

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุม

Study on antioxidant activity of tea *Moringa Oleifera* Lam

ภัชชญญาณ์ กฤษศิริพงศ์กุล¹

ผศ.นพ.พันธ์ศักดิ์ สุกระฤกษ์²

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุมที่สกัดด้วยการต้มชา จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจำนวน 3 กลไกของชามะรุมทั้งหมด 4 ตัวอย่าง พบว่าชามะรุม A ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์สามารถต้านอนุมูล DPPH ได้ถึงร้อยละ 78.95±1.08 และมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Lipid Peroxidation Activity) ด้วยวิธี Ferric-Thiocyanate ดีที่สุด (ร้อยละ 36.06±2.13) นอกจากนี้ชามะรุม A มีฤทธิ์คีเลชันของโลหะ (Metal Chelating Activity) ด้วยวิธี Ferric metal chelating ดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 91.24±2.98 รองลงมาคือ ชามะรุม B, C และ D ตามลำดับ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 กลไกของชามะรุมทั้ง 4 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าชามะรุมแต่ละตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ อาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์เภสัชวิทยาของชามะรุมได้

คำสำคัญ: ชามะรุม, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน, ฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะ

ABSTRACT

Study on antioxidant activity of tea *Moringa Oleifera* Lam, which were extracted with water. The results show that all the recipes have 3 models of antioxidant activity for all Moringa tea. A tea at 100 percent concentration of free radical scavenging activity by DPPH assay up to 78.95±1.08 percentage and lipid peroxidation activity with Ferric-Thiocyanate assay (36.06±2.13 percentage). In addition to A tea metal chelating activity by Ferric Metal Chelating Assay found most of extracts was 91.24 ± 2.98 percent, the secondary of B tea, C tea and D tea respectively. This study has been suggested that the 3 mechanisms of Moringa tea 4 brands of the anti-oxidation activities might be related to bioactivities and pharmaceutical activities of Moringa tea.

Keywords: Moringa tea, Antioxidant activity, lipid peroxidation activity, Metal chelating activity

¹ นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยแพทยบูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

² อาจารย์ที่ปรึกษา

บทนำ

ประเทศไทยซึ่งปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญในการดูแลสุขภาพมากยิ่งขึ้น จนทำให้พฤติกรรมในการบริโภคเปลี่ยนไปอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะกลุ่มประชากรที่มีการศึกษาและอาศัยอยู่ในเมืองใหญ่เป็นกลุ่มประชากรที่มีความฉลาดและเลือกสินค้าที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพอยู่ในอันดับที่ 19 ของโลกรองจากประเทศในกลุ่ม AEC อย่างอินโดนีเซียเพียงชาติเดียว ประเทศเพื่อนบ้านอย่างเช่น เวียดนาม และกัมพูชา อยู่ในอันดับที่ 20 และ 21 รองจากไทยเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ประเทศที่มีประชากรสูง เช่น อินเดีย ญี่ปุ่น ก็เป็นตลาดที่น่าสนใจ เพราะมีมูลค่าตลาดอาหารเพื่อสุขภาพอยู่ในอันดับต้นๆ ของเอเชีย ซึ่งเป็นตลาดส่งออกที่สำคัญของไทย “อาหารเพื่อสุขภาพ” เป็นคำที่ดังขึ้นมาเรียกอาหารเพื่อให้ผู้บริโภคตระหนักว่าการทานอาหารครบ 5 หมู่ ถูกหลักโภชนาการ ปลอดภัย ไม่มีสารปนเปื้อน เลือกใช้วัตถุดิบที่ดีที่สุดในปริมาณที่พอเหมาะที่จำเป็น เพื่อแสดงความเป็นมิตรกับสุขภาพ หยุคสุขภาพเสื่อมแบบเร่งด่วนจากสารเคมีสังเคราะห์ในอาหาร

