kouretas, 1999). Lipid peroxidation is assessed indirectly by secondary product measurement, especially malondialdehyde (MDA) which widely used to indicate the occurrence of lipid peroxidation (Moselhy et al., 2013). In addition, MDA were used as plasma markers of free radicals. Plasma MDA can increase from naturally occurring product in the body and consumption of butter, margarine, oil and meat (Mylonas and Kouretas, 1999; Uribarri et al., 2010). The accumulations of MDA in human plasma can modified low-density lipoprotein (LDL) that is one of the main initiators of atherogenesis (Ishigaki et al., 2008; Libby et al., 2011).

The result found that plasma MDA concentration decreased from baseline values in all groups. This result explained about plasma MDA can excrete by kidney that the elimination half-life of MDA in plasma was 13 hours (Brunmark et al., 1995), leading to decreasing of plasma MDA concentration. In addition, the result showed that consumption of green tea (total polyphenols approximately 480 mg gallic acid equivalents) was the greatest reduction of plasma MDA. Several studies found that antioxidant properties of polyphenols can decrease MDA (Gorelik et al., 2008; Netzel et al., 2007; Sirota et al., 2013; Torabian et al., 2009). For example, Sirota R et al (2013) found that consumption of 200 mL roasted coffee (total polyphenols approximately 500 mg gallic acid equivalents) by healthy volunteers during a meal of red-meat cutlets decreased accumulation of MDA in plasma (Sirota et al., 2013). Netzel M et al (2007) found that consumption of beverage (total polyphenols approximately 780 mg gallic acid equivalents) was significantly reduced of urinary

MDA approximately 26%, compared with control (Netzel et al., 2007). These results were suggested that polyphenols act as antioxidant properties by mechanisms that reduced the generation of superoxide anions, hydroxyl radicals and lipid peroxyl radicals (Chen et al., 1990; Husain et al., 1987; Torel et al., 1986). The reduction of those free radicals can decrease lipid peroxidation, leading to decreasing of MDA formation (Mylonas and Kouretas, 1999). However, the reduction of plasma MDA in this study was unclear the mechanism that may result from reduction of MDA formation or increasing MDA excretion.

Furthermore, consumption of green tea together with sucrose significantly decreased reduction of plasma MDA compared to consumption of green tea alone, whereas consumption of green tea together with isomaltulose produced a greater reduction of plasma MDA than green tea with sucrose. These results were explained by correlation between antioxidant capacity of polyphenols in green tea and plasma MDA that consumption of sucrose may decrease polyphenols absorption more than isomaltulose, leading to decreased reduction of plasma MDA concentration. Thus, our finding suggest that consumption of green tea with isomaltulose decreased accumulation of MDA in plasma more than consumption of green tea with sucrose, so consumption of isomaltulose in green tea has effective in reducing the atherosclerosis risk more than that of sucrose.

## CHAPTER VI

### CONCLUSION

This study demonstrated that green tea can suppress postprandial plasma glucose and insulin concentration after consumption with sucrose. Moreover, the replacing sucrose by isomaltulose in green tea beverage showed a higher reduction of postprandial plasma glucose and insulin concentration. In addition, the consumption of green tea increased plasma antioxidant capacity (FRAP) and decreased plasma MDA concentration, whereas they were found to decrease when drinking green tea together with sucrose. Interestingly, drinking green tea together with isomaltulose preserved antioxidant capacities of green tea, when used for sucrose substituting in green tea beverage. Therefore, the replacing sucrose by isomaltulose in green tea beverage improves postprandial plasma glucose, insulin and antioxidant capacity. This study suggested that isomaltulose may be one alternative sweetener for beverage manufacturers worldwide in response to perceived consumers demand.

## REFERENCES

- Afaghi, A., Ziaee, A. , and Afaghi, M. Effect of low-glycemic load diet on changes in cardiovascular risk factors in poorly controlled diabetic patients. Indian journal of endocrinology and metabolism 16 (2012): 991-995.
- Anton, S. D., et al. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. Appetite 55 (2010): 37-43.
- Arai, H., et al. Effects of a palatinose-based liquid diet (Inslow) on glycemic control and the second-meal effect in healthy men. Metabolism: clinical and experimental 56 (2007): 115-121.
- Atkinson, F. S., Foster-Powell, K. , and Brand-Miller, J. C. International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. Diabetes care 31 (2008): 2281-2283.
- Balagopal, P. Obesity-related cardiovascular risk in children and the role of lifestyle changes. Journal of the cardiometabolic syndrome 1 (2006): 269-274; quiz 275-266.
- Benzie, I. F. , and Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry 239 (1996): 70-76.
- Benzie, I. F., Szeto, Y. T., Strain, J. J. , and Tomlinson, B. Consumption of green tea causes rapid increase in plasma antioxidant power in humans. Nutrition and cancer 34 (1999): 83-87.
- Bray, G. A., Nielsen, S. J. , and Popkin, B. M. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. The American journal of clinical nutrition 79 (2004): 537-543.
- Bremer, A. A. , and Lustig, R. H. Effects of sugar-sweetened beverages on children. Pediatric annals 41 (2012): 26-30.

- Brunmark, P., Bruze, M., Skerfving, S. , and Skarping, G. Biomonitoring of 4,4'-methylene dianiline by measurement in hydrolysed urine and plasma after epicutaneous exposure in humans. International archives of occupational and environmental health 67 (1995): 95-100.
- Brunner, S., et al. Metabolic effects of replacing sucrose by isomaltulose in subjects with type 2 diabetes: a randomized double-blind trial. Diabetes care 35 (2012): 1249-1251.
- Bryans, J. A., Judd, P. A. , and Ellis, P. R. The effect of consuming instant black tea on postprandial plasma glucose and insulin concentrations in healthy humans. Journal of the American College of Nutrition 26 (2007): 471-477.
- Chacko, S. M., Thambi, P. T., Kuttan, R. , and Nishigaki, I. Beneficial effects of green tea: a literature review. Chinese medicine 5 (2010): 13.
- Chen, Y. T., Zheng, R. L., Jia, Z. J. , and Ju, Y. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. Free radical biology & medicine 9 (1990): 19-21.
- Cheng, M. W., et al. Different sucrose-isomaltase response of Caco-2 cells to glucose and maltose suggests dietary maltose sensing. Journal of clinical biochemistry and nutrition 54 (2014): 55-60.
- D Sushil, A Hui-Mei Lin, B. R. Hamaker, M. J. Gidley, A. Muniandy. Mammalian Mucosal  $\alpha$ -Glucosidases Coordinate with  $\alpha$ -Amylase in the Initial Starch Hydrolysis Stage to Have a Role in Starch Digestion beyond Glucogenesis. . PLOS ONE 4 (2013): 1-13.
- da Silva Pinto, M., Kwon, Y. I., Apostolidis, E., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. , and Shetty, K. Functionality of bioactive compounds in Brazilian strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivars: evaluation of hyperglycemia and hypertension potential using in vitro models. Journal of agricultural and food chemistry 56 (2008): 4386-4392.
- Dahlqvist, A., Auricchio, S., Semenza, G. , and Prader, A. Human intestinal disaccharidases and hereditary disaccharide intolerance. The hydrolysis of sucrose, isomaltose, palatinose (isomaltulose), and a 1,6- $\alpha$ -oligosaccharide (isomalto-oligosaccharide) preparation. Journal of Clinical Investigation 42 (1963): 556-562.

- Dehghan, M., Akhtar-Danesh, N. , and Merchant, A. T. Childhood obesity, prevalence and prevention. Nutrition journal 4 (2005): 24.
- Dona, M., et al. Neutrophil restraint by green tea: inhibition of inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950) 170 (2003): 4335-4341.
- Dye, L., et al. Manipulation of glycemic response with isomaltulose in a milk-based drink does not affect cognitive performance in healthy adults. Molecular nutrition & food research 54 (2010): 506-515.
- Ebbeling, C. B., Leidig, M. M., Sinclair, K. B., Seger-Shippe, L. G., Feldman, H. A. , and Ludwig, D. S. Effects of an ad libitum low-glycemic load diet on cardiovascular disease risk factors in obese young adults. The American journal of clinical nutrition 81 (2005): 976-982.
- Emanuela, F., Grazia, M., Marco de, R., Maria Paola, L., Giorgio, F. , and Marco, B. Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome. Journal of nutrition and metabolism 2012 (2012): 476380.
- Fan, J., Song, Y., Wang, Y., Hui, R. , and Zhang, W. Dietary glycemic index, glycemic load, and risk of coronary heart disease, stroke, and stroke mortality: a systematic review with meta-analysis. PloS one 7 (2012): e52182.
- Farrell, T. L., Ellam, S. L., Forrelli, T. , and Williamson, G. Attenuation of glucose transport across Caco-2 cell monolayers by a polyphenol-rich herbal extract: interactions with SGLT1 and GLUT2 transporters. BioFactors (Oxford, England) 39 (2013): 448-456.
- Forester, S.C. , and Lambert, J.D. Antioxidant effects of green tea. Mol Nutr Food Res. 55 (2011): 844-854.
- Freedman, N. D., Park, Y., Abnet, C. C., Hollenbeck, A. R. , and Sinha, R. Association of coffee drinking with total and cause-specific mortality. The New England journal of medicine 366 (2012): 1891-1904.
- Frei, B. , and Higdon, J. V. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. The Journal of nutrition 133 (2003): 3275S-3284S.



- Gawel, S., Wardas, M., Niedworok, E. , and Wardas, P. [Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker]. Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960) 57 (2004): 453-455.
- Gorelik, S., Ligumsky, M., Kohen, R. , and Kanner, J. A novel function of red wine polyphenols in humans: prevention of absorption of cytotoxic lipid peroxidation products. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 22 (2008): 41-46.
- Griffiths, R. R., Bigelow, G. E. , and Liebson, I. A. Reinforcing effects of caffeine in coffee and capsules. Journal of the experimental analysis of behavior 52 (1989): 127-140.
- Grimes, C. A., Riddell, L. J., Campbell, K. J. , and Nowson, C. A. Dietary salt intake, sugar-sweetened beverage consumption, and obesity risk. Pediatrics 131 (2013): 14-21.
- Gropper, S.S. , Smith, J.L. , and Groff, J.L. The digestive system: Mechanism for nourishing the body Advanced Nutrition and Human Metabolism (4th ed), pp. 24-53. Belmont, CA: Thomson Wadsworth, 2004.
- Grundy, S. M., Brewer, H. B., Jr., Cleeman, J. I., Smith, S. C., Jr. , and Lenfant, C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. Circulation 109 (2004): 433-438.
- Halliwell, B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. British journal of experimental pathology 70 (1989): 737-757.
- Halliwell, B. How to characterize an antioxidant: an update. Biochemical Society symposium 61 (1995): 73-101.
- Hamada, S. Role of sweeteners in the etiology and prevention of dental caries. Pure and Applied Chemistry 74 (2002): 1293-1300.
- Hans-Dieter Belitz, Werner Grosch, Peter Schieberle. Sugars, Sugar Alcohols and Honey. Library of Congress Cataloging: Springer, 2009.
- Hii, C. S. , and Howell, S. L. Effects of epicatechin on rat islets of Langerhans. Diabetes 33 (1984): 291-296.

