

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และประโยชน์ของไมยราบ

ไมยราบ

ชื่อทางวิทยาศาสตร์	<i>Mimosa pudica</i>
ชื่อวงศ์	Mimosaceae หรือ Fabaceae (Leguminosae-Mimosoideae)
ชื่อสามัญ	Sensitive plant, sleeping grass, shameplant
ชื่อไทย	กระเทียมขอด หนามหญ้าราบ (จันทบุรี) กะหัง (ภาคใต้) ระงับ (ภาคกลาง) หงับพระพาย (ชุมพร) หญ้าปันยอด (ภาคเหนือ)

ชีววิทยา ไมยราบจะขึ้นเป็นวัชพืชทั่วไป สามารถเจริญเติบโตได้ดีในที่ชื้นแฉะ โดยมีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้และประเทศไทยได้นำเข้ามาขยายพันธุ์โดยกรมทางหลวงเพื่อช่วยในการปกคลุมหน้าดิน สกุลไมยราบมีสมาชิกประมาณ 480 ชนิด ส่วนใหญ่มีการกระจายพันธุ์ในอเมริกาใต้ ในไทยพบขึ้นเป็นวัชพืช 3 ชนิดคือ ไมยราบ *Mimosa pudica* L. ไมยราบขาว *Mimosa diplotricha* C. และไมยราบคัน *Mimosa pigra* L. (องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2556) ลักษณะของต้นไมยราบแสดงดังภาพ 1



ภาพ 1 ลักษณะของต้นไมยราบ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไมยราบเป็นไม้ล้มลุกมีอายุหลายปี ทอดเลื้อยตามพื้นดิน บางครั้งสูงถึง 1 เมตร มีขนหยาบปกคลุมลำต้น แกนก้านใบ ท้องใบ และช่อดอก ลักษณะของใบ ช่อดอก ฝักและเมล็ด ดังนี้

ใบ ลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนก 2 ชั้น แกนกลางรวมก้านใบยาว 2.5-5 เซนติเมตร ใบประกอบย่อยมี 1-2 ใบ ยาว 1.5-7 เซนติเมตร ใบย่อยมี 12-25 คู่ รูปขอบขนาน หรือคล้าย ๆ รูปเกี้ยว ยาว 0.5-1 เซนติเมตร ใบมีปฏิกิริยาไวต่อการสัมผัส โดยใบจะหุบลงทันที หรือคล้าย ๆ รูปเกี้ยว ยาว 0.5-1 เซนติเมตร ใบมีปฏิกิริยาไวต่อการสัมผัส โดยใบจะหุบลงทันที

ช่อดอก มีลักษณะกลมฟู สีม่วงออกเขียวหรือเป็นคู่ ตามซอกใบ ก้านช่อดอกยาว ประมาณ 2.5-4 เซนติเมตร ดอกจำนวนมาก ไร่ก้าน กลีบเลี้ยงเล็กมากประมาณ 0.1 มิลลิเมตร กลีบดอกรูปประฆังแคบ ยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร กลีบดอกมนกลม ยาว 0.5-0.8 มิลลิเมตร เกสรเพศ ผู้มี 4 อัน รังไข่ยาวประมาณ 0.5 มิลลิเมตร

ฝักและเมล็ด ผลมีลักษณะเป็นฝักแบน โค้งเล็กน้อย ปลายมีหนามแหลม เมล็ดกลม แบน (นพพล, 2556)

ประโยชน์ของไมยราบ

ส่วนต่าง ๆ ของต้นไมยราบ เช่น ราก ลำต้น ใบ และทุกส่วนของไมยราบมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา มีตัวอย่างดังนี้

ราก แก้ไอ ขับเสมหะ แก้หลอดลมอักเสบเรื้อรัง แก่ระบบการย่อยอาหารของเด็กไม่ดี บำรุงกระเพาะอาหาร ทำให้ตาสว่าง ระงับประสาท แก้บิด ขับปัสสาวะ รักษาโรคปวดเวลา มีประจำเดือน แก่ริดสีดวงทวาร ปวดข้อ กระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง (นพพล, 2556)

ต้น ขับปัสสาวะ แก้ไตพิการ แก้ทางเดินปัสสาวะอักเสบ ขับระดูขาว ขับโลหิต

ใบ แก้เริ่ม ฐสวัสดิ์ โรคพุพอง

ทั้งต้น ขับปัสสาวะ แก้ไตพิการ แก้ทางเดินปัสสาวะอักเสบ ขับระดูขาว แก้ไข้ช้อก หัด แก่นอนไม่หลับ แก่กระเพาะอาหารอักเสบ แก่ลำไส้อักเสบ แก่ผื่นคัน แก่แผลฝี (นพพล, 2556)

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

รูปแบบการสกัดสารจากสมุนไพร

สารสกัดจากสมุนไพรส่วนใหญ่เป็นสารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งไม่ได้ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ มีส่วนผสมซับซ้อนของสารประกอบหลายชนิด การเตรียมสารสกัดหยาบนี้นั้นจะใช้เวลาในการเตรียมสั้นกว่า ต้นทุนการผลิตถูกกว่าสารบริสุทธิ์ ช่วยให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สูงขึ้น ทำให้มีการใช้สารสกัดจากสมุนไพรในรูปสารสกัดหยาบมากกว่า สารสกัดจากสมุนไพร ส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารสกัดของเหลว (liquid extract) โดยสารสกัดในรูปแบบของเหลวจะมีตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งจะเตรียมโดยการหมักหรือแช่ในคอลัมน์หรือโหลแก้ว โดยมีตัวทำละลายเป็นน้ำ และเอทานอล จากนั้นระเหยตัวทำละลายออก จนได้ความเข้มข้นที่แน่นอน

เทคนิคการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร

ในการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคต่างๆ เพื่อให้สารสกัดมีปริมาณสารสำคัญหรือสารที่ต้องการในปริมาณสูง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตสารสกัดจากสมุนไพรให้มีคุณภาพมาตรฐาน ตัวอย่างเทคนิคต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพร เช่น การทำสารสกัดให้เข้มข้นด้วยการระเหยโดยใช้ความร้อน ใช้ในกรณีที่มีปริมาณสารสกัดน้อย แต่วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และการทำสารสกัดให้เข้มข้นด้วยการระเหยภายใต้สภาวะลดความดันโดยทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดด้วยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ เนื่องจากภายใต้สภาวะลดความดัน จุดเดือดของสารละลายในสารสกัดจะลดต่ำลง การสลายตัวของสารออกฤทธิ์ลดลง และอัตราการระเหยที่อุณหภูมิห้องมีมากขึ้น นอกจากนี้จะมีกระบวนการทำสารสกัดให้แห้งด้วยเทคโนโลยี freeze drying และเทคโนโลยี spray drying