สมุนไพร (Medicinal Plant หรือ Herb) เป็นพืชที่กำเนิดจากธรรมชาติและนับเป็นเทคโนโลยีพื้นบ้านที่สำคัญ ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มากมาย เช่น เป็นยารักษาโรค บริโภคเป็นอาหาร อาหารเสริมสุขภาพ สีส้มอาหาร สีส้ม เครื่องสำอาง ตลอดจนนำมาทำเป็นเครื่องดื่มได้อีกด้วย โดยเฉพาะการนำสมุนไพรมาเป็นเครื่องดื่มที่ใช้รูปแบบในการบริโภคเช่นเดียวกับการชงชาโดยการชงชาเป็นการสกัดสารที่เป็นตัวยาสำคัญด้วยความร้อนในช่วงเวลาสั้นๆ เพื่อไม่ให้สารที่ไม่พึงประสงค์ถูกสกัดออกมา หรือเพื่อป้องกันไม่ให้สารที่ต้องการถูกทำลายด้วยความร้อนที่นานเกินไป รวมทั้งสามารถรักษากลิ่นรส ที่ต้องการของสมุนไพรชนิดนั้นๆ เอาไว้ด้วย สมุนไพรที่ใช้รูปแบบในการบริโภคเช่นเดียวกับชา มักจะเรียก ชาสมุนไพร โดยส่วนใหญ่มักจะเป็นสมุนไพรที่มีกลิ่นที่ต้องการคงไว้ไม่ให้สูญเสียไปกับความร้อนที่มากเกินไป เช่น ผลมะตูม ดอกกระเจี๊ยบ จิง ไบหม่อน ไบบัวบก ไบเศย ดอกเก๊กฮวย เป็นต้น

มะรุมนับเป็นพืชพื้นบ้านที่มีทั่วทุกภาคของประเทศไทย ทำให้มีการเรียกชื่อมะรุมนแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น คำว่ามะรุมนี่เป็นคำเรียกขานของคนภาคกลาง ในขณะที่ภาคอีสานบ้านเรียกว่า “ผักอีฮุม หรือ บักฮุม” ส่วนภาคเหนือเรียกว่า “บะค้อนก้อม” ส่วนชาวกะเหรี่ยงแถบกาญจนบุรีเรียกว่า “กานั่งแดง” ด้านชายขอบจังหวัดแม่ฮ่องสอนกลับให้ชื่อแก่มันอย่างชวนให้ลึกลับว่า “ผักเนื้อไก่” คราวไทยแต่โบราณนำมะรุมนำมาปรุงเป็นอาหารหลากหลายตำรับ ในขณะที่ภูมิปัญญาด้านการแพทย์แผนไทยก็นำแทบทุกส่วนของมะรุมน ใบ ดอก ผัก เมล็ด เปลือก ราก ฯลฯ โดยสรรพคุณทางสมุนไพรในแต่ละส่วนก็มีต่างๆ กันไป ปัจจุบันขณะนี้ ได้มีการโฆษณาสรรพคุณของมะรุมน้อยอย่างแพร่หลาย บ้างก็ว่าช่วยต้านมะเร็ง ช่วยรักษาเบาหวาน ความดันโลหิตสูง ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ช่วยบำรุงสุขภาพและสรรพคุณอื่นๆ อีกร้อยแปดพันประการ

ดังนั้น ทางคณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาสมุนไพร โดยการนำสารสกัดจากมะรุมน ที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายและนิยมนำมารับประทานเป็นพืชพื้นบ้านที่มีทั่วทุกภาคของ

ประเทศไทย มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากมะรุม โครงการวิจัยนี้ยังสามารถช่วยลดการนำเข้าสินค้ากลุ่มวัตถุดิบ สารออกฤทธิ์และผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศ สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ใช้ออกสู่ชุมชนเพื่อที่จะสามารถเกิดการพึ่งพาตนเองในสังคม ส่งเสริมการปลูกพืชพื้นเมืองเพื่อเป็นรายได้เสริมรองจากพืชเศรษฐกิจและเพื่อเป็นทางเลือกให้ผู้ที่ไม่ชอบรับประทานผัก แต่อยากได้คุณประโยชน์ด้านสมุนไพร รวมถึงผู้ที่ไม่ค่อยมีเวลาบำรุงสุขภาพ แต่อยากได้อาหารเสริมเพื่อเป็นการบำรุงทางลัด เป็นต้น หลังจากเสร็จสิ้นโครงการวิจัยนี้สามารถนำผลงานวิจัยที่ได้ไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ นอกจากนี้ยังถือว่าโครงการนี้เป็นการอนุรักษ์พืชธรรมชาติมิให้สูญหายอีกด้วย

