บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรม

ชาน้ำมันพันธุ์คามิเลียโอลิเฟร่า (*Camellia oleifera* Abel.) เป็นพืชที่ชาวหูหนานซึ่งอาศัยอยู่ทางใต้ของประเทศจีนนิยมใช้นำมาใช้ประโยชน์ในรูปของน้ำมันเมล็ดชา และมีข้อมูลการใช้มานานกว่า 1,000 ปี โดยได้มาจากการสกัดส่วนของเมล็ดชา โดยใช้วิธีการหีบเย็น (Cold pressed) ส่วนในประเทศญี่ปุ่นน้ำมันเมล็ดชามีการสกัดมาจากชาน้ำมันพันธุ์คามิเลียจาโปนิก้า (*Camellia japonica*)[7]

ปัจจุบันในประเทศไทยได้จัดตั้ง โครงการศึกษาและพัฒนาการปลูกชาน้ำมันของมูลนิธิชัยพัฒนา ในพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 บนพื้นที่ประมาณ 3,000 ไร่ในจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัด เชียงราย ดำเนินการปลูกต้นชาน้ำมันพันธุ์คามิเลียโอลิเฟร่า และศึกษาทดลองการหีบเมล็ดชาน้ำมัน เพื่อผลิตน้ำมันสำหรับบริโภค จากข้อมูลปี 2553 ดำเนินการปลูกต้นชาน้ำมันไปแล้วทั้งสิ้น 912,578 ต้น ซึ่งต้นชาน้ำมันที่มีอายุระหว่าง 3-4 ปี บางต้นได้ออกดอกและติดผลบ้างแล้ว คาดว่าในช่วงปลายปี พ.ศ. 2554 จะเริ่มให้ผลผลิตอย่างจริงจัง และเก็บเกี่ยวผลผลิตนำเข้าสู่โรงงานผลิตน้ำมันที่มูลนิธิชัยพัฒนาจัดสร้างขึ้นประกอบด้วยโรงหีบน้ำมัน ซึ่งปริมาณที่เพาะปลูกจะเพียงพอให้โรงงานมีการทำงานที่ต่อเนื่องตลอดทั้งปี และมีวัตถุดิบป้อนโรงงานอุตสาหกรรมตามระยะเวลาที่กำหนดไว้ ขณะเดียวกันโครงการฯยังมีการแปรรูปน้ำมัน โดยจะมีการบรรจุผลิตภัณฑ์จากกากชาน้ำมันเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านอื่น รวมทั้งการศึกษาวิจัยประโยชน์อื่น ๆ ของชาน้ำมันที่นอกเหนือจากการบริโภค เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ เช่น เครื่องสำอาง และยารักษาโรค[7]

ชาวหูหนานบริโภคน้ำมันเมล็ดชาคิดเป็น 50% ของน้ำมันพืชทั้งหมดที่ใช้ในบริโภค เนื่องจากน้ำมันเมล็ดชาสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่เหม็นหืนที่อุณหภูมิห้อง นอกจากใช้บริโภคแล้ว น้ำมันเมล็ดชายังถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลายในหลากหลายประเทศ เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อบำรุงผิว เช่น สบู่ โลชัน ผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม เช่น แชมพู ครีมนวด ยารักษาอาการปวดท้องหรือแผลไฟไหม้ เป็นต้น โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่นมีการนำน้ำมันเมล็ดชามาเป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง เช่น ผลิตภัณฑ์ลดริ้วรอย ลิปสติก ครีมกันแดด โลชันทำความสะอาดเครื่องสำอาง เป็นต้น ปัจจุบันในบ้านเราก็มีการนำน้ำมันเมล็ดชามาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ น้ำมันเมล็ดชาออร์กานิกสำหรับใช้ในการประกอบอาหาร แม้ว่าน้ำมันเมล็ดชายังไม่เป็นที่รู้จักและแพร่หลายมากนัก แต่ด้วยองค์ประกอบของกรดไขมันที่มีสัดส่วนเหมาะสมทัดเทียมน้ำมันมะกอก ให้คุณประโยชน์ที่จะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคร้ายและช่วยเสริมสุขภาพเมื่อใช้ในปริมาณที่เหมาะสมทั้งยังมีราคาถูกกว่าน้ำมันมะกอก ทำให้ผลิตภัณฑ์จากน้ำมันเมล็ดชาเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ดีสำหรับผู้ที่ห่วงใยสุขภาพ คาดว่าในอนาคตน้ำมันเมล็ดชาจะเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย[8-10]