กระบวนการในการเตรียมสารสกัดหยาบมีหลายวิธีขึ้นกับชนิดและคุณสมบัติของสารที่ต้องการสกัด โดยต้องเลือกให้เหมาะสมก่อนที่จะเลือกวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ออกจากองค์ประกอบอื่น ๆ ในสมุนไพร วิธีการเตรียมสารสกัดที่นิยมทำกันมีหลายวิธีการได้แก่

1. มาเซอร์ชัน

เป็นวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชโดยวิธีการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลาย จนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่ม และตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปละลาย องค์ประกอบภายในสมุนไพรออกมาได้ การหมักสมุนไพรควรทำในภาชนะที่มีฝาปิดสนิท ทำเป็น เวลานาน 7 วัน หรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด เนื่องจากเป็นวิธีการที่ไม่ ใช้ความร้อน จึงเหมาะสมกับการสกัดสารออกฤทธิ์ที่ไม่ทนต่อความร้อน

2. เพอร์โคเลชัน

เป็นวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชสมุนไพรโดยการปล่อยให้ตัวทำละลายไหล ผ่านผลสมุนไพรอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายขององค์ประกอบจากสมุนไพรออกมา จัดเป็นวิธีการสกัดที่ ดีสำหรับการสกัดสารจากสมุนไพรแบบสมบูรณ์และไม่ต้องใช้ความร้อน แต่มีข้อเสียคือ เปลืองตัว ทำละลายในการสกัดและใช้เวลาในการสกัดนาน

3. การสกัดแบบต่อเนื่อง

เป็นวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรทำนองเดียวกันกับเพอร์โคเลชันแต่ต้อง ใช้ความร้อนเข้าช่วยและใช้ Soxhlet extractor ซึ่งเป็นระบบปิดโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ ตัวทำละลายผ่านสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อยๆ จนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัด ออกมา

4. การกลั่น

การกลั่นโดยใช้ไอน้ำ วิธีนี้ใช้กับพืชสดโดยวางบนตะแกรง แล้วผ่านไอน้ำเข้าไป โดยตรง โดยไม่ต้องมีการหมักพืชด้วยน้ำก่อน จัดเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายน้อย

5. การบีบหรือการอัด

ใช้กับน้ำมันหอมระเหยที่ใช้วิธีการกลั่นไม่ได้ เนื่องจากถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกความ ร้อน เป็นการใช้แรงดันบีบหรืออัด ทำให้ผนังเซลล์แตกมีน้ำมันไหลออกมา

การแยกสารสำคัญจากสารสกัดสมุนไพร

เนื่องจากสารสกัดหยาบจากสมุนไพร ประกอบด้วยสารหลายชนิดมากมาย ซึ่งมีทั้ง สารออกฤทธิ์ และองค์ประกอบอื่นๆ ที่ไม่ต้องการ เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สูง ดังนั้นการแยกกลุ่มสารสำคัญจัดเป็นขั้นตอนที่สำคัญ ซึ่งทำได้ 2 แบบ คือ การแยกสารโดยใช้คุณสมบัติและปฏิกิริยาทางเคมี เช่น ความเป็นกรด ความเป็นด่าง การละลาย เป็นต้น และการแยกสารโดยใช้คุณสมบัติทางฟิสิกส์ เช่น การกลั่น การเหวี่ยง การสกัดด้วยของเหลวสองชนิด การตกผลึกแยกส่วน การตกตะกอน โดยวิธีการที่นิยมใช้ในการสกัด ได้แก่ โครมาโทกราฟี เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งเกี่ยวข้องกับการแยกสารออกจากสารผสม การตรวจสอบองค์ประกอบหรือการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ การตรวจสอบสิ่งเจือปนหรือการวิเคราะห์เชิงปริมาณ และอื่นๆ โดยอาศัยความแตกต่างของการกระจายตัวขององค์ประกอบในสารตัวอย่างระหว่างวัฏภาคเคลื่อนที่กับวัฏภาคคงที่ ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีขององค์ประกอบหรือสารแต่ละชนิดที่อยู่ในสารตัวอย่างที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อวัฏภาคทั้งสอง ทำให้สารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ผ่านวัฏภาคคงที่ในอัตราที่แตกต่างกัน

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสกัดโดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี (spectroscopic methods) หมายถึง เทคนิคที่เกี่ยวข้องกับแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีลักษณะเป็นแถบพลังงาน (spectrum) โดยมีความยาวคลื่นตั้งแต่ในช่วงของคลื่นวิทยุ คลื่นไมโครเวฟ คลื่นอินฟราเรด คลื่นในช่วงที่ตามองเห็น (visible) ไปจนถึงคลื่นอัลตราไวโอเลต เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมี สามารถให้ข้อมูลการวิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพ (qualitative) และเชิงปริมาณ (quantitative) โดยใช้หลักการของการดูดกลืนพลังงาน หรือการแผ่รังสีจากอะตอมของธาตุ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงพลังงานเกิดขึ้น ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของระดับพลังงาน ส่วนอีกกลุ่ม คือ การวิเคราะห์โมเลกุลของสาร (molecular analysis) สามารถวิเคราะห์เชิงคุณภาพ โดยตรวจสอบได้จากคุณสมบัติเฉพาะ หรือระดับพลังงานที่เกิดจากการสั่น (vibrational state) หรือระดับพลังงานของการหมุน (rotational state) การเปลี่ยนแปลงของระดับพลังงาน ทำให้นำไปสู่การสร้างเครื่องมือที่ทันสมัยและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ทางเคมีที่ เช่น Ultraviolet-visible spectrometer (UV-Vis), Fourier transform infrared spectrometer (FTIR), Raman spectrometers, Nuclear magnetic resonance spectrometer (NMR), Mass spectrometer (MS) เป็นต้น (แมน, 2554)