ข้อควรระวังในการบริโภคมะรุม

- หญิงตั้งครรภ์หากรับประทานในปริมาณที่มากเกินไปก็อาจจะทำให้แท้งบุตรได้
- ผู้ป่วยโรคเลือด ก็ไม่ควรรับประทานมะรุมเช่นกันเพราะจะทำให้เม็ดเลือดแตกง่าย
- ผู้ที่เป็นโรคเก๊าท์ก็ควรรับประทานในปริมาณที่มากเกินไป เพราะมะรุมมีโปรตีนที่ค่อนข้างสูงมาก

แต่ทั้งนี้ก็ไม่ได้ความว่ามันจะเป็นพิษกับทุกๆ คนที่รับประทานเพราะคนไทยนิยมนำมาประกอบอาหารมานานมากแล้ว ซึ่งสำหรับผู้ที่คิดจะดูแลสุขภาพด้วยการซื้อมะรุมสกัดแคปซูลมารับประทานนั้น ก็ควรจะต้องระมัดระวังและควรเลือกซื้อมะรุมแคปซูลที่ผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยาด้วย

ในส่วนของใบมะรุมนั้นควรรับประทานใบสดที่ไม่แก่มากหรืออ่อนเกินไปโดยนำมาทำให้สุกแต่ไม่ควรถูกความร้อนนานเกินไปเพื่อให้ได้ประโยชน์จากสารอาหารอย่างเต็มที่ ซึ่งการใช้ใบนำมาประกอบอาหารสิ่งที่ต้องระวังก็คือไม่ควรให้เด็กทารกในวัยเจริญเติบโตถึง 2 ขวบรับประทานในปริมาณที่มาก เพราะในใบมะรุมมีธาตุเหล็กที่สูงมาก หรือเด็กที่อายุ 3-4 ขวบควรรับประทานแต่เพียงเล็กน้อย และไม่ว่าจะวัยไหนก็ตามก็ไม่ควรรับประทานในปริมาณมากเกินไป เพราะอาจจะทำให้ท้องเสียได้ (ไม่ได้เกิดกับทุกคน) ควรเลือกรับประทานอาหารให้หลากหลาย

ความเป็นพิษของมะรุม

มีรายงานฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัดจากส่วนรากและเมล็ดของมะรุมในสัตว์ทดลอง แต่ข้อมูลในปัจจุบันยังไม่มีรายงานในคนว่ามีฤทธิ์ดังกล่าว และการรายงานความเป็นพิษพบว่าสารสกัดเมล็ดมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงของกระต่ายรวมตัวกัน และเมื่อให้หนูแรทกินผงของเมล็ดดิบที่แก่ของมะรุมพบว่าทำให้ความอยากอาหาร การเจริญเติบโตและการใช้โปรตีนลดลง ขนาดของกระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ ตับอ่อน ไต หัวใจและปอดใหญ่ขึ้น ในขณะที่ต่อมไทมัสและม้ามมีลักษณะฝ่อลงและมีรายงานว่าทำให้เกิดการแท้ง ดังนั้นควรระมัดระวังการใช้ส่วนต่างๆ ของมะรุมในสตรีมีครรภ์

ความเป็นพิษมีการรายงานความเป็นพิษของมะรุมในระดับเซลล์และในสัตว์ทดลองว่า

- สารสำคัญ 4 (alpha-L-rhamnosyloxy) phenylacetone nitrile จากเมล็ดแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ใน Micronucleus test