- Hii, C. S. , and Howell, S. L. Effects of flavonoids on insulin secretion and  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  handling in rat islets of Langerhans. The Journal of endocrinology 107 (1985): 1-8.
- Holub, I., et al. Novel findings on the metabolic effects of the low glycaemic carbohydrate isomaltulose (Palatinose). The British journal of nutrition 103 (2010): 1730-1737.
- Hu, F. B. , and Malik, V. S. Sugar-sweetened beverages and risk of obesity and type 2 diabetes: epidemiologic evidence. Physiology & behavior 100 (2010): 47-54.
- Hu, Y., Block, G., Sternfeld, B. , and Sowers, M. Dietary glycemic load, glycemic index, and associated factors in a multiethnic cohort of midlife women. Journal of the American College of Nutrition 28 (2009): 636-647.
- Husain, S.R., Cillard, J. , and Cillard, P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. Phytochemistry 26 (1987): 2488-2491.
- Hybertson, B. M., Gao, B., Bose, S. K. , and McCord, J. M. Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. Molecular aspects of medicine 32 (2011): 234-246.
- Ishigaki, Y., et al. Impact of plasma oxidized low-density lipoprotein removal on atherosclerosis. Circulation 118 (2008): 75-83.
- Jairam, V., Uchida, K. , and Narayanaswami, V. Pathophysiology of Lipoprotein Oxidation Lipoproteins - Role in Health and Diseases, pp. 953-978. Croatia: InTech, 2012.
- Kaiser, K. A., Shikany, J. M., Keating, K. D. , and Allison, D. B. Will reducing sugar-sweetened beverage consumption reduce obesity? Evidence supporting conjecture is strong, but evidence when testing effect is weak. Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity 14 (2013): 620-633.
- Kansagara D., Wolf F. , and Freeman M. Management of Inpatient Hyperglycemia: A Systematic Review. Washington (DC): Department of Veterans Affairs (US), 2008.
- Kashimura, J., Nagai, Y. , and Goda, T. Inhibitory action of palatinose and its hydrogenated derivatives on the hydrolysis of alpha-glucosylsaccharides in

- the small intestine. Journal of agricultural and food chemistry 56 (2008): 5892-5895.
- Kavanagh, K. T., et al. Green tea extracts decrease carcinogen-induced mammary tumor burden in rats and rate of breast cancer cell proliferation in culture. Journal of cellular biochemistry 82 (2001): 387-398.
- Kawai, K., Okuda, Y. , and Yamashita, K. Changes in blood glucose and insulin after an oral palatinose administration in normal subjects. Endocrinologia japonica 32 (1985): 933-936.
- Khan, N. , and Mukhtar, H. Tea polyphenols for health promotion. Life sciences 81 (2007): 519-533.
- Khokhar, S. , and Magnusdottir, S. G. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United kingdom. Journal of agricultural and food chemistry 50 (2002): 565-570.
- Koh, L. W., Wong, L. L., Loo, Y. Y., Kasapis, S. , and Huang, D. Evaluation of different teas against starch digestibility by mammalian glycosidases. Journal of agricultural and food chemistry 58 (2010): 148-154.
- Konig, D., Theis, S., Kozianowski, G. , and Berg, A. Postprandial substrate use in overweight subjects with the metabolic syndrome after isomaltulose (Palatinose) ingestion. Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.) 28 (2012): 651-656.
- Kwon, O., et al. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology 21 (2007): 366-377.
- Lebenthal, E. Role of salivary amylase in gastric and intestinal digestion of starch. Digestive diseases and sciences 32 (1987): 1155-1157.
- Leenen, R., Roodenburg, A. J., Tijburg, L. B. , and Wiseman, S. A. A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans. European journal of clinical nutrition 54 (2000): 87-92.
- Levine, M., Rumsey, S. C., Daruwala, R., Park, J. B. , and Wang, Y. Criteria and recommendations for vitamin C intake. The Journal of the American Medical Association 281 (1999): 1415-1423.

- Libby, P., Ridker, P. M. , and Hansson, G. K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. Nature 473 (2011): 317-325.
- Lin, Y. S., Tsai, Y. J., Tsay, J. S. , and Lin, J. K. Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. Journal of agricultural and food chemistry 51 (2003): 1864-1873.
- Lina, B. A., Jonker, D. , and Kozianowski, G. Isomaltulose (Palatinose): a review of biological and toxicological studies. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association 40 (2002): 1375-1381.
- Liu, S., et al. Dietary glycemic load assessed by food-frequency questionnaire in relation to plasma high-density-lipoprotein cholesterol and fasting plasma triacylglycerols in postmenopausal women. The American journal of clinical nutrition 73 (2001): 560-566.
- Liu, S., et al. A prospective study of dietary glycemic load, carbohydrate intake, and risk of coronary heart disease in US women. The American journal of clinical nutrition 71 (2000): 1455-1461.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. , and Chandra, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy reviews 4 (2010): 118-126.
- Ludwig, D. S. The glycemic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. Jama 287 (2002): 2414-2423.
- Ma, J., et al. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on gastric emptying and incretin hormone release in healthy subjects. American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology 296 (2009): G735-739.
- Malik, V. S., Popkin, B. M., Bray, G. A., Despres, J. P. , and Hu, F. B. Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease risk. Circulation 121 (2010): 1356-1364.
- Malik, V. S., Popkin, B. M., Bray, G. A., Despres, J. P., Willett, W. C. , and Hu, F. B. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. Diabetes care 33 (2010): 2477-2483.

- Malik, V. S., Schulze, M. B. , and Hu, F. B. Intake of sugar-sweetened beverages and weight gain: a systematic review. The American journal of clinical nutrition 84 (2006): 274-288.
- McKay, D. L. , and Blumberg, J. B. The role of tea in human health: an update. Journal of the American College of Nutrition 21 (2002): 1-13.
- Michael J. , and Fowler M.D. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. Clinical Diabetes 26 (2008).
- Moselhy, H. F., Reid, R. G., Yousef, S. , and Boyle, S. P. A specific, accurate, and sensitive measure of total plasma malondialdehyde by HPLC. Journal of lipid research 54 (2013): 852-858.
- Muñoz Morón, U. , and Castilla-Cortázar, I. Protection Against Oxidative Stress and “IGF-I Deficiency Conditions” Antioxidant Enzyme, pp. 151-160. Croatia: InTech, 2012.
- Mylonas, C. , and Kouretas, D. Lipid peroxidation and tissue damage. In vivo (Athens, Greece) 13 (1999): 295-309.
- Negre-Salvayre, A., Coatrieux, C., Ingueneau, C. , and Salvayre, R. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. British journal of pharmacology 153 (2008): 6-20.
- Netzel, M. , Netzel, G. , Ott, U. , Bitsch, I. , Bitsch, R. , and Frank, T. . Biological antioxidant activity of a beverage containing polyphenols and ascorbic acid. Ernährung Nutrition 31 (2007): 102-109.
- Ng, S. W., Ni Mhurchu, C., Jebb, S. A. , and Popkin, B. M. Patterns and trends of beverage consumption among children and adults in Great Britain, 1986-2009. The British journal of nutrition 108 (2012): 536-551.
- Nutrient Data Laboratory, Food Composition Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center, Agricultural Research Service, and U.S. Department of Agriculture. USDA database for the flavonoid content of selected foods. [Online], 2013. Available from [2013, Aug 21]
- Okuno, M., Kim, M. K., Mizu, M., Mori, M., Mori, H. , and Yamori, Y. Palatinose-blended sugar compared with sucrose: different effects on insulin sensitivity after 12

- weeks supplementation in sedentary adults. International journal of food sciences and nutrition 61 (2010): 643-651.
- Osada, K., Takahashi, M., Hoshina, S., Nakamura, M., Nakamura, S. , and Sugano, M. Tea catechins inhibit cholesterol oxidation accompanying oxidation of low density lipoprotein in vitro. Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP 128 (2001): 153-164.
- Pandey, K. B. , and Rizvi, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative medicine and cellular longevity 2 (2009): 270-278.
- Pecorari, M., Villano, D., Testa, M. F., Schmid, M. , and Serafini, M. Biomarkers of antioxidant status following ingestion of green teas at different polyphenol concentrations and antioxidant capacity in human volunteers. Molecular nutrition & food research 54 Suppl 2 (2010): S278-283.
- Polyak, E., et al. Effects of artificial sweeteners on body weight, food and drink intake. Acta physiologica Hungarica 97 (2010): 401-407.
- Raben, A., Vasilaras, T. H., Moller, A. C. , and Astrup, A. Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. The American journal of clinical nutrition 76 (2002): 721-729.
- Raederstorff, D. G., Schlachter, M. F., Elste, V. , and Weber, P. Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. The Journal of nutritional biochemistry 14 (2003): 326-332.
- Reddy C.V.K., Sreeramulu D. , and Raghunath M. Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. Food Research International 43 (2010): 285-288.
- Rizkalla, S. W., et al. Improved plasma glucose control, whole-body glucose utilization, and lipid profile on a low-glycemic index diet in type 2 diabetic men: a randomized controlled trial. Diabetes care 27 (2004): 1866-1872.
- Salmeron, J., et al. Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. Diabetes care 20 (1997): 545-550.

- Schulze, M. B., Liu, S., Rimm, E. B., Manson, J. E., Willett, W. C. , and Hu, F. B. Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. The American journal of clinical nutrition 80 (2004): 348-356.
- Semenza, G., Auricchio, S. , and Mantei, N. The metabolic basis of inherited disease (8th ed). New York: McGraw-Hill, 2001.
- Serafini, M., Del Rio, D., Yao, D.N., Bettuzzi, S. , and Peluso, I. Chapter 12 Health Benefits of Tea. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd edition, pp. 1-35. Boca Raton (FL): CRC Press, 2011.
- Shi, H., Noguchi, N. , and Niki, E. Comparative study on dynamics of antioxidative action of alpha-tocopheryl hydroquinone, ubiquinol, and alpha-tocopherol against lipid peroxidation. Free radical biology & medicine 27 (1999): 334-346.
- Shimizu, M., Kobayashi, Y., Suzuki, M., Satsu, H. , and Miyamoto, Y. Regulation of intestinal glucose transport by tea catechins. BioFactors (Oxford, England) 13 (2000): 61-65.
- Siddiqui, I. R. , and Furgala, B. . Isolation and characterization of oligosaccharides from honey Part 1. Journal of Apicultural Research 6 (1967): 139-145.
- Sies, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Experimental physiology 82 (1997): 291-295.
- Sirota, R., Gorelik, S., Harris, R., Kohen, R. , and Kanner, J. Coffee polyphenols protect human plasma from postprandial carbonyl modifications. Molecular nutrition & food research 57 (2013): 916-919.
- Srichairatanakool, S., Ounjaijean, S., Thephinlap, C., Khansuwan, U., Phisalpong, C. , and Fucharoen, S. Iron-chelating and free-radical scavenging activities of microwave-processed green tea in iron overload. Hemoglobin 30 (2006): 311-327.
- Srour, M. A., Bילו, Y. Y. , and Juma, M. Evaluation of different methods used to measure malonyldialdehyde in human erythrocytes. Clinical hemorheology and microcirculation 23 (2000): 23-30.
- Stangl, V., Lorenz, M. , and Stangl, K. The role of tea and tea flavonoids in cardiovascular health. Molecular nutrition & food research 50 (2006): 218-228.

- Stanhope, K. L., et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. The Journal of clinical investigation 119 (2009): 1322-1334.
- Straub, S. G. , and Sharp, G. W. Glucose-stimulated signaling pathways in biphasic insulin secretion. Diabetes/metabolism research and reviews 18 (2002): 451-463.
- Sueoka, N., et al. A new function of green tea: prevention of lifestyle-related diseases. Annals of the New York Academy of Sciences 928 (2001): 274-280.
- Tandel, K. R. Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics 2 (2011): 236-243.
- Taylor, P. W., Hamilton-Miller, J. M. , and Stapleton, P. D. Antimicrobial properties of green tea catechins. Food science and technology bulletin 2 (2005): 71-81.
- Torabian, S., Haddad, E., Rajaram, S., Banta, J. , and Sabate, J. Acute effect of nut consumption on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and lipid peroxidation. Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association 22 (2009): 64-71.
- Torel, J., Cillard, J. , and Cillard, P. . Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. Phytochemistry 25 (1986): 383–387.
- Tsuneki, H., Ishizuka, M., Terasawa, M., Wu, J. B., Sasaoka, T. , and Kimura, I. Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. BMC pharmacology 4 (2004): 18.
- Uribarri, J., et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. Journal of the American Dietetic Association 110 (2010): 911-916 e912.
- Venn, B. J. , and Green, T. J. Glycemic index and glycemic load: measurement issues and their effect on diet-disease relationships. European journal of clinical nutrition 61 Suppl 1 (2007): S122-131.



