บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบัน มีรายงานการวิจัยจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่า การบริโภคอาหารจำพวกพืชที่เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคในร่างกายได้ (Gerber *et al*., 2002; Kris-Etherton *et al*., 2002, Serafini *et al*., 2002; วัลลภ วีชะรังสรรค์ และ ปราณีต โอปณะโสภิต, 2547; พรทิพย์ วิรัชวงศ์, 2548; นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิถีสุข, 2545; Shahidi, 1997) ประชาชนคนไทยจึงหันมานิยมบริโภคอาหารจำพวก พืช ผัก สมุนไพร และ ผลไม้ แทนการบริโภคเนื้อสัตว์มากขึ้น เพื่อให้สุขภาพของร่างกายดีขึ้น (นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิถีสุข, 2545) ทั้งนี้เนื่องจากร่างกายได้รับสารที่สามารถลดปริมาณอนุมูลอิสระภายในร่างกายได้ โดยกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในพืช ประกอบด้วย สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds), แคโรทีนอยด์, วิตามิน, และ เอนไซม์ (Shahidi, 1997)

อนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติ คือ ออกซิเจน สำหรับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกายนั้นเกิดจากการขนถ่ายอิเล็กตรอนในกระบวนการเผาผลาญอาหารให้เกิดเป็นพลังงานโดยการใช้ออกซิเจนในไมโตครอนเดรียของเซลล์ โดยอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะถูกจับโดยออกซิเจนทำให้ได้อนุมูลอิสระของออกซิเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา (Reactive Oxygen Species, ROS) ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ ROSเหล่านี้ ได้แก่ Hydroxyl Radical ($HO^{\cdot}$), Superoxide Anion Radical ($O^{\cdot}_2$), Peroxyl Radical ($LOO^{\cdot}$), Hydrogen Peroxide (H_2O_2), Singlet Oxygen ($^1O_2$), และ Hydroperoxyl Radical ($HOO^{\cdot}$) เป็นต้น (Fouad, 2005;วัลลภ วีชะรังสรรค์ และ ปราณีต โอปณะโสภิต, 2547) นอกจากนี้ ยังพบว่า ปริมาณของอนุมูลอิสระในร่างกายสามารถเพิ่มขึ้นได้จากปัจจัยภายนอก เช่น การได้รับรังสีอุลตร้าไวโอเล็ต หรือ จากการสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษ เช่น ควันบุหรี่ ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ และ ยาฆ่าแมลง เป็นต้น

ถ้าในร่างกายมีปริมาณของอนุมูลอิสระในปริมาณที่มากเกินไป ก็เป็นโทษต่อเซลล์ได้ เนื่องจาก อนุมูลอิสระสามารถทำปฏิกิริยากับไลโปโปรตีน (Lipoprotein) ที่เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการฉีกขาด และเกิดการไหลของสารต่าง ๆ ออกนอกเซลล์ ซึ่งมีผลทำให้เซลล์นั้นตายไป และ หากหลายๆเซลล์เกิดการตายก็ส่งผลทำให้เกิดความบกพร่องของอวัยวะตามมา (Halliwell and Gutteridge, 1990; Halliwell, Gutteridge and Cross, 1992; สโรช รัตนากร, 2547; โอภา วัชระคุปต์ และ คณะ, 2549) ซึ่งภาวะที่พบ ได้แก่ โรคไขมันอุดตันในหลอดเลือด, โรคหัวใจ, โรคมะเร็ง รวมถึงโรคทางระบบประสาทที่มีผลต่อการเสื่อมสภาพอื่นๆ เช่น โรค

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

พาร์กินสัน (Parkinson's diseases) และโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's diseases)เป็นต้น (Gerber *et al*., 2002; Kris-Etherton *et al*., 2002, Serafini *et al* , 2002; นวลศรี รักอริยะธรรม และ อัญชนา เจนวิถีสุข, 2545; วัลลภ วีชะรังสรรค์ และ ปราณีต โอปณะโสภิต, 2547; สโรช รัตนากร, 2547; Shahidi, 1997) ดังนั้นการบริโภคสารต้านอนุมูลอิสระที่มีตามธรรมชาติ คาดว่าสามารถช่วยให้ร่างกายต้านทานต่อการเกิดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระกลุ่ม Reactive Oxygen Species (ROS)

สารประกอบฟีนอลิกมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี และสามารถพบทั่วไปในพืชทุกชนิดเนื่องจากเป็นสารที่ได้จากเมทาบอไลท์ของเซลล์พืช (Metabolites) (Yanishlieva-Maslarova and Heinon, 2001, Chanwitheesuk *et al*., 2002) สารฟีนอลมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดสี และรสชาติ ในผักและผลไม้ ซึ่งเมื่อพิจารณาความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่น่าสนใจ คือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในผลไม้ ผัก ถั่ว เมล็ด และ ดอกไม้ (Kandaswaami and Middleton,1990; Beecher,1999)., กลุ่มกรดเอลลาจิค (Ellagic Acids) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในพืช โดยเฉพาะพืชเครื่องเทศ และสมุนไพร หรือ ผลไม้ เช่น สตรอเบอรี่ เชอรี่ และ องุ่น เป็นต้น (Nakatani, 1990) ซึ่งอนุพันธ์ของกรดเอลลาจิค ไม่เพียงแต่มีผลยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น แต่มีผลยับยั้งการกลายพันธุ์ การเกิดเนื้องอก และ การทำลายดีเอ็นเอ ที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (Lee *et al*., 1995; Fu, 2004)

การศึกษาวิจัยทางด้านพืชสมุนไพรในประเทศไทยได้มีการศึกษากันอย่างต่อเนื่องมาโดยตลอด โดยเน้นในด้านการรักษาโรค อย่างไรก็ตาม พืชสมุนไพรในประเทศไทยโดยเฉพาะในภาคตะวันออกมีจำนวนมากมาย จึงมีพืชสมุนไพรอีกหลายชนิดที่ยังไม่ได้นำมาศึกษาเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจัดว่าเป็นการใช้ประโยชน์ของพืชสมุนไพรในเชิงการป้องกันการเจ็บป่วยด้วยการส่งเสริมให้ประชากรมีสุขภาพที่แข็งแรง ซึ่งการที่จะสามารถบรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าวได้ จำเป็นต้องมีแหล่งรวมของข้อมูลพื้นฐานที่จำเป็นคือ ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สกัดจากพืชสมุนไพรชนิดต่างๆที่มีต่อการต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆที่พบในร่างกาย

แนวทางที่สำคัญอีกทางหนึ่งของการที่จะได้สารฟีนอลจากพืชสมุนไพร คือ การเพาะเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงแคลลัส ซึ่งมีรายงานการวิจัยหลายฉบับที่รายงานถึงผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการสร้างสารฟีนอลในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Bagratishvili *et al*., 1980; Ibrahim, and Edgar, 1976; Koretzkaya, and Zaprometov, 1975; Mok, 1987; Nosov, 1994, Angelova *et al*., 2001, Alemanno *et al*., 2003)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Zagoskina และคณะ (1983) รายงานว่า เซลล์พืชที่ได้รับจากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองสามารถสังเคราะห์สารฟีนอลได้แต่อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงชนิด และปริมาณได้ สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะ ไซโตไคนิน (Cytokinins) ซึ่งมีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อพืช มีความสำคัญต่อการชักนำให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์และสังเคราะห์สารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ซึ่ง Filonova (1985) รายงานว่า สารไคเนติน (Kinetin) ที่ความเข้มข้นที่พอเหมาะต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสของต้นยาสูบ และสามารถเพิ่มปริมาณกรดคลอโรเจนิก (Chlorogenic acid) ได้ Zagoskina และคณะ (1983) กล่าวว่าสารไคเนตินที่ระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ *Camellia sinensis* มีผลเพิ่มปริมาณสารฟีนอลที่ละลายน้ำได้ ในช่วงหนึ่งของการเพาะเลี้ยง ซึ่งผลไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Shah และคณะ (1967) ที่พบว่าสารไคเนตินที่ระดับดังกล่าวมีผลในการลดการสังเคราะห์ในเนื้อเยื่อ *Cassia fistula* L.

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงมุ่งหวังในการที่จะศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญของแคลลัส และการสร้างสารฟีนอลในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ของพืชสมุนไพรทางด้านอาหารและยาได้

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดที่ได้จากแคลลัสของพืชสมุนไพร ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างชนิดกันและที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging activity) ในสารสกัดจากแคลลัสของพืชสมุนไพรที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างชนิดกันและที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

3. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอส($ABTS^{\bullet+}$ scavenging activity) ในสารสกัดจากแคลลัสของพืชสมุนไพรที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างชนิดกันและที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. กำหนดชนิดของพืชสมุนไพรที่นำมาศึกษา เป็นพืชสมุนไพรที่มีรายงานทางการด้านเภสัชวิทยาแล้วว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพ สามารถรักษาโรคได้ โดยกำหนดชนิดของพืชสมุนไพรที่ศึกษาคือ มะระขี้นกและมะระจีน (*Momordica charantia* L.)

2. กำหนดวิธีการสกัดสารจากตัวอย่างสมุนไพร โดยการใช้เมธานอลเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงที่สุด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. กำหนดชนิดของอนุมูลอิสระที่ทำการทดสอบความสามารถการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จำนวน 2 ชนิด ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายและในอาหาร

สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

การใช้ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ต่างกันในการชักนำให้เกิดแคลลัสมีผลต่อการผลิตสารประกอบฟีนอลในเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงต่างกัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University