- สารสกัดน้ำจากใบหรือ 90% เอทานอลในขนาด 175 มก./กก. ของน้ำหนักแห้ง เมื่อป้อนให้หนูแรทที่มีการผสมพันธุ์สามารถทำให้เกิดการแท้งได้
- สารสกัดน้ำของรากขนาด 200 มก./กก. น้ำหนักตัว เมื่อให้กับหนูแรทจะเหนียวน้ำให้เกิดทารกฝ่อ (Foetal Resorption) ในการตั้งครรภ์ระยะสุดท้าย
- สารสกัดเมล็ดด้วย 0.5 M borate buffer มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงของกระต่ายรวมตัวกัน เมื่อให้หนูแรทกินผงของเมล็ดคิบที่แก่ของมะรุุม โดยไม่จำกัดจำนวนเป็นเวลา 5 วัน พบว่าทำให้ความอยากอาหาร การเจริญเติบโตและการใช้โปรตีนลดลง ขนาดของกระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ ตับอ่อน ไต หัวใจและปอดใหญ่ขึ้น ในขณะที่ต่อมไขมันและม้ามมีลักษณะฝ่อลง โดยเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ

การทดสอบความเป็นพิษโดยให้หนูเม้าส์กินส่วนราก หรือนิดสารสกัดไม่ระบุชนิดตัวทำละลายเข้าใต้ผิวหนังในขนาด 10 กก. น้ำหนักตัว ไม่พบความเป็นพิษ

การทดลองในสัตว์เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่มีประโยชน์เพื่อการทำวิจัยต่อยอดไปยังการทดลองในมนุษย์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าตัวทำละลายที่นักวิจัยใช้ในการสกัดจะมีทั้ง น้ำและแอลกอฮอล์ เพื่อให้สะดวกต่อการป้อนสัตว์ทดลอง ซึ่งข้อมูลข้างต้น เป็นความรู้ที่จะทำให้สามารถหาส่วนสกัดที่มีสาระสำคัญได้ หากจะรับประทานใบ เนื้อในฝัก หรือดอกมะรุุมซึ่งเราใช้เป็นอาหารมานานแล้ว ก็อาจทำได้แต่อย่าหวังผลมากนัก และไม่ควรรับประทานในปริมาณมากหรือติดต่อกันนานเกินไป ซึ่งอาจมีการสะสมสารบางอย่างและอาจเป็นพิษได้และจากรายงานความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง ซึ่งพบว่าทำให้เกิดการแท้ง ดังนั้นควรระมัดระวังการใช้ส่วนต่างๆ ของมะรุุมในสตรีมีครรภ์

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชามะรุุม ซึ่งประกอบไปด้วย 4 ตัวอย่างที่ได้รับความนิยมและมีการจำหน่ายในท้องตลาดเป็นอย่างมาก

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมชามะรุุม

การสกัดด้วยวิธีการต้มชา โดยการต้มน้ำร้อนในเดือดจากนั้นเติมน้ำร้อนลงไปในบีกเกอร์ ปริมาณ 100 ml และนำผงชาแต่ละยี่ห้อเทลงไปในบีกเกอร์ คนให้ผงชาละลายจนหมด แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่อไป

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging Assay) ด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)

เตรียมหาตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10, 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่าง แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 μ l ลงใน 96-well plate เติมสารละลาย 0.1 mg/ml DPPH ปริมาตร 100 μ l เขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากันเก็บไว้ในที่มีมืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ

$$\% \text{ Radical scavenging activity} = \frac{[(A-B) - (C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

- โดยที่
- A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH
 - B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control
 - C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง
 - D = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่เติม DPPH

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของชาตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ 50% (SC₅₀) จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัด (Boonpisuttinant *et al.*, 2012)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of Lipid Peroxidation)

เตรียมหาตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10, 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่าง แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 μ l ลงใน 96-well plate จากนั้นเติมสารละลาย Linoleic acid emulsion 1 mg/ml ใน 50% DMSO ปริมาตร 50 μ l จากนั้นเติมสารละลาย NH₄SCN 1 mg/ml ใน 1% HCl ปริมาตร 50 μ l จากนั้นเติม FeCl₂ 1 mg/ml ใน 1% HCl ปริมาตร 50 μ l เขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มีมืดนาน 60 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 490 nm ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณฤทธิ์การต้านการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน จากสมการ

$$\% \text{ Lipid peroxidation inhibition activity} = \frac{[(A-B) - (C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

- โดยที่
- A = ค่าการดูดกลืนแสงของ FeCl₂
 - B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control
 - C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง
 - D = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่มี FeCl₂

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของชาตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ 50% (LC₅₀) จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันและความเข้มข้นของสารสกัด (Boonpisuttinant *et al.*, 2012)

การทดสอบฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะ (Chelation Activity) ด้วยวิธี Ferrous metal Chelating

เตรียมชาตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1, 10, 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 µl ลงใน 96-well plate จากนั้นเติมสารละลาย Ferrozene 1 mg/ml ใน 1% HCl ปริมาตร 50 µl จากนั้นเติม FeCl₂ 1 mg/ml ใน 1% HCl ปริมาตร 50 µl เขย่าเพื่อให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ในที่มืดนาน 60 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 nm ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณฤทธิ์การเกิดคีเลชันของโลหะจากสมการ

$$\% \text{ Metal chelating activity} = \frac{[(A-B) - (C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

- โดยที่
- A = ค่าการดูดกลืนแสงของ FeCl₂
 - B = ค่าการดูดกลืนแสงของ control
 - C = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่าง
 - D = ค่าการดูดกลืนแสงของ ตัวอย่างที่มี FeCl₂

จากนั้น คำนวณหาค่าความเข้มข้นของชาตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ 50% (MC₅₀) จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดคีเลชันของโลหะและความเข้มข้นของสารสกัด (Boonpisuttinant *et al.*, 2012)

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชามะรุม

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชามะรุมทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ซึ่งแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันในส่วนผสมของชามะรุม ดังตารางที่ 1 ในส่วนของการเตรียมชามะรุม โดยได้นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 กลไก ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน และฤทธิ์คีเลชันของโลหะ

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบชามะรุมนของแต่ละยี่ห้อ

ตัวอย่าง/ยี่ห้อ	ส่วนประกอบ
ชามะรุมน A	ผงมะรุมน 100 %
ชามะรุมน B	ฝักมะรุมน 90% ดัสนแห้ง 5% และ น้ำตาล 5%
ชามะรุมน C	มะรุมน 80% และ หญ้าหวาน 20%
ชามะรุมน D	มะรุมน 90% และ น้ำตาลกรวด 10%

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging Activity)

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging Activity) ด้วยวิธี DPPH ซึ่ง DPPH เป็นอนุมูลอิสระในโครเจนที่เสถียรและมีสีม่วง แต่เมื่อสารทดสอบหรือสารสกัดที่มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจน กับ DPPH จะทำให้ DPPH เปลี่ยนเป็นสีเหลือง (Sharma *et al.*, 2009) จากผลการทดลองพบว่าชามะรุมนทั้งหมดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยชามะรุมนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ ชามะรุมน A ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถต้านอนุมูล DPPH ได้ถึงร้อยละ 78.95±1.08 รองลงมาคือ ชามะรุมน C และชามะรุมน D สามารถต้านอนุมูล DPPH ได้เท่ากับร้อยละ 64.97±1.55 และ 55.53±1.80 ตามลำดับ นอกจากนี้ ชามะรุมน B มีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH ได้น้อยที่สุด ซึ่งอาจเกิดจากส่วนผสมของชาที่มีความเข้มข้นน้อยและมีส่วนประกอบอื่นๆ จึงทำให้ชามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้น้อย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชามะรุมน

สารสกัด	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [ร้อยละ]
A	78.95±1.08 ^b
B	3.47±0.92 ^c
C	64.97±1.55 ^c
D	55.53±1.80 ^d

หมายเหตุ : ^{a-c} คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of Lipid Peroxidation Activity)

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Inhibition of Lipid Peroxidation Activity) ด้วยวิธี Ferric thiocyanate เป็นการศึกษาสารสกัดที่สามารถยับยั้งการสลายตัวของไขมันจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Linoleic Acid กับโลหะไอออน (Fe^{2+}) (Kim *et al.*, 2008) จากการทดลองพบว่าชามะรุมทุกตัวอย่างทั้งหมดมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน โดยพบว่าชามะรุม A ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันได้มากที่สุด (ร้อยละ 36.06 ± 2.13) รองลงมาคือ ชามะรุม C สามารถยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันได้ร้อยละ 12.89 ± 1.21 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้พบว่า ชามะรุม D และ ชามะรุม B มีความสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้น้อยร้อยละ 9.23 ± 1.00 และ 6.99 ± 0.60 ตามลำดับ ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ จากงานวิจัยของ Fan และคณะ (2013) พบว่า สารกลุ่มแทนนิน มีผลในการลดการสะสมของไขมันและลดการแตกตัวของกรดไขมันจากปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชัน

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมันของสารสกัดชามะรุม

สารสกัด	ฤทธิ์ยับยั้งเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน [ร้อยละ]
A	36.06 ± 2.13^a
B	9.23 ± 1.00^c
C	12.89 ± 1.21^b
D	6.99 ± 0.60^c

หมายเหตุ : ^{a-c} คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

การศึกษาฤทธิ์คีเลชันของโลหะ (Metal Chelating Activity)

การศึกษาฤทธิ์คีเลชันของโลหะ (Metal Chelating Activity) ด้วยวิธี Ferrous Metal Chelating เป็นตรวจสอบหาสารสกัดที่สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาของสารเฟอร์โรซีน (Ferrozine) กับไอออนของโลหะ (Kim *et al.*, 2008) ซึ่งจากผลการทดลองดังแสดงใน ตารางที่ 4 พบว่าชามะรุมทุกตัวอย่างทั้งหมดมีฤทธิ์คีเลชันของโลหะ โดยพบว่าชามะรุม A มีฤทธิ์คีเลชันของโลหะดีที่สุดในที่นี้เท่ากับร้อยละ 91.24 ± 2.98 รองลงมาคือ ชามะรุม B และชามะรุม C ตามลำดับ ซึ่งจากงานวิจัยองค์ประกอบของมะรุมพบว่า มะรุมมีสารฟลาโวนอยด์สำคัญคือ รูทีนและเคอเซทิน (Rutin และ Quercetin) สารอัลคาลอยด์ (Alkaloid) สารลูทีนและกรดแคฟีโอลลิกควินิก (Lutein และ Caffeoylquinic Acids) จากงานวิจัยของ Ebrahimzadeh และคณะ

(2008) พบว่าสารประเภทฟลาโวนอยด์และแทนนินมีฤทธิ์ในการจับโลหะได้ดี อีกทั้งงานวิจัยของ Mohan และคณะ (2012) ยังพบว่าที่มีสารกลุ่มแทนนินและฟีนอลิกมีฤทธิ์ในการจับโลหะได้เช่นกัน

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ที่เลชันของโลหะของสารสกัดชามะรุม

สารสกัด	ฤทธิ์ที่เลชันของโลหะ [ร้อยละ]
A	91.24±2.98 ^a
B	83.63±0.64 ^{b,c}
C	80.05±2.31 ^c
D	69.94±1.34 ^d

หมายเหตุ : ^{a-d} คือ ความแตกต่างในคอลัมน์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของชามะรุมทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วย ชามะรุม A, B, C และชามะรุม D ซึ่งแต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันในส่วนผสมของชามะรุม ในส่วนของการเตรียมชามะรุม โดยได้นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 กลไก ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันและฤทธิ์ที่เลชันของโลหะ พบว่าชามะรุม A ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์สามารถต้านอนุมูล DPPH ได้ถึงร้อยละ 78.95±1.08 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน พบว่าชามะรุม A ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันได้มากที่สุด (ร้อยละ 36.06±2.13) และชามะรุม A มีฤทธิ์ที่เลชันของโลหะดีที่สุดเท่ากับร้อยละ 91.24±2.98 รองลงมาคือ ชามะรุม B และชามะรุม C ตามลำดับ ดังนั้น จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันทั้ง 3 กลไกของชามะรุมแต่ละตัวอย่างทั้งหมด 4 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าชามะรุมแต่ละตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ ซึ่งมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชาดูแลสุขภาพ และเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับพืชสมุนไพรไทยได้ สามารถถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ใช้ออกสู่ชุมชนเพื่อที่จะสามารถเกิดการพึ่งพาตนเองในสังคมและส่งเสริมการปลูกพืชพื้นเมืองเพื่อเป็นรายได้เสริมรองจากพืชเศรษฐกิจ เป็นต้น สามารถนำไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ได้ นอกจากนี้ยังถือว่าโครงการนี้เป็น การอนุรักษ์พืชธรรมชาติมิให้สูญหายอีกด้วย