สารต้านออกซิเดชัน

อนุมูลอิสระ

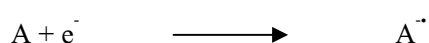
อนุมูล หรืออนุมูลอิสระ (ไมตรี และวรพล, 2555) คือ อะตอม โมเลกุลหรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ (unpaired electron) อย่างน้อย 1 ตัวโคจรรอบวงนอกสุด อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะเป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลอิสระในสถานะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คือ อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล A[•] อนุมูล A⁻ และอนุมูล A⁺⁺ อนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวชนิดอื่น อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก ทำให้อนุมูลอิสระไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็ว จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบๆ โดยดึงหรือให้อิเล็กตรอนแก่โมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เสถียรและเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O₂⁻) อนุมูลไฮดรอกซี (•OH) อนุมูลอัลคอกซี (RO[•]) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี (HO₂[•]) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลอิสระที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และในขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ (•NO) อนุมูลวิตามินอี และอนุมูลวิตามินซี เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา

การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่ต่างกันดังนี้

1. การแตกของพันธะโควาเลนต์แบบโฮโมไลซิส



2. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



3. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวจากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า

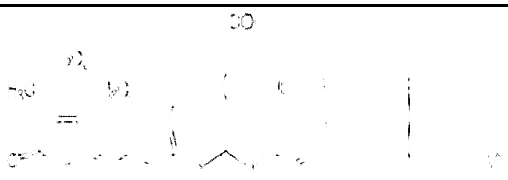
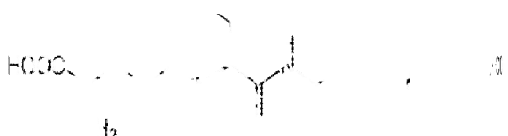
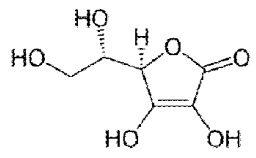
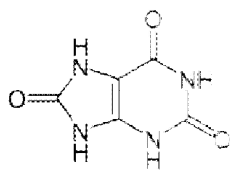


ดังนั้นเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดพิษต่อเซลล์ในร่างกายจึงต้องมีการขจัดหรือกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป โดยใช้สารต้านอนุมูลอิสระ หรือเรียกว่า สารแอนติออกซิแดนซ์ เป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เช่น กรดยูริก บิลิรูบิน วิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบตาแคโรทีน และยูบิควิโนน นอกจากนี้ยังพบสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอก เช่น สารประกอบฟีนอลิก ซึ่งพบมากในพืช ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ชา โกโก้ เป็นต้น

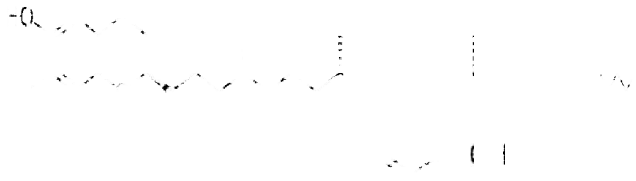
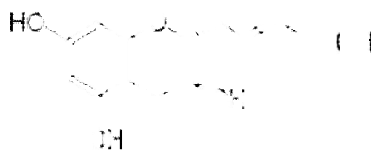
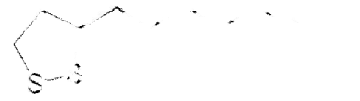
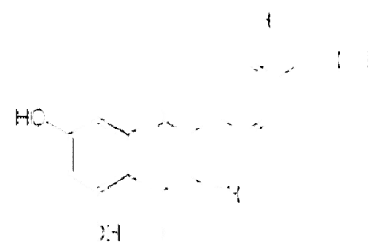
สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (พีระพรรณ, 2555; พรทิพย์, 2557) คือ สารที่ทำลายอนุมูลอิสระ ลักษณะสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ สารที่สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระหรือสารที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนนั้น ตัวสารต้านอนุมูลอิสระจะมีอิเล็กตรอนอิสระอยู่ จำเป็นต้องมีสารอื่นมาช่วยให้เกิดการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ตัวแรกขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิดทั้งที่เป็นโมเลกุลขนาดเล็กหรือเอนไซม์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงทำหน้าที่ป้องกันสารชีวโมเลกุลที่สำคัญภายในร่างกาย เช่น ไขมัน ดีเอ็นเอ และเอนไซม์ที่สำคัญ หรือป้องกันโครงสร้างของเซลล์ เช่น เยื่อผิวของเซลล์หรือออร์แกเนลล์ นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระยังมีความสามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเป็นลำดับ โดยออกฤทธิ์ที่จุดต่างๆ ของการสร้างอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตามในภาวะปกติร่างกายของคนเรา จะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสถานะที่สมดุล และส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือ เบต้าแคโรทีน (β -carotinoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ตัวอย่าง สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น เอนไซม์คะตะเลส (catalase) กลูตาไทโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) และสารขจัดอนุมูลหรือโปรตีนบางชนิดที่สามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิด (ไมตรี และวรพล, 2555) เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (carotinoid) เป็นต้น (เจนจิรา และประสงค์, 2554) แสดงดังตาราง 1

ตาราง 1 ตัวอย่างโครงสร้างสารขจัดอนุมูลที่สามารถพบได้ในธรรมชาติ

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบ ในธรรมชาติ	โครงสร้างทางเคมี
Bilirubin	
Glutathione	
Ubiquinone	
Ascorbic acid	
Uric acid	

ตาราง 1 (ต่อ)

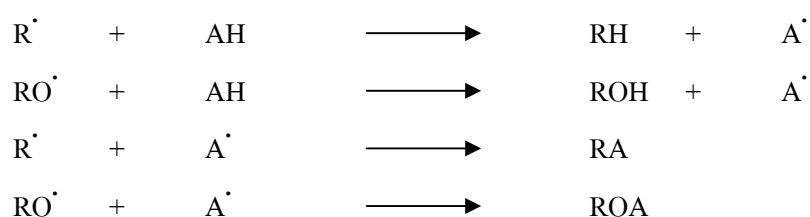
สารต้านอนุมูลอิสระที่พบ ในธรรมชาติ	โครงสร้างทางเคมี
α -Tocopherol	
Catechin	
α -Lipoic acid	
β -Carotene	
Quercetin	

กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายกลไก เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) จับกับโลหะ (metal chelation) การหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

การดับจับอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้ง อนุมูลอิสระได้โดยการทำให้อิโมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้นซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ดังสมการ



การจับกับโลหะ

โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ฟลาโวนอยด์ ฟอสฟอริกแอซิด (phosphoric acid) และ ซิตริก แอซิด (citric acid) เป็นต้น (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

การหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ

วิตามินอี (α -tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเชื้อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron-acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxy ($\text{ROO}^\cdot$) (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ

สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแกลเลต (gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ลิพอกซีจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้ (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

วิธีการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

วิธี Scavenging activity of ABTS radical

เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ซึ่งใช้ reagent คือ [2, 2 - azinobis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)] โดยอาศัยเป็นการวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $ABTS^{+}$ ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเขียว (ปริญนท์, 2549) เกิดจากการออกซิไดซ์โดยอนุมูลเปอร์ออกซีเมื่อเติมสารทดสอบลงไปยับยั้งอนุมูลจะทำให้สีสารละลายจางลง โดยดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 734 nm ซึ่งผลการวิเคราะห์นี้จะคำนวณเป็นค่าคงที่สัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลมาตรฐาน Trolox จึงมีชื่อว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity ข้อดีของ ABTS Assay คือ ทำได้ง่าย อนุมูล $ABTS^{+}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลภายใน การวิเคราะห์ทำได้ในช่วงพีเอชที่กว้างทำให้สามารถศึกษาเกลือได้โดยละเอียด และอนุมูล $ABTS^{+}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ (โอภา, 2549)

วิธี DPPH Assay (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay)

เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็น stable radical ในตัวทำละลายเมทานอล (ปริญนท์, 2549) อาศัยอนุมูลของสาร DPPH ที่มีสีม่วงที่อยู่ในรูปอนุมูลในโตรเจนที่มีความคงตัวมากซึ่งไม่ต้องผ่านทำปฏิกิริยาให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณี $ABTS^{+}$ โดยสารต้านออกซิเดชันจะให้อิเล็กตรอนกับอนุมูล DPPH ช่วยให้สารนี้เสถียร จึงส่งผลให้สารละลายเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลืองและมีค่าการดูดกลืนแสงลดลงเมื่อวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ข้อดีของ DPPH เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และง่ายต่อการวิเคราะห์ เป็นวิธีที่นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบ ข้อด้อยของวิธีนี้คือ อนุมูลของ DPPH มีความคงตัว ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่ความไวสูงได้ (โอภา, 2549)

วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

วิธีนี้เป็นการใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก (Fe^{3+} -TPTZ) โดยใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์ และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน (ปริญนันท์, 2549) ซึ่งเมื่อสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก (Fe^{3+} -TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชัน แล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน (Fe^{2+} -TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ซึ่งสารสีม่วงน้ำเงินนี้จะดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 593 nm ข้อดีของวิธี FRAP เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพง และไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ แต่มีข้อด้อยคือ กลไกของปฏิกิริยาที่ใช้ในการวิเคราะห์ไม่เกี่ยวข้องกับกลไกในร่างกาย (โอภา, 2549)

ความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์

หากพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของฟลาโวนอยด์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า จำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล มีความสำคัญต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน โดยพบว่า โครงสร้างแบบ *ortho-diphenolic* จะทำให้สารมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันเด่นที่สุด ตัวอย่างเช่น Quercetin ซึ่งที่ตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล มีโครงสร้างแบบ *ortho diphenolic* จึงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่า morin ที่มีหมู่แทนที่ $-\text{OH}$ 2 หมู่เหมือนกันแต่มีการจัดเรียงตัวแบบ *meta-diphenolic* การมีหมู่ไฮดรอกซิลเพียงหมู่เดียว จะทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระลดลง นอกจากนี้โครงสร้างที่มีการคอนจูเกต ซึ่งมีผลต่อการ delocalization ของอิเล็กตรอน จะช่วยเพิ่มความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ทั้งนี้เนื่องจากการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนนี้ จะสามารถเพิ่มความเสถียรของอนุมูลของ flavonoid phenoxyl หลังจากให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ (โอภา, 2549)

สารกลุ่มไฮดรอกซีเบนโซอิก

การมีหมู่ไฮดรอกซิลเพียงหมู่เดียวที่ตำแหน่ง *o-* หรือ *p-* จะทำให้สารไม่มีหรือมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนน้อยมาก แต่ถ้าหากวางอยู่ในตำแหน่ง *m-* จะให้ฤทธิ์ดีกว่า ทั้งนี้เนื่องมาจากอิทธิพลของหมู่คาร์บอกซิลิก ที่มีคุณสมบัติดึงอิเล็กตรอน โดยเฉพาะ

ตำแหน่ง *o*- และ *p*- จะได้รับผลนี้มากกว่า หากมีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ในตำแหน่ง *m*-, *m*- จะให้ฤทธิ์ดีกว่าที่ตำแหน่ง *m*-, *o*- และ *m*-, *p*- ตามลำดับ โดยการแทนที่ *o*-, *p*- หรือ *o*-, *o*- จะให้ฤทธิ์ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากอิทธิพลของการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิก ในกลุ่มของกรด phenylacetic ที่มีหมู่เมทิลลีนแทรกระหว่างวงฟีนิลและหมู่คาร์บอกซิลิก ซึ่งทำให้วงฟีนิลได้รับอิทธิพลจากหมู่คาร์บอกซิลิกน้อยลง จึงส่งผลทำให้ฤทธิ์เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม หากมีหมู่ไฮดรอกซิล 3 หมู่จะให้ฤทธิ์ด้านออกซิเดชันดีที่สุด เช่น กรดแกลลิก เป็นต้น จากความสัมพันธ์ดังกล่าวมาแล้ว จะเห็นว่า ฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน หรือความสามารถในการไฮโดรเจนเพื่อต้านอนุมูลอิสระ จะมีความสัมพันธ์กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล (โอภา, 2549)