น้ำมันเมล็ดชา (Tea seed Oil) เป็นน้ำมันที่ได้จากการสกัดจากเมล็ดของชาสายพันธุ์ *Camellia Olifera*[11] ซึ่งเป็นที่นิยมแพร่หลายในประเทศจีนมานับพันปีแล้วโดยใช้ในการปรุงอาหาร นอกจากนี้ในประเทศอื่นๆในทวีปเอเชียก็เป็นที่นิยมใช้เช่นเดียวกัน โดยอาจมีสายพันธ์อื่นๆ ด้วย เช่น *Camellia japonica* ซึ่งเป็นที่นิยมในประเทศญี่ปุ่น โดยองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันเมล็ดชา คือ กรดไขมันและสารที่มีหมู่ Phenol เป็นส่วนประกอบ โดยมีหลายการศึกษาวิจัยเพื่อทำการวิเคราะห์หาส่วนประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันเมล็ดชาโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบกับสารสกัดประเภทน้ำมันอื่นๆ เช่น Yen-Huichen (2007)[12] พบว่ากรดไขมันชนิดที่พบมากในน้ำมันเมล็ดชาทั้งชนิดที่สกัดเองและชนิดที่มีจำหน่ายในท้องตลาดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันมะกอกและน้ำมันข้าวโพด คือ Oleic acid (C18:1) ซึ่งจัดเป็น monounsaturated fatty acid โดยมีองค์ประกอบอยู่คิดเป็น 54.95% 81.59% 80.82% 25.01% (คิดในรูป methyl esters) จะเห็นว่าปริมาณ Oleic acid ของน้ำมันเมล็ดชาที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีปริมาณแตกต่างกับปริมาณในน้ำมันมะกอกอย่างไม่มีนัยสำคัญ ซึ่ง Oleic acid นี้มีความสำคัญคือสามารถลดระดับ Cholesterol ในกระแสเลือดได้ ส่วนองค์ประกอบที่เป็นกรดไขมันชนิดอื่นๆที่พบเป็นปริมาณมากในน้ำมันเมล็ดชาคือ Palmitic acid (C16) มีปริมาณ 18.30% 7.95% 10.31% 10.68% ตามลำดับ และ Linoleic acid (C18:2) มีปริมาณ 22.41% 7.57% 5.08% 61.20% ตามลำดับ

สามารถสรุปได้ว่า องค์ประกอบที่เป็น Polyunsaturated Fatty Acid จะพบในน้ำมันข้าวโพดมากที่สุด คือ 61.2% รองลงมาคือน้ำมันเมล็ดชาที่ได้จากการสกัดมีปริมาณ 22.58% และน้ำมันเมล็ดชาที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดมีปริมาณ 7.82% ส่วนน้ำมันมะกอกมีปริมาณ 5.55% ในขณะที่องค์ประกอบที่เป็น Monounsaturated Fatty Acid จะพบในน้ำมันเมล็ดชาที่มีตามท้องตลาดมากที่สุด 82.32% รองมาคือน้ำมันมะกอก 81.93% ในขณะที่น้ำมันเมล็ดชาที่ได้จากการสกัดและน้ำมันข้าวโพด มีปริมาณ 56.46% และ 25.01% ตามลำดับ ซึ่งในการทดลองเดียวกันยังได้ผลว่าองค์ประกอบรองของน้ำมันเมล็ดชา คือ α-Tocopherol ซึ่งปริมาณเฉลี่ยในน้ำมันเมล็ดชาที่สกัดเอง และน้ำมันเมล็ดชาที่ได้จากผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันมะกอกและน้ำมันข้าวโพดได้ผลคือ 21.13, 25.88 ,4.31, 31.28 mg/100g oil แต่พบว่าผลจากน้ำมันมะกอกและน้ำมันข้าวโพดมีความแปรปรวนค่อนข้างสูง ซึ่งจากปกติแล้วปริมาณ α-Tocopherol ที่สกัดได้จากน้ำมันมะกอกคุณภาพดีจะมีปริมาณอยู่ในช่วง 10-30 mg/100g oil ส่วนในน้ำมันข้าวโพดโดยปกติแล้วจะมีปริมาณγ–Tocopherol มากกว่า α-Tocopherol ซึ่งจะมีอยู่ประมาณ 0-57.3mg/100g oil