- Walgren, R. A., Lin, J. T., Kinne, R. K. , and Walle, T. Cellular uptake of dietary flavonoid quercetin 4'-beta-glucoside by sodium-dependent glucose transporter SGLT1. J Pharmacol Exp Ther 294 (2000): 837-843.
- Wang, Y. , and Ho, C. T. Polyphenolic chemistry of tea and coffee: a century of progress. Journal of agricultural and food chemistry 57 (2009): 8109-8114.
- WHO. Fact sheet N°310; The top 10 causes of death. [Online], 2013. Available from: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>. [2013, Aug 9]
- WHO. Fact sheet N°311; Obesity and overweight. [Online], 2014. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. [2014, Jun 21]
- Wolever, T. M. Effect of blood sampling schedule and method of calculating the area under the curve on validity and precision of glycaemic index values. The British journal of nutrition 91 (2004): 295-301.
- Won, W. K. , and Richard, D. T. 2012 Outlook of the U.S. and World Sugar Markets, 2011-2021. Agribusiness & Applied Economics Report 692 (2012).
- Wright E.M., Hirayama B.A. , and Loo D.D.F. Intestinal sugar transport. Physiology of the Gastrointestinal Tract, 3rd ed. New York, Raven Press, 1994.
- Yang, Qing. Gain weight by “going diet?” Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings. Yale Journal of Biology and Medicine 83 (2010): 101-108.
- Yesudian, Patrick. Can Beverages Grow Hair on Bald Heads? Int J Trichology 4 (2012): 1-2.







## บันทึกข้อความ

ส่วนงาน ภาควิชาโภชนาการและการกำหนดอาหาร คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ที่ ศธ0512.2154/๕๒/2557 วันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2557

เรื่อง ขอแจ้งผลการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์และขอความเห็นชอบประกาศอนุมัติหัวข้อวิทยานิพนธ์

เรียน คณบดี ผ่านรองคณบดี (รศ.ดร.สิริชัย อติศักดิ์วัฒนา)

สิ่งที่แนบมา ผลการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ 1 ฉบับ

เนื่องจาก นายภาสกร สุระผัด รหัสประจำตัว 5576857037 นิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ (หลักสูตรนานาชาติ) ได้ทำการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์เรียบร้อยแล้ว จึงใคร่ขอแจ้งผลการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ดังกล่าวทั้งนี้เนื่องจากคณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์มีมติให้ปรับเปลี่ยนหัวข้อวิทยานิพนธ์ตามรายละเอียดดังนี้

### ชื่อหัวข้อวิทยานิพนธ์เดิม

**ชื่อภาษาไทย :** ผลกระทบของน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลูโลสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับน้ำตาลกลูโคสระดับอินซูลินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม ในคนสุขภาพดี

**ชื่อภาษาอังกฤษ :** EFFEGS OF ISOMALTULOSE IN GREEN TEA BEVERAGE ON POSTPRANDIAL GLUCOSE, INSULIN LEVEL, AND ANTIOXIDANT STATUS IN HEALTHY SUBJECTS

### ชื่อหัวข้อวิทยานิพนธ์ใหม่

**ชื่อภาษาไทย :** ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลูโลสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับน้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม ในคนสุขภาพดี

**ชื่อภาษาอังกฤษ :** EFFECTS OF REPLACING SUCROSE BY ISOMALTULOSE IN GREEN TEA BEVERAGE ON POSTPRANDIAL GLUCOSE, INSULIN LEVEL AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN HEALTHY SUBJECTS

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณาดำเนินการขออนุมัติเห็นชอบจากคณะกรรมการบริหารคณะด้วย  
จักเป็นพระคุณยิ่ง

*(Signature)*

รองศาสตราจารย์.ดร.สิริชัย อติศักดิ์วัฒนา  
(ประธานกรรมการบริหารหลักสูตรฯ)

One Stop Service	
เลขที่อ้างอิง	ภพ. 0091/57
ลงชื่อ	16-๕๕
วันเดือนปี	06 ก.พ. 2557

## ใบแจ้งผลสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์

ชื่อ นายภาสกร สุระผัด รหัสประจำตัว 5576857037


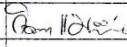
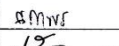
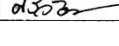
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ (นานาชาติ)

หัวข้อวิทยานิพนธ์ (ภาษาไทย) ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลูโลสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับน้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม ในคนสุขภาพดี

หัวข้อวิทยานิพนธ์ (ภาษาอังกฤษ) Effects of replacing sucrose by isomaltulose in green tea beverage on postprandial glucose, insulin level and antioxidant capacity in healthy subjects

จำนวนหน่วยกิตวิทยานิพนธ์ 12 หน่วยกิต

สอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ เมื่อวันที่ 29 มกราคม พ.ศ. 2557 โดยมีผลการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์เป็นดังนี้


ลำดับ	รายชื่อกรรมการ	ตำแหน่ง	ผ่าน	ไม่ผ่าน	กรรมการลงนาม
1	รองศาสตราจารย์ ดร. สิริชัย อติศักดิ์วัฒนา	ประธานกรรมการ	✓		
2	อาจารย์ ดร.กิตติมา แมคเค็น	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	✓		
3	อาจารย์ ดร. สถาพร งามอุโฆษ	กรรมการ	✓		
4	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์	กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย	✓		

ลงชื่อ.....ภาสกร สุระผัด.....

(นายภาสกร สุระผัด)

นิต

วันที่.....29 ม.ค. 57.....

ลงชื่อ..........

(รศ.ดร.สิริชัย อติศักดิ์วัฒนา )

ประธานคณะกรรมการบริหารหลักสูตรฯ

วันที่.....๒๙ มค ๕๗.....



คณะสหเวชศาสตร์  
งานบริการวิชาการและวิจัย  
เลขที่รับ ๕๙  
วันที่ ๒๓/๕๗ เวลา ๐๙.๐๐น.

๒๖๔ ๑ ๒๒

คณะสหเวชศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
เลขที่รับที่ ๖๒๙/๕๗  
วันที่ ๒๖.๕.๕๗ ๑๖.๕๗

**บันทึกข้อความ**

ส่วนงาน คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน กลุ่มสหสถาบัน ชุดที่ 1 โทร.0-2218-8147  
ที่ จว ๕๙/๕๗ วันที่ ๒๓ กุมภาพันธ์ ๒๕๕๗  
เรื่อง แจ้งผลผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย

เรียน คณบดีคณะสหเวชศาสตร์

สิ่งที่ส่งมาด้วย เอกสารแจ้งผ่านการรับรองผลการพิจารณา

ตามที่นิสิต/บุคลากรในสังกัดของท่านได้เสนอโครงการวิจัยเพื่อขอรับการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย กลุ่มสหสถาบัน ชุดที่ 1 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นั้น ในการนี้ กรรมการผู้ทบทวนหลักได้เห็นสมควรให้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยได้ ดังนี้

โครงการวิจัยที่ 135.1/56 เรื่อง ผลกระทบของน้ำตาลพาลาติโนสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลิน และสารต้านอนุมูลอิสระในคนสุขภาพดี (EFFECTS OF PALATINOSE IN GREEN TEA BASED DRINK ON GLUCOSE, INSULIN LEVEL AND ANTIOXIDANT IN HEALTHY SUBJECTS) ของ นายภาสกร สุระผัด

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ผศ. ชัยชนะวงศาโรจน์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทรี ชัยชนะวงศาโรจน์)

กรรมการและเลขานุการ

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน  
กลุ่มสหสถาบัน ชุดที่ 1 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ส.ศ. กนกย์

ชื่ออมู เป็นดาร์เรเตอร์อดเคย์ (ค.น.ด. ๒๕๕๗)

ชื่ออมู

วันที่  
๒๓.๕.๕๗

Ch 1

๒๓๕๕๗

มีน ฝ่ายบริหารวิเทศและวิจัย  
เพื่อปรึกษาและพิจารณา

วันที่ 4 มีค ๕๗



The Ethics Review Committee for Research Involving Human Research Subjects,  
Health Science Group, Chulalongkorn University  
Institute Building 2, 4 Floor, Soi Chulalongkorn 62, Phyat hai Rd., Bangkok 10330, Thailand,  
Tel: 0-2218-8147 Fax: 0-2218-8147 E-mail: [eccu@chula.ac.th](mailto:eccu@chula.ac.th)

COA No. 024/2014



## Certificate of Approval

**Study Title** No.135.1/56 : EFFECTS OF REPLACING SUCROSE BY ISOMALTULOSE IN GREEN TEA BEVERAGE ON POSTPRANDIAL GLUCOSE, INSULIN LEVEL AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN HEALTHY SUBJECTS

**Principal Investigator** : MR.PASSAKORN SURAPHAD

**Place of Proposed Study/Institution** : Faculty of Allied Health Sciences,  
Chulalongkorn University

The Ethics Review Committee for Research Involving Human Research Subjects, Health Science Group, Chulalongkorn University, Thailand, has approved constituted in accordance with the International Conference on Harmonization – Good Clinical Practice (ICH-GCP) and/or Code of Conduct in Animal Use of NRCT version 2000.

Signature:  Signature:   
(Associate Professor Prida Tasanapradit, M.D.) (Assistant Professor Dr. Nuntaree Chaichanawongsoj)  
Chairman Secretary

Date of Approval : 5 February 2014

Approval Expire date : 4 February 2015

### The approval documents including

- 1) Research proposal
- 2) Patient/Participant Information Sheet and Informed Consent Form
- 3) Researcher
- 4) Advertising leaflet



Protocol No. 135.1/56  
Date of Approval - 5 FEB 2014  
Approval Expire Date - 4 FEB 2015

### The approved investigator must comply with the following conditions:

1. The research/project activities must end on the approval expired date of the Ethics Review Committee for Research Involving Human Research Subjects, Health Science Group, Chulalongkorn University (ECCU). In case the research/project is unable to complete within that date, the project extension can be applied one month prior to the ECCU approval expired date.
2. Strictly conduct the research/project activities as written in the proposal.
3. Using only the documents that bearing the ECCU's seal of approval with the subjects/volunteers (including subject information sheet, consent form, invitation letter for project/research participation (if available)).
4. Report to the ECCU for any serious adverse events within 5 working days
5. Report to the ECCU for any change of the research/project activities prior to conduct the activities.
6. Final report (AF 03-12) and abstract is required for a one year (or less) research/project and report within 30 days after the completion of the research/project. For thesis, abstract is required and report within 30 days after the completion of the research/project.
7. Annual progress report is needed for a two- year (or more) research/project and submit the progress report before the expire date of certificate. After the completion of the research/project processes as No. 6.