สารกลุ่มไฮดรอกซีซินนามิก

สารกลุ่มนี้จะได้จากกระบวนการชีวสังเคราะห์ shikimate โดยมี L-phenylalanine หรือ L-tyrosine เป็นสารตั้งต้น โดยการแทรกหมู่เอทิลลีนระหว่างวงฟีนิลและหมู่คาร์บอกซิลิก ทำให้คุณสมบัติในการให้อิเล็กตรอนเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะที่ตำแหน่ง *p*- จะได้รับอิทธิพลนี้มากกว่าที่ตำแหน่ง *o*- และ *m*- ตามลำดับ และในขณะที่การแทนที่ในตำแหน่ง *o*- และ *m*- จะให้สารที่มีฤทธิ์ไม่แตกต่างจากสารในกลุ่ม hydroxyphenylacetic acid ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งเดียวกัน ในทางตรงกันข้ามกรดซินนามิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ จะมีฤทธิ์ลดลง อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์ต้านอนุมูลที่ได้ นั้น ก็ยังน้อยกว่าการมีหมู่ไฮดรอกซิลเพียงหมู่เดียวที่ตำแหน่ง *para* จึงชี้ให้เห็นว่า การมีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ในสารกลุ่ม กรดไฮดรอกซีซินนามิกจะมีความเหมาะสมต่อคุณสมบัติในการให้ไฮโดรเจนดีกว่า มีหมู่ไฮดรอกซิล 2 หมู่ อย่างไรก็ตาม การที่สารกลุ่มนี้ มีหมู่แทนที่มีคุณสมบัติเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน เช่น หมู่อัลคิล หรือเมทอกซิล ที่ตำแหน่ง *ortho* จะสามารถเพิ่มความคงตัวของอนุมูล aryloxy[•] ได้ จึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันได้ โดยเฉพาะในลิปิด (โอภา, 2549)

มีการรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไมยราบ ดังนี้

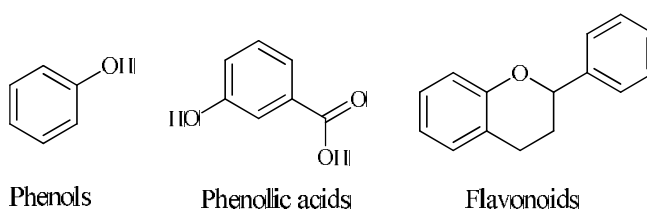
Azmi et al. (2011) ได้รายงานรวบรวมผลการวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไมยราบ ซึ่งผลที่ได้พบว่า สารสกัดไมยราบมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย เช่น ยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อไวรัส ช่วยป้องกันตับ รักษาแผลอักเสบ โรคเบาหวาน เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย สารประกอบที่พบในสารสกัดไมยราบ ส่วนใหญ่พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ ไทโรซีน โมโนซินามิน กรดโมโนซินิก โมโนซิน และแทนนิน

Muthukumaran et al. (2011) ได้รายงานผลงานวิจัยเรื่องการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดไมยราบจากเมือง Pattukkottai ประเทศอินเดีย โดยใช้เทคนิควิเคราะห์ 4 เทคนิค ได้แก่ DPPH, Nitric Oxide (NO), ABTS และ Hydrogen peroxide free radical model ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 35.00 ± 1.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ Nitric Oxide (NO) ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 78.10 ± 1.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนวิธี ABTS แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 81.00 ± 3.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และวิธี H_2O_2 แสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 449.60 ± 1.30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่า สารสกัดไมยราบนั้นมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

Zhang et al. (2011) ศึกษาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลของไมยราบที่พบทางตอนใต้ของประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ 2 เทคนิค ได้แก่ DPPH radical-scavenging activity และ Ferric reducing / antioxidant power ผลการทดลองพบว่า ไมยราบแสดงศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีมาก โดยแสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.61 ± 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพรถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลิก มีโภชนาเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถละลายน้ำได้ สารประกอบฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของเบนซีน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH-group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารฟีนอลิกพื้นฐาน คือ ฟีนอล (phenol) ประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอล (phenol) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แสดงดังภาพ 2 (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553)



ภาพ 2 ตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์ เช่น ลิกนิน กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

สารประกอบฟีนอลิก ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และ พบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารประกอบฟีนอลิก

1. สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant activity) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagens) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถในการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลิก จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (free radical) และยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระก็ถูกทำลายไปด้วย

2. ด้านภาวะการอักเสบต่างๆ และช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกัน สามารถกำจัดอนุมูลอิสระและโครงสร้างมีความเสถียรสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) และ low-density lipoprotein (LDL) ป้องกันเนื้อเยื่อและดีเอ็นเอจากการถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3. ใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2552)

สารสกัดไมยราบได้มีการรายงานการศึกษาการแยกองค์ประกอบทางเคมีดังนี้

Kumar (2010) ได้รายงานผลเรื่องการแยกองค์ประกอบทางเคมีจากสารสกัดไมยราบ ที่พบในประเทศอินเดีย โดยศึกษาการแยกสารสำคัญของสารสกัดเมทานอลของไมยราบ ด้วยเทคนิค TLC และคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลาย คือ petroleum ether : chloroform ในอัตราส่วน 80:20 จากนั้นนำไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี เช่น FTIR และ UV-Vis เป็นต้น ซึ่งผลสเปกตรัมที่ได้จากเทคนิค FTIR แสดงหมู่ฟังก์ชันสำคัญดังนี้

C-H stretching 724.29 cm^{-1} , C=O 1735.99 cm^{-1} , C=C 1465.95 cm^{-1} , C-O 1326.1 cm^{-1} และ 1381.08 cm^{-1} และผลสเปกตรัมที่ได้จากเทคนิค UV-Vis พบว่ามีค่า $\lambda_{\text{max}} = 275\text{ nm}$

Muthumani et al. (2010) รายงานการศึกษาเรื่องพฤกษเคมีและการแยกสารสำคัญจากสารสกัดไมยรายสกัดด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลาย คือ chloroform: petroleum ether (9:1) จากผลการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี ผลจาก FTIR สเปกตรัมแสดงหมู่ฟังก์ชันสำคัญได้แก่ หมู่ฟังก์ชัน O-H, C-H, C=O, C=C, C-N, C-O N-H และผลจากการศึกษาด้านพฤกษเคมี พบกลุ่มสารประกอบ Coumarin, Alkaloid และ Sterol เป็นต้น

การทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อราสาเหตุของโรค แอนแทรคโนสในมะม่วงน้ำดอกไม้