ผลการทดสอบที่ได้เป็นการศึกษาวิจัยในห้องปฏิบัติการและแสดงให้เห็นถึงการมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจริงของชามะรุม ซึ่งผลที่ได้เป็นผลเบื้องต้น ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงสารที่ออกฤทธิ์สำคัญชนิดอื่นๆ อีก

ข้อเสนอแนะ

1. ควรนำชามะรุม ไปทำศึกษาทดลองเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกลิ่นรสสุขภาพ ซึ่งเป็นการทดสอบในรูปแบบชา เพื่อประเมินถึงความปลอดภัยและประสิทธิภาพของชา มะรุม

2. ทำการทดสอบเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง ฤทธิ์ต้านเบาหวานหรือฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก รวมถึงการศึกษาความเป็นพิษของชามะรุม เพื่อยืนยันประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบของสมุนไพร ซึ่งจะทำให้สามารถต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชาเพื่อสุขภาพต่อไปได้ต่อไป

3. เมื่อต้องการกินอาหารให้เป็นยา ต้องไม่กินอาหารตามคำนิยมหรือความเชื่อ แต่ควรเลือกกิน โดยใช้ความรู้และรับข้อมูลจากหลายๆ แหล่ง พร้อมศึกษาและชั่งน้ำหนักข้อมูลให้ดี ใช่ว่าเมื่อกินอาหารชนิดนั้นในปริมาณมากแล้วจะส่งผลในด้านดีทั้งหมด จึงต้องพิจารณาด้วยว่ากินส่วนไหน ปริมาณเท่าใด ความถี่ มากน้อยเพียงไรและในรูปแบบใด จึงจะสามารถป้องกันและรักษาโรคได้

บรรณานุกรม

- นัตราภรณ์ และคณะ. (2551). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 21(3): 282-284.
- บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 21(3), 282-284.
- ภูริชยา หอสุวรรณ. (2556). การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ และอิทธิพลของอาหารที่ส่งผลต่อมนุษย์ (ปริญญาโทพนธ์มหาบัณฑิต). สงขลา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.
- รัชพล พะวงศ์รัตน์, ผกามาศ แดงชอบกิจ, และ จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล. (2557). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพรจากใบมะรุม, *Agricultural Sci. J.*, 45(2) (Suppl.), 277-280.
- อธิกา จารุโชคิกมล, ปวีตรา พูลบุตร, จริยาพร เพรศแก้ว, ปรีณัฐดา สามสี, รุ่งนภา ปาพรม, และ ศิวาภรณ์ แคนรักษ์. (2556). ฤทธิ์ของสารสกัดใบมะรุมต่อการสลายไขมันในเซลล์ไขมันหนูขาว, *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม*, 32 (2), 129.
- โอภา วัชรคุปต์. (2550). *สารต้านอนุมูลอิสระ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: นิเวศมิตรการพิมพ์.
- Boonpisuttinant, K., Manosroi, A., Rahmat, D. & Manosroi, J. (2012). Enhancement of *In Vitro* Anti-Proliferative Activity and Intestinal Membrane Permeation of Thai Medicinal Plant Extracts Selected from the MANOSROI II Database by Loading in Chitosan-Thioglycolic Acid (TGA) Nanoparticles. *Advanced science letters*, 17(1), 206-216.
- Shabbir, M., Khan, M.R. & Saeed, N. (2013). Assessment of phytochemicals, antioxidant, anti-lipid peroxidation and anti-hemolytic activity of extract and various fractions of *Maytenus royleanus* leaves. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(143), 1-13
- Sharma, O.P. and Bhat, T.K., 2009, DPPH antioxidant assay revisited, *Food Chem.* 113, 1202-1205.
- Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T. & Sato, T. (1994). Electrochemical method for estimating the antioxidative effect of methanol extracts of crude drugs. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 42, 1663–1665.
- Zheng C, Dongb Q., Chenb H., Congb Q., Dingb K., 2015. Structural characterization of a polysaccharide from *Chrysanthemum morifolium* flowers and its antioxidant activity. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, 113-121.