ข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมการคัดกรองโครงการวิจัย  
(Participant Information Sheet)

**ชื่อโครงการวิจัย** ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับน้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม ในคนสุขภาพดี

**ชื่อผู้วิจัย** นายภาสกร สุระผัด

**ตำแหน่ง** นิสิตระดับปริญญาโท สาขาโภชนาการและการกำหนดอาหาร คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**สถานที่ติดต่อผู้วิจัย**  
(ที่ทำงาน) อาคารจุฬาพัฒน์ 3 คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 154 ซ.จุฬา 12 ถ.พระราม 1 แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330  
(ที่อยู่ปัจจุบัน) 234/36 หมู่บ้าน สินวงศ์ ซอย 2 ถนนสรณคัมภ์ แขวงสีกัน เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร 10210  
โทรศัพท์ 02-218-1099-106 โทรสาร 02-218-1099  
มือถือ 087-8234721 E-mail Address : tostimulus@hotmail.com

1. โครงการวิจัยนี้ เกี่ยวข้องกับ การบริโภคเครื่องดื่ม 5 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลไอโซมอลทูลอส ชาเขียว น้ำตาลซูโครสในเครื่องดื่มชาเขียว และน้ำตาลไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว ว่ามีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลิน และสารต้านอนุมูลอิสระ ในคนสุขภาพดี โดยมีวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย ได้แก่

- 1.1 เพื่อศึกษาผลของการบริโภคน้ำตาลไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว ต่อระดับน้ำตาล และระดับอินซูลินในเลือด เมื่อเปรียบเทียบกับการบริโภคน้ำตาลซูโครส น้ำตาลไอโซมอลทูลอส น้ำตาลซูโครสในเครื่องดื่มชาเขียว และเครื่องดื่มชาเขียว
- 1.2 เพื่อศึกษาผลของการบริโภคน้ำตาลไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว ต่อระดับสารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเปรียบเทียบกับการบริโภคน้ำตาลซูโครส น้ำตาลไอโซมอลทูลอส น้ำตาลซูโครสในเครื่องดื่มชาเขียว และเครื่องดื่มชาเขียว

2. โครงการวิจัยนี้เป็นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่

2.1 โครงการวิจัยในส่วนที่ 1 การทดสอบปริมาณโพสทีนอลในชาเขียว โดยไม่เกี่ยวข้องกับใดๆกับผู้เข้าร่วมวิจัย

2.2 โครงการวิจัยในส่วนที่ 2 เป็นการวิจัยเชิงทดลองโภชนาการทางคลินิก รูปแบบการศึกษาทดลองเป็นการศึกษาแบบไขว้ (cross-over study) โดยมีผู้เข้าร่วมงานวิจัยทั้งหมด 18 คน ซึ่งการทดลองจะแบ่งเป็นทั้งหมด 5 ครั้ง แต่ละครั้งจะแบ่งเป็น 5 กลุ่ม จำนวนกลุ่มละ 3 คน แต่ละกลุ่มจะได้เครื่องดื่มที่ต่างชนิดกันในการทดลองแต่ละครั้ง จนครบทั้ง 5 ชนิด และเก็บเลือดในแต่ละช่วงเวลา เพื่อวัดระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลิน และสารต้านอนุมูลอิสระ

3. วิธีการคัดกรองผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

ผู้วิจัยมีการประกาศรับผู้เข้าร่วมวิจัยผ่านทางช่องทางประชาสัมพันธ์ ประชาสัมพันธ์เพื่อรับสมัครคัดเลือกหาผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ซึ่งมีรายละเอียดคุณสมบัติเกณฑ์การคัดเลือกเบื้องต้น โดยมีการประกาศที่บริเวณคณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ที่สนใจเข้าร่วมโครงการวิจัย สามารถติดต่อผ่านทางโทรศัพท์มือถือผู้วิจัยได้ และผู้วิจัยจะแจ้งการเตรียมตัวสำหรับการนัดหมายเกี่ยวกับผู้เข้าร่วมการ



เลขที่โครงการวิจัย 135.1/56

วันที่รับรอง - 5 ก.พ. 2557

วันหมดอายุ - 4 ก.พ. 2558



คัดกรองต้องงดอาหารและน้ำก่อนการตรวจคัดกรอง 12 ชั่วโมง และพักผ่อนให้เพียงพอ รวมถึงนัดหมายสถานที่สำหรับทำการคัดกรอง โดยวัตถุประสงค์ในการนัดหมายครั้งนี้ เพื่ออธิบายถึงวัตถุประสงค์ ข้อมูลต่างๆของโครงการวิจัยอย่างครบถ้วนก่อนการตัดสินใจ รวมถึงวัดสัดส่วนร่างกายและเจาะเลือด เพื่อทำการคัดกรองผู้ที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์ที่กำหนดเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยมีรายละเอียดการดำเนินการดังนี้

เวลา	กิจกรรม
08.00 น.	ผู้เข้าร่วมการคัดกรองมาถึงจุดนัดพบ ที่อาคารจุฬาพัฒน์ 3 ชั้น 2 คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
08.15 น.	ผู้วิจัยอธิบายวัตถุประสงค์ สิ่งที่จะได้รับจากงานวิจัยนี้ และขั้นตอนสำหรับการคัดกรองผู้เข้าร่วมวิจัย
09.00 น.	<p>ผู้เข้าร่วมการคัดกรองรับเอกสารสำหรับการคัดกรอง และทำการประเมินต่างๆ</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- การวัดสัดส่วนร่างกายและวัดความดันโลหิต ประกอบด้วย <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง คัดค่าดัชนีมวลกาย</li> <li>2. วัดค่า %body fat โดยเครื่อง Bioelectrical Impedance Analysis (BIA)</li> <li>3. วัดเส้นรอบวงเอว (cm)</li> <li>4. วัดความดันโลหิต</li> </ol> </li> <li>- การตรวจผลเลือด (ส่งตรวจ) <p>พยาบาลจะทำการเจาะเลือด 1 ครั้ง ไม่เกิน 15 มิลลิลิตร หรือ ประมาณ 1 ซ้อนโต๊ะ เพื่อนำไปตรวจระดับน้ำตาลในเลือด ระดับไขมันในกระแสเลือด การทำงานของไต และการทำงานของตับ โดยการตรวจทางชีวเคมี ผู้วิจัยจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการตรวจเลือดในส่วนของการตรวจคัดกรองนี้</p> </li> <li>- หลังจากนั้นผู้เข้าร่วมคัดกรองรับของว่าง</li> </ul>
11.00 น.	อธิบายวิธีการแจ้งผลเลือด รวมถึงผลการคัดเลือกผู้เข้าร่วมวิจัย แจกเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัยให้ผู้เข้าร่วมคัดกรอง ซึ่งหากผู้เข้าร่วมการคัดกรองผ่านการคัดกรองได้เป็นผู้เข้าร่วมวิจัย จะได้รับรายละเอียดวิธีการวิจัย เพื่อให้เวลาผู้ผ่านการคัดกรองอ่านรายละเอียดและตัดสินใจในการเข้าร่วมงานวิจัย

#### การประเมินผลเพื่อคัดเลือกผู้เข้าร่วมงานวิจัย

##### เกณฑ์การคัดเลือก :

1. คนสุขภาพดี ทั้งเพศชายและเพศหญิง อายุระหว่าง 18-35 ปี ที่ไม่มีประวัติเป็นโรคและความผิดปกติเหล่านี้ ได้แก่ โรคภูมิแพ้ โรคไขมันในเลือดสูง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคประจำตัวต่างๆ โรคที่เกี่ยวข้องกับระบบการย่อยและการดูดซึม ความผิดปกติของการทำงานของตับและไต ความผิดปกติของฮอร์โมนไทรอยด์ และมีค่าดังต่อไปนี้อยู่ในเกณฑ์ปกติ



เลขที่โครงการวิจัย 135.1/56

วันรับรอง - 5 ก.พ. 2557

วันหมดอายุ - 4 ก.พ. 2558

1.1 ดัชนีมวลกายปกติ อยู่ระหว่าง 18.5- 22.9 กิโลกรัม/เมตร<sup>2</sup>

1.2 ผลการเจาะเลือดเมื่ออดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมง มีดังต่อไปนี้ปกติ

- ระดับคอเลสเตอรอลรวม น้อยกว่า 200 mg/dL
- ระดับแอลดีแอล คอเลสเตอรอล(LDL-cholesterol) น้อยกว่า 150 mg/dL
- ระดับไตรกลีเซอไรด์ น้อยกว่า 150 mg/dL
- ระดับน้ำตาลในเลือด น้อยกว่า 100 mg/dL
- การทำงานของไต โดยค่า Creatinine ปกติ ระหว่าง 0.7-1.4 mg/dL
- การทำงานของตับ โดยค่า ALT ปกติ มีค่าน้อยกว่า 40 IU/L

- 1.3 เปรอร์เซ็นต์ไขมัน ผู้ชายต้องไม่เกิน 20% และ ผู้หญิงต้องไม่เกิน 30%
- 1.4 เส้นรอบวงเอวปกติ เพศชายต้องมีเส้นรอบวงเอว ไม่เกิน 90 เซนติเมตร และ ผู้หญิงต้อง มีรอบเอวไม่เกิน 80 เซนติเมตร
- 1.5 ความดันโลหิตต่ำกว่า 140/90 mmHg

## 2. ไม่สูบบุหรี่

3. สามารถหลีกเลี่ยงการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารทุกชนิด ก่อนการทดลอง 1 เดือน และระหว่างการทดลอง
4. สามารถบริโภคน้ำชาเขียวได้
5. ผู้ร่วมวิจัยลงนามยินยอมเข้าร่วมวิจัย



เลขที่โครงการวิจัย 135.1/56  
วันที่รับรอง - 5 ก.พ. 2557  
วันหมดอายุ - 4 ก.พ. 2558

## เกณฑ์การคัดออก

1. ไม่สามารถปฏิบัติตามรายละเอียดในโครงการ
2. บริจาคเลือดในระยะเวลา 3 เดือนที่ผ่านมา

ในกรณีที่ผู้เข้าร่วมวิจัย “ไม่ผ่าน” คุณสมบัติตามที่กำหนดไว้ เป็นเหตุให้ผู้วิจัยจำเป็นต้องตัดผู้เข้าร่วมวิจัยออกจากโครงการวิจัย ผู้วิจัยจะติดต่อและแจ้งผลเลือดให้ผู้เข้าร่วมวิจัยทราบโดยเร็ว ในกรณีหากพบผลเลือดผิดปกติและสามารถดูแลทางโภชนาการได้ ผู้วิจัยจะให้คำแนะนำในการปฏิบัติตัวทางด้านโภชนาการเกี่ยวกับการบริโภคอาหารที่เหมาะสม หากพบว่าผลเลือดมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค ผู้วิจัยจะแนะนำให้พบแพทย์ เพื่อทำการรักษาต่อไป

4. ความเสี่ยงหรือความไม่สบายต่างๆที่อาจเกิดขึ้นได้กับผู้เข้าร่วมวิจัย ผู้วิจัยได้เตรียมวิธีการดูแลผู้เข้าร่วมการคัดกรองดังนี้

4.1 เนื่องจากผู้เข้าร่วมการคัดกรองต้องงดอาหารและน้ำ 12 ชั่วโมง เพื่อมารับการเจาะเลือด อาจมีภาวะหน้ามืดหรือหมดสติเนื่องจากระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ

ผู้วิจัยได้เตรียมการดังนี้

- สังเกตและเฝ้าดูอาการของผู้เข้าร่วมวิจัยอย่างใกล้ชิด
- แนะนำผู้เข้าร่วมการคัดกรองว่าถ้ามีอาการเหงื่อออก มือเท้าสั่น รู้สึกหิวจัด อ่อนเพลีย หน้ามืด คล้ายจะเป็นลม หรือมีอาการผิดปกติใดๆให้รีบแจ้งให้ผู้วิจัยทราบ และหยุดทำการวิจัยทันทีพร้อมทั้งส่งต่อให้แพทย์ดูแลต่อไป

- ผู้วิจัยเตรียมยาตามและพินเสนสำหรับผู้เข้าร่วมการคัดกรองที่มีอาการดังกล่าว
- ผู้วิจัยเตรียมน้ำหวานและขนมปังไว้ให้ผู้เข้าร่วมคัดกรองหลังจากการเจาะเลือดเสร็จ

4.2 หากผู้เข้าร่วมการคัดกรอง วิจัยเกิดความเจ็บปวด วิตกกังวล หรือเส้นเลือดเขียวซ้ำจากการเจาะเลือด แต่ความเสี่ยงนี้เป็นสิ่งปกติที่อาจเกิดขึ้นได้เมื่อมีการเจาะเลือด

ผู้วิจัยได้เตรียมการดังนี้

- การเจาะเลือดทำโดยพยาบาลผู้ชำนาญการเจาะเลือด โดยใช้เข็มเจาะเลือดที่ใช้ครั้งเดียวเฉพาะแต่ละคน จึงไม่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ และผู้เจาะเลือดกระทำด้วยความระมัดระวังในการแทงเข็ม
- แนะนำให้ใช้น้ำแข็งประคบ เพื่อลดการขยายตัวของรอยช้ำนั้น รอยช้ำนี้จะค่อยๆ จางลงและไม่มีอันตรายใดๆ