มะม่วง

มะม่วง จัดเป็นไม้ยืนต้นมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Mangifera indica* Linn. อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae เป็นผลไม้ที่ปลูกง่าย สามารถรับประทานเป็นผลไม้สดทั้งดิบและสุกมะม่วงนั้นจัดเป็นผลไม้เศรษฐกิจของประเทศไทย ซึ่งประเทศไทยส่งออกมะม่วงเป็นอันดับ 3 ของโลก สำหรับพันธุ์มะม่วงนั้นมีหลากหลายสายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่แพร่หลายมากที่สุดเห็นจะเป็น พันธุ์เขียวเสวย แรด น้ำดอกไม้ อกร่อง ฟ้าลั่น โชคอนันต์ เป็นต้น ซึ่งแต่ละสายพันธุ์นั้นจะมีรสชาติและลักษณะแตกต่างกันออกไป (รัตนะ, 2552)

มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

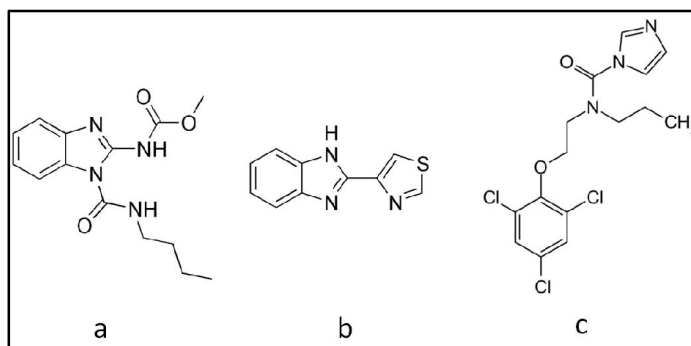
มะม่วงน้ำดอกไม้ เป็นมะม่วงชนิดรับประทานสุก ลักษณะผลรีวยาว มีเนื้อมาก เมล็ดลีบเล็ก ผิวบาง เมื่อดิบมีรสเปรี้ยว ผิวสีเขียวปนขาว เนื้อแน่น ผลสุกมีผิวเหลืองปนขาว กลิ่นหอม เนื้อละเอียด มีรสหวาน มีเบต้าแคโรทีนสูง มะม่วงน้ำดอกไม้ที่นิยมรับประทานมี 2 ชนิด คือ มะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง และมะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 ลักษณะของมะม่วงน้ำดอกไม้แสดงดังภาพ 3



ภาพ 3 ลักษณะของมะม่วงน้ำดอกไม้

มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นพันธุ์ที่ออกดอกง่าย เจริญเติบโตเร็ว เป็นพันธุ์ที่นิยมบริโภคทั้งในและต่างประเทศ โดยเฉพาะตลาดต่างประเทศมีความต้องการมาก แต่การผลิตเพื่อส่งออกไปต่างประเทศต้องทำอย่างประณีต สีผิวต้องสม่ำเสมอ โดยทั่วไปแล้ว มะม่วงเป็นพืชที่ค่อนข้างทนทานต่อการเข้าทำลายของโรคพืชหลายชนิด และทนต่อสภาพแวดล้อมที่ผันแปรอย่างรวดเร็วได้ดีพอสมควรแต่ในเรื่องของปริมาณและคุณภาพของผลผลิตมะม่วงแล้ว มีโรคพืชหลายชนิดที่สามารถทำลายความเสียหายส่งผลให้ผลผลิตลดลงหรือไม่มีผลผลิตเลย และทำให้คุณภาพของผลผลิตไม่เป็นไปตามที่ตลาดต้องการทำให้ราคาผลผลิตตกต่ำ (สุชาติ และขจรศักดิ์, 2557)

อย่างไรก็ตามพบว่าปัญหาที่สำคัญของการส่งออกมะม่วงน้ำดอกไม้ คือ ความเสียหายที่เกิดจากโรคแอนแทรกโนส ซึ่งตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันผู้ประกอบการใช้วิธีการป้องกันกำจัดหรือลดความเสียหายจากโรคด้วยการใช้สารเคมีฉีดพ่น โครงสร้างของสารเคมีกำจัดเชื้อราได้แก่ เบนโนไมล์ โพรคลอราส และไทอะเบนดาโซล แสดงดังภาพ 4 สำหรับสารเคมีในกลุ่มไทอะเบนดาโซลนั้นจะพบว่าเป็นปัญหาต่อการส่งออก เนื่องจากสารเคมีสามารถแทรกซึมเข้าไปในผลผลิตมะม่วงได้ ทำให้เกิดความไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและผู้ปฏิบัติงาน ซึ่งส่งผลให้ในปัจจุบันประเทศผู้สั่งซื้อมะม่วงจากประเทศไทยได้ตั้งข้อจำกัดปริมาณการใช้สารเคมีในการควบคุมโรคกับผลผลิต และงดการนำเข้ามาเมื่อตรวจพบการใช้สารเคมี และตรวจพบของสารพิษตกค้าง (วิชัย และชัยณรงค์, 2548; กรองจิต, 2530) ดังนั้น จึงมีแนวคิดในการใช้สารสกัดสมุนไพร เพื่อควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโนส เพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมีที่อาจเป็นปัญหาด้านสารเคมีตกค้างที่อาจส่งผลต่อผู้บริโภคและตกค้างในสิ่งแวดล้อม