นอกจากนี้ Yen-Hui Chen (2007)[12] ยังได้ทำการวิจัยเรื่อง คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและกิจกรรมทางชีวภาพของน้ำมันเมล็ดชา (Camellia oleifera) ซึ่งจะทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันและปริมาณของ tocopherol ด้วยวิธี chromatography-flame ionization (GC-FID) และ high performance liquid chromatography-UV (HPLC-UV) พบว่า น้ำมันเมล็ดชามีองค์ประกอบ คือ palmitic acid (C16:0) 18.30%, oleic acid (C18:1) 54.95%, linoleic acid (C18:2) 22.41%, linoleic acid (C18:3) 0.17% และมีปริมาณ α-tocopherol 21.13 มิลลิกรัมในน้ำมันเมล็ดชา 100 กรัม นอกจากนี้

oxidant capacities ของสารสกัดน้ำมันเมล็ดชาด้วยเมทานอลและ remaining meal (MEAL) โดยใช้วิธีการติดตามฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง 4 วิธี คือ วิธีวิเคราะห์ปริมาณ phenolic ทั้งหมด (TPC), วิธีวิเคราะห์ trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), วิธีวิเคราะห์ 2,2-di-phenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging และ metal chelating capacity ซึ่งได้ผล คือ TPC และ TEAC ของ MEAL เท่ากับ gallic acid 23.3 mg/g และ trolox 4.42 μM/g มากกว่าน้ำมันเมล็ดชา 7-15 เท่า, metal chelating capacity ของ MEAL มากถึง 90% ที่ 25 mg ของสารตัวอย่าง/mL นอกจากนี้ น้ำมันเมล็ดชา ยังแสดงระดับการต้านการ proliferation ที่ต่างกัน ซึ่งติดตามจาก 3 cancer cell lines คือ SiHa (human uterus cancer cell line), MCF-7 (human breast cancer cell line) และ HT-29 (human colon cancer cell line) ค่า IC_{50}ของน้ำมันเมล็ดชา และ MEAL เท่ากับ 146.70 และ 2.92 mg ของสารตัวอย่าง/mL สำหรับ SiHa, 236.20 และ 2.94 mg ของสารตัวอย่าง/mL สำหรับ MCF-7, 155.20 และ 1.52 mg ของสารตัวอย่าง/mL สำหรับ HT-29 และได้ทำการเปรียบเทียบการวิเคราะห์ น้ำมันเมล็ดชากับน้ำมันมะกอก พบว่า น้ำมันทั้งสองชนิดมีค่าไอออดีนเท่าๆ กัน ถึงแม้ว่าน้ำมันเมล็ดชาจะมีค่า PV-Fox ในการศึกษานี้น้อยกว่าก็ตาม ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันเมล็ดชาและ MEAL มีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ

Kevin Robards(2007)[13] เป็นการศึกษาองค์ประกอบในน้ำมันตัวอย่างคือ น้ำมันเมล็ดชา น้ำมันฟักทอง น้ำมันอโวกาโด น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันงา โดยองค์ประกอบที่พบมาก คือกรดไขมันชนิดต่างๆทั้งอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว พบว่าน้ำมันทุกชนิดมี Oleic และ Linoleic acids ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบซึ่งจากผลการทดลองสามารถแบ่งตัวอย่างที่ใช้เป็น 2 กลุ่มตามกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ คือ กลุ่มที่มี Oleic acid สูงได้แก่น้ำมันเมล็ดชาและน้ำมันอโวกาโดและกลุ่มที่มีทั้ง Oleic และ Linoleic acids สูงได้แก่ น้ำมันฟักทอง น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันงา และน้ำมันอโวกาโดยังเป็นน้ำมันชนิดเดียวที่มีปริมาณ Palmitoleic acid สูงกว่าน้ำมันชนิดอื่นๆ

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาสารประกอบประเภท Phenolic ในน้ำมันตัวอย่างด้วย โดยพบว่าหลังจากทำการ identify แล้วน้ำมันตัวอย่างประกอบด้วย tyrosol, vanillic acid , caffeic acid and o-coumaric acid ในขณะที่สารประกอบphenolic ที่พบได้บ่อยอย่าง ferulic acid กลับไม่พบในน้ำมันชนิดใดๆ เลย และยังพบน้ำมันหอมระเหยในน้ำมันตัวอย่างด้วย

Sahari(2008)[14] ยังมีการทดลองเพื่อหาองค์ประกอบต่างๆในน้ำมันเมล็ดชาซึ่งพบว่ามีสาร Tocopheral และ β-carotene โดยศึกษาเปรียบเทียบกับน้ำมันชนิดต่าง เช่น น้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันมะกอก น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน น้ำมันwalnut น้ำมันงา และน้ำมันจากธัญพืชบางชนิด โดย β-carotene มีปริมาณ 251.3 ±2.5 mg/kg ส่วนTocopherols และ Tocotrienols มีปริมาณ 376.0 ± 3.0 และ 13.40 ± 0.34 mg/kg ตามลำดับ โดยที่ในจำนวนนี้พบว่าปริมาณ α –Tocopherols หรือวิตามิน E มีปริมาณมากที่สุด คือ 210.0 ±2.3mg/kg ส่วนสารประกอบ

Phenolic พบว่ามีปริมาณ 24.81 ± 1.0 mg/kg โดยที่สารที่มีมากที่สุด คือ Epigallocathechin gallate (12.93 ± 0.97 mg/kg)

คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมัน[15]

Acid value คือ จำนวนมิลลิกรัม ของ 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการ neutralize กรดไขมันอิสระ (free acids) ในน้ำมันตัวอย่างปริมาณ 10.0 กรัม เป็นตัวบ่งชี้ปริมาณกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในน้ำมัน ซึ่งกรดไขมันอิสระนี้มาจากการสลายตัวของไตรกลีเซอไรด์

Iodine value คือ จำนวนกรัมของไอโอดีน ที่เข้าไปทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลของน้ำมัน 100 กรัม

Saponification valueคือ จำนวนมิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์น้ำมันจำนวน 1 กรัม อย่างสมบูรณ์ ได้เป็นสบู่ และกลีเซอรอล เป็นตัวบ่งชี้ถึงขนาดโมเลกุลหรือน้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลของทั้งที่อยู่ในรูปกรดไขมันอิสระและเกิดพันธะเอสเตอร์อยู่กับไตรกลีเซอร์ไรด์ในน้ำมัน

วิธีการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง[16-17]

วิธีการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองสามารถทำได้หลายวิธี เช่น ความสามารถในการขจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) assay, การยับยั้งการเกิด lipid peroxidation โดยใช้ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) method, (2-2'azonobis –(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) diammonium salt (ABTS) assay ซึ่งในงานวิจัยนี้เลือกใช้ 2 วิธี คือ

1. ความสามารถในการขจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) assay
2. การยับยั้งการเกิด lipid peroxidation โดยใช้ Ferric Thiocyanate Method(FTC)

ความสามารถในการขจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH)assay[16]

หลักการของ DPPH ในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน คือ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals) เป็นอนุมูลอิสระที่จะเสถียรและมีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่ในโมเลกุล มีสีม่วงเข้ม วิธีการนี้เป็นการศึกษาหาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างในการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH โดยตรง ดังปฏิกิริยา