ถ้ามีเหตุการณ์อันไม่พึงประสงค์เกิดขึ้นกับผู้เข้าร่วมการคัดกรอง ผู้วิจัยมีความพร้อมที่จะส่งต่อให้แพทย์ดูแลอย่างใกล้ชิดและทันที่ หากเกิดการเจ็บป่วยอันเนื่องมาจากการวิจัย ผู้เข้าร่วมการคัดกรอง จะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่คิดมูลค่าตามมาตรฐานวิชาชีพ

5. ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับผู้เข้าร่วมวิจัยจะถูกเก็บเป็นความลับ โดยผลของการวิจัยจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปแบบที่เป็นสรุปผลการวิจัย และอ้างอิงเฉพาะหมายเลขของผู้เข้าร่วมวิจัย รวมถึงผู้วิจัยจะไม่เก็บเลือดของผู้เข้าร่วมวิจัยเพื่อใช้ในการทดลองอื่นใดนอกเหนือจากที่ระบุในโครงการวิจัยนี้ เมื่อสิ้นสุดการวิจัย ผู้วิจัยจะทำลายตัวอย่างเลือด และส่วนประกอบใดๆที่ได้จากเลือดของผู้เข้าร่วมวิจัยที่เหลือจากการทดลอง โดยแช่สารฆ่าเชื้อก่อนที่จะทำลายทั้งหมด

6. การเข้าร่วมการคัดกรองครั้งนี้ ผู้เข้าร่วมวิจัยได้รับการชี้แจงวัตถุประสงค์ ประโยชน์ของงานวิจัย ซึ่งทำให้ได้ทราบถึงประสิทธิภาพของเครื่องตีฆาเขียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอส ว่ามีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลิน และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารต้านอนุมูลอิสระอย่างไร หากเครื่องตีฆาเขียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอสมีผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลินต่ำกว่าเครื่องตีฆาเขียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอส รวมถึงหากบริโภคชาเขียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอสมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารต้านอนุมูลอิสระในทางที่ดี เครื่องตีฆาเขียวนี้ และน้ำตาลไอโซมอลทูลอส อาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับคนที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะน้ำหนักเกินและโรคอ้วน นอกจากนี้เครื่องตีฆาเขียวนี้และน้ำตาลไอโซมอลทูลอส อาจจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน ชนิดที่ 2 อีกด้วย ซึ่งอาจจะสามารถช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และเมื่อผู้ป่วยสามารถควบระดับน้ำตาลในเลือดได้ ก็อาจจะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆของผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ชนิดที่ 2 ต่อไป

7. การเจาะเลือดในขั้นตอนคัดกรอง ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับประโยชน์ในการทราบผลการตรวจเลือดตามที่ระบุไว้ข้างต้นโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

8. ระยะเวลาสำหรับการคัดกรองทั้งหมด ประมาณ 2 อาทิตย์

9. จำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยที่ต้องการสำหรับทำการวิจัยนี้ 18 คน

10. หากท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามข้อมูลดังกล่าวสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน กลุ่มสหสถาบัน ชุดที่ 1 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ชั้น 4 อาคารสถาบัน 2 ซอย จุฬาลงกรณ์ 62 ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0-2218-8147 หรือ 0-2218-8141 โทรสาร 0-2218-8147 E-mail: eccu@chula.ac.th

เลขที่โครงการวิจัย 135. 1 /56

วันที่รับรอง - 5 ก.พ. 2557

วันหมดอายุ - 4 ก.พ. 2558





## ข้อมูลสำหรับประชากรตัวอย่างหรือผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย

## (Participant Information Sheet)

**ชื่อโครงการวิจัย** ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับน้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม ในคนสุขภาพดี

**ชื่อผู้วิจัย** นายภาสกร สุระผัด

**ตำแหน่ง** นิสิตระดับปริญญาโท สาขาโภชนาการและการกำหนดอาหาร คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**สถานที่ติดต่อผู้วิจัย**  
 (ที่ทำงาน) อาคารจุฬาพัฒน์ 3 คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 154 ซ.จุฬา 12 ถ.พระราม 1 แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330  
 (ที่อยู่ปัจจุบัน) 234/36 หมู่บ้าน สิวรงค์ ซอย 2 ถนนสรณคัมภ์ แขวงสีกัน เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร 10210  
 โทรศัพท์ 02-218-1099-106 โทรสาร 02-218-1099  
 มือถือ 087-8234721 E-mail Address : tostimulus@hotmail.com

1. โครงการวิจัยนี้ เกี่ยวข้องกับ การบริโภคเครื่องดื่ม 5 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลไอโซมอลทูลอส ชาเขียว น้ำตาลซูโครสในเครื่องดื่มชาเขียว และน้ำตาลไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว ว่ามีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลิน และสารต้านอนุมูลอิสระ ในคนสุขภาพดี โดยมีวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย ได้แก่

1. เพื่อศึกษาผลของการบริโภคน้ำตาลไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว ต่อระดับน้ำตาลและระดับอินซูลินในเลือด เมื่อเปรียบเทียบกับการบริโภคน้ำตาลซูโครส น้ำตาลไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียวที่ผสมน้ำตาลซูโครส น้ำตาลไอโซมอลทูลอส น้ำตาลซูโครสในเครื่องดื่มชาเขียว และเครื่องดื่มชาเขียว

2. เพื่อศึกษาผลของการบริโภคน้ำตาลไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว ต่อระดับสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด เมื่อเปรียบเทียบกับการบริโภคน้ำตาลซูโครส น้ำตาลไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียว และเครื่องดื่มชาเขียว

2. โครงการวิจัยนี้เป็นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่

2.1 โครงการวิจัยในส่วนที่ 1 การทดสอบปริมาณโพลifenอลในชาเขียว โดยไม่เกี่ยวข้องกับใดๆกับผู้เข้าร่วมวิจัย

2.2 โครงการวิจัยในส่วนที่ 2 เป็นการวิจัยเชิงทดลองโภชนาการทางคลินิก รูปแบบการศึกษาทดลองเป็นการศึกษาแบบไขว้ (cross-over study) โดยมีผู้เข้าร่วมงานวิจัยทั้งหมด 18 คน ซึ่งการทดลองจะแบ่งเป็นทั้งหมด 5 ครั้ง และแต่ละครั้งจะแบ่งเป็น 5 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มจะได้รับเครื่องดื่มแต่ละประเภทดังนี้

เครื่องดื่มชนิดที่ 1 น้ำตาลซูโครส 50 กรัม ในน้ำเปล่า 400 มิลลิลิตร

เครื่องดื่มชนิดที่ 2 น้ำตาลไอโซมอลทูลอส 50 กรัม ในน้ำเปล่า 400 มิลลิลิตร

เครื่องดื่มชนิดที่ 3 ชาเขียว 400 มิลลิลิตร ที่มีโพลifenอล 500 มิลลิกรัม

เครื่องดื่มชนิดที่ 4 น้ำตาลซูโครส 50 กรัม ในชาเขียว 400 มิลลิลิตร ที่มีโพลifenอล 500 มิลลิกรัม

เครื่องดื่มชนิดที่ 5 น้ำตาลไอโซมอลทูลอส 50 กรัม ในชาเขียว 400 มิลลิลิตร

ที่มีโพลifenอล 500 มิลลิกรัม



การทดลองครั้งแรกผู้เข้าร่วมงานวิจัยจะถูกสุ่มเข้ากลุ่ม โดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (Simple random sampling) ด้วยวิธีการจับสลาก แบบไม่ใส่คืน ซึ่งจะจัดทำรายชื่อผู้เข้าร่วมงานวิจัยทั้งหมดและสุ่มจับสลากในแต่ละกลุ่ม จำนวนกลุ่มละ 3 คน จนครบจำนวน 5 กลุ่ม และในการทดลองครั้งถัดไป ผู้เข้าร่วมวิจัยในแต่ละกลุ่มจะได้รับเครื่องดื่มชนิดที่ต่างจากชนิดที่เคยได้รับ จนได้รับเครื่องดื่มครบทั้ง 5 ชนิด รวมการทดลองทั้งหมด 5 ครั้ง ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การได้รับเครื่องดื่มของแต่ละกลุ่มในแต่ละการทดลอง

ผู้เข้าร่วมงานวิจัยทั้งหมด 16 คน					
	กลุ่มที่ 1 (n=4)	กลุ่มที่ 2 (n=3)	กลุ่มที่ 3 (n=3)	กลุ่มที่ 4 (n=3)	กลุ่มที่ 5 (n=3)
การทดลอง ครั้งที่ 1	เครื่องดื่มชนิดที่ 1	เครื่องดื่มชนิดที่ 2	เครื่องดื่มชนิดที่ 3	เครื่องดื่มชนิดที่ 4	เครื่องดื่มชนิดที่ 5
การทดลอง ครั้งที่ 2	เครื่องดื่มชนิดที่ 2	เครื่องดื่มชนิดที่ 3	เครื่องดื่มชนิดที่ 4	เครื่องดื่มชนิดที่ 5	เครื่องดื่มชนิดที่ 1
การทดลอง ครั้งที่ 3	เครื่องดื่มชนิดที่ 3	เครื่องดื่มชนิดที่ 4	เครื่องดื่มชนิดที่ 5	เครื่องดื่มชนิดที่ 1	เครื่องดื่มชนิดที่ 2
การทดลอง ครั้งที่ 4	เครื่องดื่มชนิดที่ 4	เครื่องดื่มชนิดที่ 5	เครื่องดื่มชนิดที่ 1	เครื่องดื่มชนิดที่ 2	เครื่องดื่มชนิดที่ 3
การทดลอง ครั้งที่ 5	เครื่องดื่มชนิดที่ 5	เครื่องดื่มชนิดที่ 1	เครื่องดื่มชนิดที่ 2	เครื่องดื่มชนิดที่ 3	เครื่องดื่มชนิดที่ 4

### 2.2.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

ถ้าผลการตรวจเลือดของผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าเกณฑ์คุณสมบัติที่กำหนดไว้และยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการนัดหมายให้มาพบผู้วิจัยภายในเวลาไม่เกินหนึ่งเดือน ซึ่งเป็นการนัดเพื่อทำการทดลองครั้งแรก และเว้นระยะการทดลองแต่ละการทดลอง 2 สัปดาห์ จนผู้เข้าร่วมการทดลองได้รับเครื่องดื่มครบทั้ง 5 ชนิด โดยมีรายละเอียดการดำเนินการดังนี้



เลขที่โครงการวิจัย 135.1/56  
วันรับรอง - 5 ก.พ. 2557  
วันหมดอายุ - 4 ก.พ. 2558

#### เตรียมตัวของผู้ร่วมวิจัยก่อนการทดลอง

- 1 สัปดาห์ ก่อนการทดลองในแต่ละช่วง

1. ผู้เข้าร่วมการศึกษาต้องหลีกเลี่ยงอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง โดยเฉพาะหลีกเลี่ยงอาหารที่มีสารโพลีฟีนอลสูง เช่น ชา กาแฟ ผลไม้โดยเฉพาะเบอร์รี่ชนิดต่างๆ น้ำผลไม้ ไวน์ และช็อคโกแลต เป็นต้น และหากไม่ทราบว่าอาหารชนิดนั้นมีปริมาณโพลีฟีนอลสูงหรือไม่ สามารถติดต่อสอบถามผู้วิจัยได้ทุกเมื่อ
2. ผู้เข้าร่วมการศึกษาต้องไม่ดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์
3. ผู้เข้าร่วมการศึกษาต้องงดการออกกำลังกาย