ภาพ 4 โครงสร้างของสารเคมี

a คือ benomyl

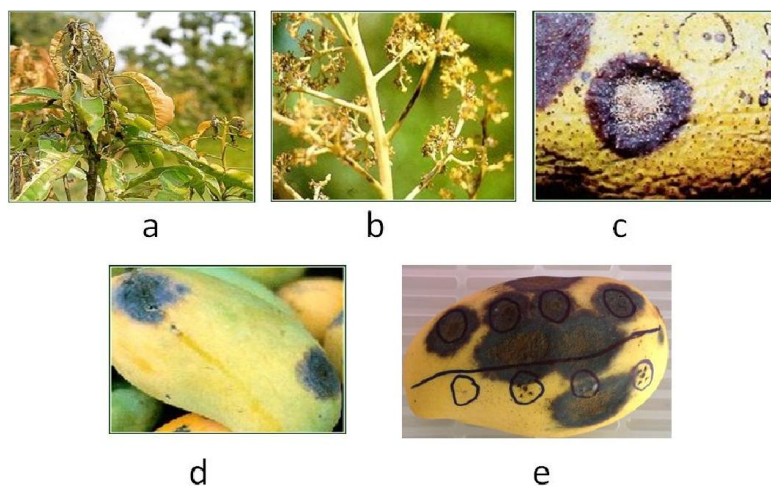
b คือ thiabendazole

c คือ prochloraz

โรคแอนแทรคโนส

โรคแอนแทรคโนสเป็นโรคที่สำคัญที่สุดที่พบในมะม่วงโดยเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นโรคที่แพร่ระบาดอย่างกว้างขวางและทำความเสียหายให้กับมะม่วงในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกมะม่วง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งปลูกที่มีความชื้นสูง ซึ่งมีผลในการทำลายทั้งคุณภาพและปริมาณผลผลิตเป็นอย่างมาก สามารถทำให้เกิดโรคได้ทุกระยะของการเจริญเติบโตของผลมะม่วง ในระยะการเก็บเกี่ยวผลมะม่วง ส่วนมากที่เชื้อราเข้าทำลายและพักตัวที่เปลือกมะม่วงจะไม่แสดงอาการจุดดำ แต่จะเริ่มปรากฏอาการของโรคกับผลมะม่วงที่อยู่ระยะบ่ม ซึ่งเป็นระยะหลังการเก็บเกี่ยว และระยะผลสุก ซึ่งเรียกการทำลายนี้ว่า การทำลายแบบแฝง (latent infection) (นิพนธ์, 2542; ปันรสี และภัทรา, 2555) เชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถแพร่ระบาดได้ดีในสภาพอากาศร้อนชื้นและมีฝนตกชุกหรือมีหมอกลงจัด และอุณหภูมิเหมาะสมที่จะเกิดโรคคือ ตั้งแต่ 24 ถึง 32 องศาเซลเซียส นอกจากมีต้นพืชเป็นแหล่งอาศัยแล้ว เชื้อรายังดำรงชีพอยู่บนเศษซากพืชที่ตายแล้วได้ด้วย เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะแพร่ระบาดสู่มะม่วง โดยเชื้อราจะสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า “สปอร์” มีลักษณะเป็นน้ำเยิ้มๆ สีเหลืองส้มมากมายบนส่วนของพืชที่ตายแล้ว โดยสปอร์มีขนาดเล็กมากมองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ซึ่งสปอร์ของเชื้อราอาจไหลไปตามน้ำติดปะปนไปกับน้ำที่รดต้นไม้ หรือปลิวไปตามลม เมื่อดตกลงบนพืชแล้วจะงอกและแทงเข้าไปยังส่วนอื่นๆ ของพืช หรืออาจฝังตัวอยู่บนส่วนของพืชอ่อนตัวหรือเริ่มสุกจึงเข้าทำลาย ลักษณะของเชื้อที่เข้าทำลายบนผลมะม่วงแสดงดังภาพ 5 และหากการเข้าทำลายรุนแรงจะทำให้เกิดอาการใบแห้ง

หรือบิดเบี้ยว เสียวรูปทรงและหลุดร่วงในที่สุด หากมีอาการที่ช่อดอกของมะม่วง ช่อดอกจะแห้งทำให้ไม่ติดผลหรือเมื่อมีอาการที่ผล ผลจะร่วงหล่น หรือเน่าเสียในภายหลังจากการเก็บเกี่ยว



ภาพ 5 ลักษณะของเชื้อที่เข้าทำลายบนผลมะม่วงที่ส่วนต่างๆ

a คือ การเข้าทำลายส่วนใบ

b คือ การเข้าทำลายส่วนดอก

c คือ การเข้าทำลายส่วนผล

d คือ การเข้าทำลายส่วนผล

e คือ การเข้าทำลายส่วนผล

ที่มา: ทรงกลด (2556)

โรคแอนแทรคโนสสามารถป้องกันกำจัดได้โดยการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชหลายชนิด ซึ่งการใช้สารเคมีเป็นวิธีการเดียวที่จะลดความเสียหายจากโรคนี้อย่างรวดเร็ว และทันต่อเหตุการณ์ สารป้องกันกำจัดโรคพืชหลายชนิด สามารถนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น เบนโนมิล คอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ (copper oxychloride) เป็นต้น ซึ่งการเลือกใช้สารชนิดใดนั้น ก็ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นในแต่ละสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน สารเคมีประเภทดูดซึม เช่น เบนโนมิล (benomyl) อาจจะใช้ได้ดีกว่าในการฉีดพ่นในช่วงที่มีฝนชุก หรือในช่วงผลใกล้เก็บเกี่ยว เพราะจะมีผลต่อคุณภาพของผลผลิตหลังเก็บเกี่ยวด้วย นอกจากนี้ช่วงเวลาการฉีดพ่นของสารเคมีประเภทดูดซึม จะนานกว่าการใช้สารเคมีประเภทสัมผัส (contact หรือ conventional) ซึ่งช่วงเวลาการฉีดพ่นสารเคมีโดยทั่วไปจะอยู่ระหว่าง 10-15 วัน ข้อควรระวังในการใช้สารเคมีประเภทดูดซึมชนิดที่ใช้เฉพาะกลุ่มเชื้อ เช่น เบนโนมิลนั้น ไม่ควรใช้ติดต่อกันนาน ๆ เพราะเชื้อรามีโอกาสที่จะสร้างความต้านทานต่อสารเคมีได้ง่าย

ดังนั้นในการฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคในช่วงออกดอกติดผลมะม่วงนั้น ควรใช้สารเคมีชนิดอื่น ฉีดพ่นสลับกันบ้างตามความเหมาะสม (ทรงกลด, 2556)

การทดสอบในการยับยั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคแอนแทรกโนสนั้นมีหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ poisoned food technique, agar well diffusion method, paper disc diffusion เป็นต้น แต่ละเทคนิคมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

เทคนิคที่ใช้ในการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อราใน ห้องปฏิบัติการ

Poisoned food technique

เทคนิค Poisoned food เป็นเทคนิคที่ผสมสารทดสอบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อทำให้เกิดความเป็นพิษในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการทดสอบการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา (กัลทิมา, 2555)