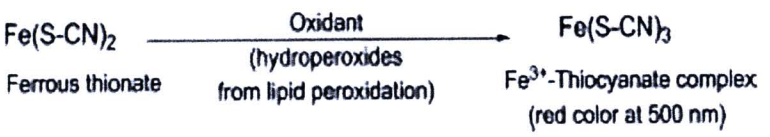
DPPH radical + RH → DPPH-H + R°

สีม่วง สารต้านอนุมูลอิสระ สีเหลือง

สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดได้ที่ 520 nm เมื่ออิเลกตรอนโดดเดี่ยวของ DPPH ไปจับไฮโดรเจนของสารประกอบใดที่สามารถให้อะตอมไฮโดรเจน (สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) จะทำให้ DPPH กลายเป็น reduced form (DPPH-H) ที่มีสีเหลืองเป็นผลให้สีของ DPPH จางลง ซึ่งจากการจางลงของสี DPPH นั้นแปรตามจำนวนอิเลกตรอนที่ถูกจับด้วย โดยถ้าสารต้านอนุมูลอิสระยิ่งมีประสิทธิภาพดีเท่าใด การเกิดสีเหลืองของ DPPH-H ก็จะเป็นไปได้เร็วยิ่งขึ้นเท่านั้น ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้นำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง และหาค่า IC_{50} โดยเปรียบเทียบกับกับน้ำมันรำข้าว

การยับยั้งการเกิด lipid peroxidation โดยใช้ Ferric Thiocyanate Method(FTC)[17]

ปฏิกิริยาออกซิเดชันโมเลกุลของไขมัน (เช่น linoleic acid) เป็นแหล่งที่ให้อนุมูลอิสระ peroxide ($HO_2^{\cdot}$) โดย $HO_2^{\cdot}$ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับ ferrous chloride ทำให้ ferrous ions ถูก oxidized เกิดเป็น Ferric ions และรวมตัวกับ ammonium thiocyanate เกิดเป็น ferric thiocyanate (สีแดง) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm



ทั้งนี้ค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันตรงกับปริมาณของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ซึ่งในที่นี้คือ peroxide ดังนั้นสารที่มีคุณสมบัติลดปริมาณ peroxide จึงแสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้นำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง และหาค่า IC_{50} โดยเปรียบเทียบกับน้ำมันรำข้าว มีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้

Hashimoto และคณะ[18] ประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ polyphenol จากชาเขียว ชาดำ และชาอูหลง ในหลอดทดลอง โดยวิธี FTC พบว่าสาร Flavan-3-ol,(-)- epiafzelechin 3-O-gallate สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมัน มากกว่าวิตามินอี แต่น้อยกว่าBHT ซึ่งเป็นสารมาตรฐานซึ่งใช้เปรียบเทียบ

Ono และคณะ[19] ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัด Rabbiteye Blueberry (*Vaccinium ashei*) โดยวิธี FTC และ DPPH ผลการทดลองวิธี FTC พบว่า สารประกอบที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่ไม่เท่าวิตามินอี และ BHT ส่วนผลการทดลองวิธี DPPH พบว่า ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าวิตามินอี แต่ไม่เท่า L-Cysteine

Hattori และคณะ[20] ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Soluble Elastin Peptide โดยวิธีFTC พบว่า acid-solubilized elastin (ASE)มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าวิตามินซีแต่ไม่เท่าวิตามินอี

Asgarirad และคณะ[21] ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดสมุนไพร *Achillea tenuifolia* โดยวิธี FTC และ DPPH ผลการทดลองวิธี FTC พบว่าสารสกัดในเมทานอล+น้ำและสาร

สกัดในเอทิลอะซิเตท สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมันได้ใกล้เคียงBHT ส่วนผลการทดลองวิธี DPPH พบว่าสารสกัดในเมทานอล+น้ำ มีค่า IC_{50}น้อยกว่า BHT