\*ผู้เข้าร่วมวิจัยบันทึกแบบการบริโภคอาหารและการออกกำลังกาย\*

- ก่อนการทดลองแต่ละครั้ง อย่างน้อย 12 ชั่วโมง

1. ผู้เข้าร่วมการศึกษาต้องอดอาหาร แต่สามารถดื่มน้ำเปล่าได้เล็กน้อย
2. ผู้เข้าร่วมการศึกษาคควรพักผ่อนให้เพียงพอ

## ตารางกิจกรรมการดำเนินการ

เวลา	กิจกรรม
08.00 น.	ผู้เข้าร่วมงานวิจัยมาถึงจุดนัดพบ ที่อาคารจุฬาพัฒน์ 3 ชั้น 2 คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
08.15 น.	พยาบาลชำนาญการเจาะเลือดและเก็บเลือดก่อนบริโภค โดยใช้ Catheter และคาสายไว้ หลังจากนั้นให้ผู้วิจัยเริ่มดื่มเครื่องดื่มที่ได้รับให้เสร็จภายใน 5 นาที และหลังจากนั้นพยาบาลชำนาญการจะเก็บเลือดที่เวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที โดยจะมีการเจาะเลือดรวมทั้ง 8 ครั้ง ครั้งละ 8 มิลลิลิตร (ประมาณ 1.5 ช้อนชา) รวมการทดลองต่อครั้งจะเก็บเลือดทั้งหมด 64 มิลลิลิตร (ประมาณ 13 ช้อนชา) รวมการทดลอง 5 ครั้ง ผู้วิจัยจะถูกเก็บเลือดทั้งหมด 320 มิลลิลิตร (ประมาณ 21.5 ช้อนโต๊ะ) (ขณะทดลองผู้เข้าร่วมวิจัยควรที่จะนั่งอยู่กับที่ และควรเลี่ยงกิจกรรมที่ทำให้หัวใจเต้นผิดปกติ เช่น การวิ่ง การดูหนังที่ทำให้ตื่นเต้น เป็นต้น )
11.15 น.	ผู้เข้าร่วมงานวิจัยรับประทานอาหารว่างหลังจากการเจาะเลือดครั้งสุดท้าย และนัดหมายสำหรับการทดลองครั้งต่อไป

ผู้เข้าร่วมวิจัยสามารถใช้ชีวิตได้ตามปกติระหว่างเข้าร่วมโครงการ **ยกเว้น** ต้องไม่รับประทานยาวิตามินบำรุง หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารใดๆ ทั้งสิ้นตลอดโครงการวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง 1 อาทิตย์ก่อนการเจาะเลือดต้องหลีกเลี่ยงอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง หลีกเลี่ยงอาหารที่มีสารโพลีฟีนอลสูง เช่น ชา กาแฟ น้ำผลไม้ ไวน์ และ ซ็อคโกแลต เป็นต้น ไม่ดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ และสามารถงดการออกกำลังกาย และจะต้องอดอาหารและเครื่องดื่มต่างๆ ยกเว้น น้ำเปล่าธรรมดาที่ดื่มได้เพียงเล็กน้อยเป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง ก่อนรับการเจาะเลือดในวันนัด และควรพักผ่อนอย่างเพียงพอในคืนก่อนวันนัด

## 2.2.2 การประเมินผลการทดลอง

การตรวจผลเลือด (สถานที่เก็บเลือด: ตึกจุฬาภักตร์ 3 ชั้น 2, สถานที่ตรวจผลเลือด: ตึกจุฬาภักตร์ 3 ชั้น 3)

- ระดับน้ำตาลในเลือดและอินซูลิน ซึ่งจะเก็บตัวอย่างเลือด ก่อนบริโภคแต่ละเครื่องดื่มและหลังบริโภคเวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที
- ระดับสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะเก็บตัวอย่างเลือด ก่อนบริโภคแต่ละเครื่องดื่มและหลังบริโภคเวลา 15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที

3. ความเสี่ยงหรือความไม่สบายต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้นได้กับผู้เข้าร่วมวิจัย ผู้วิจัยได้เตรียมวิธีการดูแลผู้เข้าร่วมการคัดกรองดังนี้

3.1 เนื่องจากผู้เข้าร่วมการคัดกรองต้องอดอาหาร 12 ชั่วโมง เพื่อมารับการเจาะเลือด อาจมีภาวะหน้ามืดหรือหมดสติเนื่องจากระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ

ผู้วิจัยได้เตรียมการดังนี้

- สังเกตและเฝ้าดูอาการของผู้เข้าร่วมวิจัยอย่างใกล้ชิด
- แนะนำผู้เข้าร่วมวิจัยว่าถ้ามีอาการเหงื่อออก มือเท้าสั่น รู้สึกหัวใจเต้นเร็ว หน้ามืดคล้ายจะเป็นลม หรือมีอาการผิดปกติใดๆ ให้รีบแจ้งให้ผู้วิจัยทราบ และหยุดทำการวิจัยทันทีพร้อมทั้งส่งต่อให้แพทย์ดูแลต่อไป
- ผู้วิจัยเตรียมยาอมและพินเสนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีอาการดังกล่าว





- ผู้วิจัยเตรียมนมและขนมปังไว้สำหรับผู้เข้าร่วมวิจัยหลังจากการเก็บเลือดเสร็จสิ้น แต่หากผู้เข้าร่วมวิจัยไม่สามารถทนรอได้แล้ว ผู้วิจัยจำเป็นต้องให้นมและขนมปังกับผู้เข้าร่วมวิจัยคนนั้น เพื่อให้อาการดีขึ้น แต่ข้อมูลผลการศึกษาของผู้เข้าร่วมวิจัยในการทดลองครั้งนี้จะถูกตัดออกจากข้อมูลรวม
- 3.2 หากผู้เข้าร่วมวิจัยเกิดความเจ็บปวด วิตกกังวล หรือเส้นเลือดเขียวซ้ำจากการเจาะเลือด แต่ความเสี่ยงนี้เป็นสิ่งปกติที่อาจเกิดขึ้นได้เมื่อมีการเจาะเลือด

#### ผู้วิจัยได้เตรียมการดังนี้

- การเจาะเลือดทำโดยพยาบาลชำนาญการผู้ชำนาญการเจาะเลือด โดยใช้เข็มเจาะเลือดที่ใช้ครั้งเดียวเฉพาะแต่ละคน จึงไม่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ และผู้เจาะเลือดกระทำด้วยความระมัดระวังในทางแห่งเข็ม
  - แนะนำให้ใช้น้ำแข็งประคบ เพื่อลดการขยายตัวของรอยช้ำนั้น รอยช้ำนี้จะค่อยๆ จางลงและไม่มีอันตรายใด ๆ
- ถ้ามีเหตุการณ์อันไม่พึงประสงค์เกิดขึ้นกับผู้เข้าร่วมวิจัย ผู้วิจัยมีความพร้อมที่จะส่งต่อให้แพทย์ดูแลอย่างใกล้ชิดและทันทั่วทั้งที่ หากเกิดการเจ็บป่วยอันเนื่องมาจากการวิจัย ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการรักษาพยาบาลชำนาญการโดยไม่คิดมูลค่าตามมาตรฐานวิชาชีพ

4. ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับผู้เข้าร่วมวิจัยจะถูกเก็บเป็นความลับ โดยผลของการวิจัยจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย และอ้างอิงเฉพาะหมายเลขของผู้เข้าร่วมวิจัย รวมถึงผู้วิจัยจะไม่เก็บเลือดของผู้เข้าร่วมวิจัยเพื่อใช้ในการทดลองอื่นใดนอกเหนือจากที่ระบุในโครงการวิจัยนี้ เมื่อสิ้นสุดการวิจัย ผู้วิจัยจะทำลายตัวอย่างเลือด และส่วนประกอบใดๆที่ได้จากเลือดของผู้เข้าร่วมวิจัยที่เลือกจากการทดลอง โดยแช่สารฆ่าเชื้อก่อนที่จะทำลายทิ้งทั้งหมด

5. การเข้าร่วมวิจัยครั้งนี้ ผู้เข้าร่วมวิจัยได้รับการชี้แจงวัตถุประสงค์ ประโยชน์ของงานวิจัย ซึ่งทำให้ได้ทราบถึงประสิทธิภาพของเครื่องตีมาเซียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอส ว่ามีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลิน และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารต้านอนุมูลอิสระอย่างไร หากเครื่องตีมาเซียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอสมีผลทำให้ระดับน้ำตาลในเลือด ระดับอินซูลินต่ำกว่าเครื่องตีมาเซียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอสรวมถึงหากบริโภคชาเขียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอสมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารต้านอนุมูลอิสระในทางที่ดี เครื่องตีมาเซียวนี้ และน้ำตาลไอโซมอลทูลอส อาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับคนที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะน้ำหนักเกินและโรคอ้วน นอกจากนี้เครื่องตีมาเซียวชนิดนี้และน้ำตาลไอโซมอลทูลอส อาจจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน ชนิดที่ 2 อีกด้วย ซึ่งอาจจะสามารถช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และเมื่อผู้ป่วยสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ ก็อาจจะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆของผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ชนิดที่ 2 ต่อไป

ผู้เข้าร่วมวิจัยมีสิทธิ์ที่จะขอถอนตัวจากโครงการเมื่อใดก็ได้ โดยไม่สูญเสียประโยชน์ที่พึงได้รับ ทั้งนี้หากผู้เข้าร่วมวิจัยมีข้อสงสัยให้สอบถามเพิ่มเติมได้โดยสามารถติดต่อผู้วิจัยได้ตลอดเวลา และหากผู้วิจัยมีข้อมูลเพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์หรือโทษเกี่ยวกับการวิจัย ผู้วิจัยจะแจ้งให้ผู้เข้าร่วมวิจัยทราบอย่างรวดเร็ว เพื่อให้ผู้เข้าร่วมวิจัยทบทวนว่ายังสมัครใจจะอยู่ในงานวิจัยต่อไปหรือไม่ นอกจากนั้นโครงการวิจัยนี้

6. ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับค่าเสียเวลา และค่าการเดินทาง ไป-กลับ เพื่อมาเจาะเลือดเป็นจำนวนเงิน 200 บาทต่อการทดลอง 1 ครั้ง

เลขที่โครงการวิจัย 135.1 / 56

วันที่รับรอง - 5 ก.พ. 2557

วันหมดอายุ - 4 ก.พ. 2558



7. ระยะเวลาสำหรับการทดลองทั้งหมด ประมาณ 9 อาทิตย์
8. จำนวนผู้เข้าร่วมวิจัยที่ใช้ในการวิจัยนี้ 18 คน
9. หากท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามข้อมูลดังกล่าวสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน กลุ่มสหสถาบัน ชุดที่ 1 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ชั้น 4 อาคารสถาบัน 2 ซอย จุฬาลงกรณ์ 62 ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0-2218-8147 หรือ 0-2218-8141 โทรสาร 0-2218-8147 E-mail: eccu@chula.ac.th

เลขที่โครงการวิจัย 135.1/56

วันที่รับรอง - 5 ก.พ. 2557

วันหมดอายุ - 4 ก.พ. 2558





ใบยินยอมของผู้เข้าร่วมการคัดกรองโครงการวิจัย  
(Informed Consent Form)

ชื่อโครงการวิจัย ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับ  
น้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม  
ในคนสุขภาพดี

เลขที่ ประชากรหรือผู้มีส่วนร่วมในการวิจัย.....