Paper disk diffusion method

เทคนิค Paper disk diffusion เป็นการละเลงเชื้อที่ต้องการจะทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นวุ้น แล้ววางกระดาษที่ผสมสารที่จะทดสอบลงบนผิวหน้าของวุ้นในจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงเชื้อให้เจริญเติบโต แล้วนำจานเพาะเชื้อมาอ่านผลทดสอบ โดยสังเกตรอบๆ กระดาษที่วางว่ามี Inhibition zone เกิดขึ้นหรือไม่ ซึ่งจะสังเกตเห็นจากวงใสรอบๆ กระดาษที่ผสมสาร (นวพร, 2552)

เทคนิคที่ใช้ในการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว

Hot water treatment

เทคนิค Hot water treatment เป็นเทคนิคการจุ่มในน้ำร้อนเพื่อฆ่าเชื้อ ซึ่งนิยมจุ่มที่ 52-55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หลังจากนั้นจุ่มจากน้ำร้อนแล้ว จะจุ่มลงในน้ำเย็นอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แล้วเก็บในอุณหภูมิต่ำ (จริงแท้, 2542)

Vapour heat treatment

เทคนิค Vapour heat treatment เป็นเทคนิคการพ่นอากาศร้อนไปยังอุปกรณ์สร้างไอน้ำแล้วจึงไหลไปสัมผัสกับผลไม้ เพื่อฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อกำจัดไข่และหนอนแมลงวันผลไม้และลดความเสี่ยงจากการเข้าทำลายของเชื้อแอนแทรคโนส (จริงแท้, 2542)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้เทคนิคตรวจสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา มีดังต่อไปนี้

รวิวรรณ (2546) ได้ศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงระยะหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยมี 4 การทดลอง คือ ทดสอบการยับยั้งเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหย โดยการฉีดพ่นอบไอระเหย หลังการปลูกเชื้อบนผลมะม่วง ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยโดยการจุ่มแช่ จุ่มแช่ในน้ำร้อนร่วมและไม่ร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ภายหลังและก่อนการปลูกเชื้อบนผลมะม่วง ซึ่งผลการทดลองน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm จากตะไคร้ และว่านน้ำ พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ การใช้ น้ำมันหอมระเหยร่วมกับน้ำร้อนโดยวิธีจุ่มแช่มะม่วงก่อนและหลังการปลูกเชื้อมีขนาดแผลเท่ากับ 0.58 และ 0.98 ซม รองจากการใช้น้ำร้อนร่วมกับ carbendazim ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 0.27 และ 0.72 เซนติเมตร ตามลำดับ

กรรณิกา (2547) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของกระเทียม (*Allium sativum* Linn.) หอมแดง สาบเสือ มะกรูด และหอมใหญ่ ในการยับยั้งการเจริญ และการงอกของสปอร์ของเชื้อราสองชนิด คือ *C. gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุของโรคพืช ผลการทดลองพบว่า กระเทียมสามารถยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ หอมหัวใหญ่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้อย่างสมบูรณ์ แต่ยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้ดีที่น้ำหนัก 10 กรัม และถ้าเพิ่มน้ำหนักมาก ๆ ก็ยังยับยั้งเชื้อราได้ดี สำหรับมะกรูดยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ดีที่สุดที่น้ำหนัก 10 กรัม โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถยับยั้ง *C. gloeosporioides* ได้ดีที่ 5 กรัม

วิชัย และชัยณรงค์ (2548) ได้ศึกษารวบรวมสารสกัดจากพืชที่มีรายงานประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส โดยจะนำพืชสมุนไพรทั้ง 12 ชนิด มาเปรียบเทียบเพื่อคัดเลือกว่าชนิดที่สามารถควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงน้ำดอกไม้ และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญจากพืชสมุนไพรที่

สามารถออกฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยสกัดสารจากพืชสมุนไพรด้วยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมาทดสอบเชื้อราด้วยเทคนิค agar well diffusion method ซึ่งผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากว่านน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของโคโคนีได้ดีที่สุด โดยโคโคนีของเชื้อสามารถเจริญได้ 2.32 เซนติเมตร และสามารถยับยั้งการเจริญของโคโคนีคิดเป็น 74.44 เปอร์เซ็นต์

Satish S. et al. (2007) ได้ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดทั้งหมด 52 ชนิด โดยใช้วิธี agar well diffusion method โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแตกต่างกัน ผลการทดลองพบว่าพืช 12 ชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp. โดยมีค่าเฉลี่ย Zone of inhibition เท่ากับ 8, 10, 13 มิลลิเมตร ตามลำดับ

นิภาดา และคณะ (2554) ได้ศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการเจริญเติบโตของ เชื้อรา *C. gloeosporioides* Penz. โดยทดสอบทั้งหมด 6 วิธี คือ สารสกัดจากเปลือกมังคุดสกัดด้วย เอทานอลที่ความเข้มข้น 10, 100, 1,000 และ 10,000 ppm เปรียบเทียบกับ benomyl ความเข้มข้น 750 ppm และน้ำกลั่นปลอดเชื้อ โดยผสมกับอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ก่อนใส่เชื้อด้วยวิธี Poisoned food technique แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ความเข้มข้น 100, 1,000 และ 10,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* เท่ากับ 54.01, 54.05 และ 55.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ benomyl ความเข้มข้น 750 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถยับยั้งเชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์

รัตยา (2554) ได้ศึกษาการทดสอบเบื้องต้นของสารสกัดเปลือกมังคุดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยวิธี poison food techniques และ agar well diffusion method ผลการทดลองพบว่า หลังการปลูกเชื้อบนอาหาร 7 วัน การเจริญของเส้นใยถูกยับยั้งโดยมีอัตราการยับยั้ง 34.01 และ 47.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

Ambikapathy V. et al. (2011) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดทั้ง 5 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อรา *Pythium debaryanum* ด้วยวิธี agar well diffusion method ซึ่งผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเมทานอลของ *Lawsonia inermis* สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด

ปณรดี และภัทรา (2555) ศึกษาการใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกว่านหางจระเข้เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนส และโรคข้าวผลเน่าในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยทำการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ผลการทดลองพบว่า ผลของสารสกัดหยาบจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนส และโรคข้าวผลเน่าบนผลมะม่วงที่ได้รับการปลูกเชื้อในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. gloeosporioides*

41.71 ถึง 66.87 เปอร์เซ็นต์ โดยความเข้มข้นที่ให้ผลการยับยั้งดีที่สุดคือ 6,000, 10,000 และ 10,000 ppm ตามลำดับ