ข้าพเจ้าซึ่งได้ลงนามที่ด้านล่างของหนังสือเล่มนี้ ได้รับคำอธิบายอย่างชัดเจนจนเป็นที่พอใจจาก  
ผู้วิจัย ชื่อ นายภาสกร สุระผัด ที่อยู่ อาคารจุฬาพัฒน์ 3 คณะสหเวชศาสตร์ ถนนพระราม 1 แขวง วังใหม่  
เขต ปทุมวัน จังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10330 ถึงวัตถุประสงค์และขั้นตอนการคัดกรอง ความ  
เสี่ยง/อันตราย และประโยชน์ซึ่งจะเกิดขึ้นจากการวิจัยเรื่องนี้แล้ว

ข้าพเจ้าเข้าร่วมการการคัดกรองผู้เข้าร่วมวิจัยครั้งนี้ด้วยความสมัครใจ และยินยอมให้วัดสัดส่วน  
ร่างกาย วัดความดันโลหิต และเจาะเลือด 1 ครั้ง เพื่อตรวจคัดกรองทางชีวเคมี ปริมาณไม่เกิน 15 มิลลิลิตร  
(ประมาณ 1 ช้อนโต๊ะ) เพื่อนำไปตรวจระดับน้ำตาลในเลือด ระดับไขมันในกระแสเลือด การทำงานของไต  
และการทำงานของตับ สำหรับการคัดเลือกเข้าร่วมงานวิจัย

ข้าพเจ้าได้รับคำรับรองว่า ผู้วิจัยจะปฏิบัติต่อข้าพเจ้าตามข้อมูลที่ได้ระบุไว้ และข้อมูลใดๆ ที่เกี่ยวข้องกับ  
กับข้าพเจ้าจะเก็บรักษาเป็นความลับ

ข้าพเจ้ายินดีเข้าร่วมการคัดกรองครั้งนี้ ภายใต้เงื่อนไขที่ระบุไว้ในเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมการคัด  
กรองโครงการวิจัย

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารข้อมูลสำหรับกลุ่มประชากรหรือผู้มีส่วนร่วมในการวิจัย และใบยินยอมของ  
กลุ่มประชากรหรือผู้มีส่วนร่วมในการวิจัยแล้ว



เลขที่โครงการวิจัย 135.1/56

วันที่รับรอง - 5 ก.พ. 2557

ในหมดยอายุ - 4 ก.พ. 2558

.....  
สถานที่ / วันที่

( )

ลงนามผู้มีส่วนร่วมในการวิจัย

.....  
สถานที่ / วันที่

( นายภาสกร สุระผัด )

ลงนามผู้วิจัยหลัก

.....  
สถานที่ / วันที่

( )

พยาน

ใบยินยอมของกลุ่มประชากรหรือผู้มีส่วนร่วมในการวิจัย  
(Informed Consent Form)

ชื่อโครงการวิจัย ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับ  
น้ำตาลกลูโคส ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม  
ในคนสุขภาพดี  
เลขที่ ประชากรหรือผู้มีส่วนร่วมในการวิจัย..... 135-1186  
วันที่รับรอง - 5 ก.พ. 2557  
วันหมดอายุ - 4 ก.พ. 2558

ข้าพเจ้าซึ่งได้ลงนามที่ด้านล่างของหนังสือเล่มนี้ได้รับคำอธิบายอย่างชัดเจนจนเป็นที่พอใจจาก  
ผู้วิจัย ชื่อ นายภาสกร สุระผัด ที่อยู่ อาคารจุฬาพัฒน์ 3 คณะสหเวชศาสตร์ ถนนพระราม 1 แขวง วังใหม่  
เขต ปทุมวัน จังหวัด กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10330 ถึงวัตถุประสงค์และขั้นตอนการวิจัย ความเสี่ยง/  
อันตราย และประโยชน์ซึ่งจะเกิดขึ้นจากการวิจัยเรื่องนี้แล้ว

ข้าพเจ้าเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ด้วยความสมัครใจ และยินยอมเข้าร่วมการทดลอง 5 ครั้ง การ  
ทดลองแต่ละครั้งมีระยะเวลาห่างกัน 2 สัปดาห์ รวมเวลาในการทดลองทั้งสิ้นประมาณ 11 สัปดาห์ และ  
ยินยอมให้เก็บเลือด 8 ครั้งต่อการทดลอง ครั้งละ 8 มิลลิลิตร (ประมาณ 1.5 ช้อนชา) รวมปริมาณเลือด  
ทั้งหมด 64 มิลลิลิตร (ประมาณ 13 ช้อนชา) ต่อการทดลอง รวมการทดลองทั้งหมดจะมีการเก็บเลือด 40  
ครั้ง ซึ่งปริมาณเลือดที่ถูกเก็บทั้งหมดรวม 320 มิลลิลิตร (ประมาณ 21.5 ช้อนโต๊ะ) โดยการทดลองแต่ละ  
ครั้ง ผู้เข้าร่วมวิจัยแต่ละคนจะได้รับเครื่องดื่ม 1 ชนิด และในครั้งถัดไป ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับเครื่องดื่มต่าง  
จากชนิดที่เคยได้รับ จนได้รับเครื่องดื่มครบทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลไอโซมอลทูลอส ชาเขียว  
ชาเขียวที่ใส่น้ำตาลซูโครส และชาเขียวที่ใส่น้ำตาลไอโซมอลทูลอส ทั้งนี้ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะถอนตัวออกจาก  
การวิจัยเมื่อไรก็ได้ตามความประสงค์ โดยไม่ต้องแจ้งเหตุผล ซึ่งการถอนตัวออกจากการวิจัยนั้น จะไม่มี  
ผลกระทบในทางใดๆ แก่ข้าพเจ้าทั้งสิ้น

ข้าพเจ้าได้รับคำรับรองว่า ผู้วิจัยจะปฏิบัติต่อข้าพเจ้าตามข้อมูลที่ระบุไว้ และข้อมูลใดๆ ที่  
เกี่ยวข้องกับข้าพเจ้าจะเก็บรักษาเป็นความลับ

ข้าพเจ้ายินดีเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้ ภายใต้เงื่อนไขที่ระบุไว้ในเอกสารข้อมูลสำหรับกลุ่มประชากร  
หรือผู้มีส่วนร่วมในการวิจัย

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารข้อมูลสำหรับกลุ่มประชากรหรือผู้มีส่วนร่วมในการวิจัย และใบยินยอม  
ของกลุ่มประชากรหรือผู้มีส่วนร่วมในการวิจัยแล้ว

.....  
สถานที่ / วันที่

.....  
( )  
ลงนามผู้มีส่วนร่วมในการวิจัย

.....  
สถานที่ / วันที่

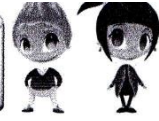
.....  
( นายภาสกร สุระผัด )  
ลงนามผู้วิจัยหลัก

.....  
สถานที่ / วันที่

.....  
( )  
พยาน



## ประกาศรับอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย



เรื่อง “ผลของการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไอโซมอลทูลอสในเครื่องดื่มชาเขียวต่อระดับน้ำตาลกลูโคส  
ระดับอินซูลิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระหลังดื่ม ในคนสุขภาพดี”

คุณสมบัติของผู้เข้าร่วมอาสาสมัครเบื้องต้น



เลขที่โครงการวิจัย 135.1 / 56

วันรับรอง - 5 ก.พ. 2557

- 4 ก.พ. 2558

- ✓ เพศชายและเพศหญิง อายุระหว่าง 18-35 ปี
- ✓ ดัชนีมวลกายปกติ อยู่ระหว่าง 18.5- 22.9 kg/m<sup>2</sup> [ วิธีการคำนวณ น้ำหนัก (kg)/ส่วนสูง<sup>2</sup> (m<sup>2</sup>) ]
- ✓ เส้นรอบวงเอวปกติ เพศชาย < 90 ซม. (36 นิ้ว) และเพศหญิง < 80 ซม. (32 นิ้ว)
- ✓ สุขภาพดี ไม่มีประวัติเป็นโรคและความผิดปกติเหล่านี้
 

<input checked="" type="checkbox"/> โรคไขมันในเลือดสูง	<input checked="" type="checkbox"/> โรคหัวใจ	<input checked="" type="checkbox"/> โรคความดันโลหิตสูง	<input checked="" type="checkbox"/> โรคภูมิแพ้
<input checked="" type="checkbox"/> โรคเบาหวาน	<input checked="" type="checkbox"/> โรคเมเร็งชนิดต่างๆ	<input checked="" type="checkbox"/> โรคที่เกี่ยวกับระบบการย่อยและการดูดซึม	
<input checked="" type="checkbox"/> ความผิดปกติของการทำงานของตับและไต	<input checked="" type="checkbox"/> ความผิดปกติของฮอร์โมนไทรอยด์		
- ✓ ไม่สูบบุหรี่
- ✓ สามารถบริโภคน้ำชาเขียวได้
- ✓ สามารถหลีกเลี่ยงการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารทุกชนิด ก่อนการทดลอง 1 เดือนและระหว่างโครงการ
- ✓ สมัครใจเข้าร่วมโครงการ และยินยอมให้เจาะเลือดเพื่อโครงการนี้
- ✓ ค่าผลการตรวจเลือด เช่น ระดับน้ำตาลในเลือด ระดับไขมันในกระแสเลือด และ Creatinine เป็นต้น  
% ไขมันในร่างกาย และ ความดันโลหิตปกติ (โดยผู้วิจัยจะมีการนัดหมายเพื่อคัดกรองผู้เข้าร่วมวิจัยเพิ่มเติม)

อาสาสมัคร ในโครงการ ไม่ต้องรับประทานยาหรืออาหารเสริมใดๆเพิ่มเติม สามารถดำเนินชีวิตได้ตามปกติ  
ก่อนวันเจาะเลือดพักผ่อนให้เพียงพอและงดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมง (สามารถดื่มน้ำเปล่าได้เล็กน้อย)

โครงการวิจัยมีการเจาะเลือดสำหรับการทดลองทั้งหมด 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 3 ชั่วโมง  
(ทางโครงการฯมีค่าเดินทางและค่าเสียเวลาให้ ยกเว้น วันตรวจคัดกรอง ซึ่งผู้เข้าร่วมคัดกรองจะได้รับทราบผลเลือด  
โดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายทั้งสิ้น)

อาสาสมัครที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์เบื้องต้น และสนใจเข้าร่วมโครงการ สามารถสอบถามรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่....

นายภาสกร สุระมัต อาคารจุฬาพัฒน์ 3 คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์มือถือ: 087-8234721 Email address: tostimulus@hotmail.com Line ID: maup



### แบบบันทึกอาหารบริโภคและการกิจกรรมในแต่ละวัน

รหัสผู้เข้าร่วมการศึกษา..... เพศ  ชาย  หญิง อายุ.....ปี  
 บันทึกวันที่.....ที่.....เดือน.....ปี..... ท่านตื่นนอนเวลา.....น. ท่านเข้านอนเวลา.....น.  
 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร  ไม่บริโภค  บริโภค โปรตีน.....จำนวน.....เม็ด เม็ดละ.....มก.  
 ยารักษาโรค  ไม่บริโภค  บริโภค โปรตีน.....

มือ	เวลา	ชื่อรายการอาหาร	ส่วนประกอบ	ปริมาณบริโภค (ทัพพี/ช้อนโต๊ะ/ช้อนชา/แก้ว/กล่อง)

การออกกำลังกาย  ไม่ได้ออกกำลังกาย  ออกกำลังกาย โปรตีน.....ระยะเวลา.....นาที่  
**กิจกรรม**

- กิจกรรมเบา** มีอัตราการเต้นของหัวใจโดยเฉลี่ย 90 ครั้งต่อนาที ได้แก่ กิจกรรมที่ต้องนั่งหรือยืนนาน เคลื่อนไหวเฉพาะมือหรือนิ้ว เช่น กิจกรรมในสำนักงาน เช่น การประชุม, ถ่ายเอกสาร, พิมพ์งาน, การขับรถเกียร์อัตโนมัติ, การเดินที่ช้ากว่า 5 กม./ชม., งานบ้าน เช่น การกวาดดูบ้าน ปูเตียง ทำอาหาร และงานบ้านที่ยืนหรือนั่งทำ และการชั่งชั่งกรดยานที่ความเร็วช้ากว่า 8 กิโลเมตรต่อชั่วโมง (ผู้ที่มึนร่างกายปกติจะรู้สึกเหนื่อยน้อยมาก)
- กิจกรรมปานกลาง** มีอัตราการเต้นของหัวใจโดยเฉลี่ย 100 ครั้งต่อนาที ได้แก่ กิจกรรมที่ต้องออกแรงแขน ขาและมีการเคลื่อนไหวทั้งร่างกายเป็นครั้งคราว เช่น การเดินขึ้นบันไดและการเดินเร็ว, ขับรถเกียร์ธรรมดา, งานดูแลผู้ป่วย เช่น การเช็ดตัว ทำความสะอาด เคลื่อนย้ายผู้ป่วย, งานบ้าน เช่น ตากผ้า การทำความสะอาดห้องน้ำ เช็ดรถ กวาดดู บริเวณนอกบ้าน, การชั่งชั่งกรดยานที่ความเร็ว 8-14 กม./ชม. หรือการขี่ขึ้นเนินเตี้ย
- กิจกรรมหนัก** มีอัตราการเต้นของหัวใจโดยเฉลี่ยมากกว่า 120 ครั้งต่อนาที ได้แก่ กิจกรรมที่มีการเคลื่อนไหวอย่างรวดเร็ว มีการเคลื่อนไหวทั้งตัวและต้องใช้แรงมาก เช่น การถือหรือแบกและการยกวัตถุที่หนักมากกว่า 23 กิโลกรัม, งานก่อสร้างที่หนัก เช่น การขนอิฐ ขุดหลุม แบกปูน เลื่อยไม้, การชั่งชั่งกรดยานที่ความเร็วมากกว่า 16 กิโลเมตรต่อชั่วโมง หรือการขี่จักรยานขึ้นเนินสูง และการวิ่งขึ้นบันได

**ข้อมูลเพิ่มเติม**  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....

**ตัวอย่าง....แบบบันทึกอาหารบริโภคและการกิจกรรมในแต่ละวัน**

รหัสผู้เข้าร่วมการศึกษา.....001.....เพศ  ชาย  หญิง อายุ.....22.....ปี  
 บันทึกวัน.....พฤหัสบดี.....ที่..24..เดือน.กุมภาพันธ์ .ปี.2557.ท่านตื่นนอนเวลา...8.00...น. ท่านเข้านอนเวลา...22.00...น.  
 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร  ไม่บริโภค  บริโภค โพรตระบุ.วิตามินรวม (ยี่ห้อ Centrum). จำนวน1 เม็ด เม็ดละ..500..มก.  
 ยารักษาโรค  ไม่บริโภค  บริโภค โพรตระบุ.ยา พาราเซตามอล...1.... เม็ด...500.... มิลลิกรัม.

มือ	เวลา	ชื่อรายการอาหาร	ส่วนประกอบ	ปริมาณบริโภค (ทัพพี/ช้อนโต๊ะ/ช้อนชา/แก้ว/กล่อง)
เช้า	9.00	ข้าวต้ม	ข้าวต้ม	15 ช้อนโต๊ะ
			หมูสับ	3 ช้อนโต๊ะ
กลางวัน	12.00	ข้าวผัด	นมจืด	1 กล่อง
			นมพรมเนย	
			ข้าว	2 ทัพพี
			แครอท	1 ช้อนโต๊ะ
มือว่าง	14.30	มะระกอ	ไก่	2 ช้อนโต๊ะ
				6 ชิ้นพอดีคำ
มือเย็น	18.00	กล้วยเดี่ยว	เส้นเล็ก	2 ทัพพี
			ลูกชิ้นหมู	3 ลูกใหญ่
			ถั่วงอก	1 ช้อนโต๊ะ

การออกกำลังกาย  ไม่ได้ออกกำลังกาย  ออกกำลังกาย โพรตระบุ.....ระยะเวลา.....นาที่  
**กิจกรรม**

**กิจกรรมเบา** มีอัตราการเต้นของหัวใจโดยเฉลี่ย 90 ครั้งต่อนาที ได้แก่ กิจกรรมที่ต้องนั่งหรือยืนนาน เคลื่อนไหวเฉพาะมือหรือนิ้ว เช่น กิจกรรมในสำนักงาน เช่น การประชุม, ถ่ายเอกสาร, พิมพ์งาน, การขับรถเกียร์อัตโนมัติ, การเดินที่ช้ากว่า 5 กม./ชม., งานบ้าน เช่น การกวาดถูบ้าน ปูเตียง ทำอาหาร และงานบ้านที่ยืนหรือนั่ง ทำ และการชั่งกษยานที่ความเร็วช้ากว่า 8 กิโลเมตรต่อชั่วโมง (ผู้ที่มีร่างกายปกติจะรู้สึกเหนื่อยน้อยมาก)

**กิจกรรมปานกลาง** มีอัตราการเต้นของหัวใจโดยเฉลี่ย 100 ครั้งต่อนาที ได้แก่ กิจกรรมที่ต้องออกแรง แขน ขาและมีการเคลื่อนไหวทั้งร่างกายเป็นครั้งคราว เช่น การเดินขึ้นบันไดและการเดินเร็ว, ขับรถเกียร์ธรรมดา, งานดูแลผู้ป่วย เช่น การเช็ดตัว ทำความสะอาด เคลื่อนย้ายผู้ป่วย, งานบ้าน เช่น ตากผ้า การทำความสะอาดห้องน้ำ เช็ดรถ กวาดถู บริเวณนอกบ้าน, การชั่งกษยานที่ความเร็ว 8-14 กม./ชม. หรือการขี่ขึ้นเนินเตี้ย

**กิจกรรมหนัก** มีอัตราการเต้นของหัวใจโดยเฉลี่ยมากกว่า 120 ครั้งต่อนาที ได้แก่ กิจกรรมที่มีการเคลื่อนไหวอย่างรวดเร็ว มีการเคลื่อนไหวทั้งตัวและต้องใช้แรงมาก เช่น การถือหรือแบกและการยกวัตถุที่หนักมากกว่า 23 กิโลกรัม, งานก่อสร้างที่หนัก เช่น การขนอิฐ ขุดหลุม แบกปูน เลื่อยไม้, การชั่งกษยานที่ความเร็วมากกว่า 16 กิโลเมตรต่อชั่วโมง หรือการชั่งกษยานขึ้นเนินสูง และการวิ่งขึ้นบันได

**ข้อมูลเพิ่มเติม**

- |                                     |   |                    |              |   |     |
|-------------------------------------|---|--------------------|--------------|---|-----|
| 1. รับประทานสตอเบอร์รี่             | 2 | ลูก                | ก่อนการทดลอง | 3 | วัน |
| 2. คีมเปียร์                        | 1 | แก้ว               | ก่อนการทดลอง | 2 | วัน |
| 3. คีมชาเขียวธรรมชาติ ยี่ห้อ โออิชิ | 1 | ขวด 500 มิลลิลิตร  | ก่อนการทดลอง | 1 | วัน |
| 4. กินวิตามิน B                     | 1 | เม็ด 500 มิลลิกรัม | ก่อนการทดลอง | 5 | วัน |
| 4. กินวิตามิน C                     | 1 | เม็ด 500 มิลลิกรัม | ก่อนการทดลอง | 4 | วัน |

## RAW DATA

### PLASMA GLUCOSE CONCENTRATION (mg/dL) (n=15)

Time	Sucrose		Isomaltulose		Green tea		GT+SU		GT+ISO	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
0	72.41	1.98	75.93	2.24	73.53	2.46	75.40	3.18	75.13	2.13
15	102.58	2.79	92.37	2.60	71.15	2.17	97.23	4.61	81.74	2.91
30	128.11	3.04	101.08	3.37	71.48	2.72	112.00	4.47	93.96	2.94
45	119.93	4.54	99.18	3.01	73.78	2.35	103.48	5.39	93.85	3.28
60	106.66	5.54	94.74	3.75	73.76	2.58	89.95	5.03	90.32	2.47
90	83.24	3.69	85.83	3.84	73.68	1.73	78.50	3.59	84.36	3.62
120	72.35	2.84	79.12	3.09	71.71	1.95	77.67	3.51	82.11	2.88
AUCs	11784.80	341.61	10852.34	331.77	8743.41	239.85	10799.89	430.79	10401.49	321.19

### PLASMA INSULIN CONCENTRATION ( $\mu$ IU/mL) (n=15)

Time	Sucrose		Isomaltulose		Green tea		GT+SU		GT+ISO	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
0	7.35	0.87	7.24	0.80	7.11	0.79	8.46	1.16	7.84	0.87
15	33.10	5.43	15.89	4.02	6.63	0.73	25.16	4.00	11.66	1.14
30	57.45	8.23	24.39	4.07	6.08	0.87	33.83	5.94	17.88	2.13
45	48.08	4.70	25.30	4.09	6.58	0.78	31.68	3.71	21.32	2.94
60	27.92	3.38	22.18	3.93	6.49	0.75	23.45	3.37	19.39	2.41
90	17.21	1.93	20.14	2.57	6.54	0.87	17.51	2.50	16.15	2.03
120	10.34	1.74	13.61	1.43	6.36	0.72	16.48	2.54	15.98	1.48
AUCs	3570.92	358.22	2345.22	291.18	779.99	89.70	2885.11	309.22	1982.33	212.34

PLASMA ANTIOXIDANT CONCENTRATION [FRAP] ( $\mu\text{M}$ ) (n=15)

Time	Sucrose		Isomaltulose		Green tea		GT+SU		GT+ISO	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
0	892.73	60.67	877.79	33.35	860.89	50.39	847.32	55.60	873.91	28.78
15	877.10	60.18	867.21	32.86	893.12	49.61	861.84	54.01	892.02	29.61
30	892.57	58.94	865.14	30.33	911.08	55.01	871.42	54.44	906.88	30.02
45	894.76	62.00	880.08	34.99	900.42	50.00	878.20	54.82	915.61	30.52
60	894.76	62.00	878.51	29.45	901.45	50.24	876.49	54.37	914.97	26.39
90	874.01	58.86	873.26	36.76	891.14	47.00	866.59	55.68	901.76	27.54
120	885.31	61.04	865.18	35.29	890.09	47.82	858.01	51.69	891.34	28.34
AUCs	106294.0	7224.77	104711.8	3974.24	107393.95	5930.04	104115.6	6521.40	108281.8	3344.66

PLASMA MDA CONCENTRATION ( $\mu\text{M}$ ) (n=15)

Time	Sucrose		Isomaltulose		Green tea		GT+SU		GT+ISO	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
0	0.491	0.072	0.498	0.071	0.656	0.086	0.609	0.131	0.631	0.130
15	0.430	0.073	0.488	0.089	0.533	0.072	0.544	0.141	0.510	0.135
30	0.460	0.075	0.458	0.070	0.522	0.076	0.552	0.136	0.530	0.137
45	0.417	0.068	0.455	0.108	0.485	0.080	0.518	0.134	0.516	0.141
60	0.460	0.071	0.436	0.063	0.524	0.080	0.501	0.135	0.509	0.137
90	0.430	0.079	0.414	0.078	0.493	0.070	0.480	0.139	0.482	0.133
120	0.448	0.080	0.408	0.071	0.455	0.059	0.456	0.132	0.459	0.139
AUCs	53.255	8.556	53.108	8.836	61.431	8.659	61.289	16.246	60.886	16.265

## VITA

Passakorn Suraphad was born on February 15th, 1990 in Phrae Province, Thailand. He graduated high school from Phiriyalai School Phrae in 2009. After that he attended bachelor's degree at Mahidol University, Faculty of Public Health in Nutrition Department with the major of Nutrition and Dietetics. He graduated bachelor's degree with Bachelors of Science (Public Health) in 2011. After graduated with bachelor's degree, he was interested to develop his knowledge, experience and skill. Therefore, he entered to study in the master's degree at Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University in the department of Nutrition and Dietetics with the major of Applied Nutrition. His research focused on effects of replacing sucrose by isomaltulose in green tea beverage on postprandial glucose, insulin level and antioxidant capacity in healthy subjects and his thesis advisor was Dr. Kittana Makynen.