

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ภูมิหลังและความสำคัญ

เนื่องด้วยความสนใจด้านการวิเคราะห์สารต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส(tyrosinase ; EC 1.14.18.1) ซึ่งเป็นเอนไซม์ประเภทออกซิจีเนส ที่เป็นตัวการในการสร้างสารเมลานินบนผิวหนัง กำลังเป็นที่สนใจในการพัฒนาคุณภาพของเครื่องสำอางกลุ่มไวท์เทนนิ่งเพิ่มมากขึ้น สารอาร์บูติน เป็นหนึ่งในสารกลุ่มต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่มีประสิทธิภาพสูงซึ่งแต่เดิมสกัดได้จากพืชในตระกูล เบอร์รี่ เนื่องจากในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน เช่น สกลนคร อุตรธานี กาฬสินธุ์ นครพนม มุกดาหาร และหนองคายมีพืชอยู่ชนิดหนึ่งซึ่งในตระกูลเบอร์รี่ คือ เมา (*Antidesma waitesianum* Muell Arg.) อยู่ในวงศ์ STILAGINACEAE ซึ่งได้มีงานวิจัยที่ หลากหลายแสดงให้เห็นว่าผลหมากเมาสูกมีคุณค่าของสารอาหารที่จำเป็นต่อความต้องการของ ร่างกายมนุษย์หลายชนิดเช่น กรดอะมิโน และสารต้านอนุมูลอิสระ (สมาน และสำร. 2549) ซึ่งมี ปริมาณสูง ดังนั้นหมากเมาซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นที่มีศักยภาพสูงไม่เพียงแต่มีคุณค่าทางอาหารเท่านั้น ยังมีคุณค่าทางด้านยาอีกด้วย (กัมมมาล และคณะ. 2546)

เมา...ไม้ผลที่นานาชาติตระหนักในคุณค่า เมาเป็นพืชในตระกูล *Antidesma* ที่พบ กระจายอยู่ในหลายพื้นที่ในหลายทวีป และด้วยคุณค่าของพืชในตระกูลนี้ ทำให้ชุมชนในท้องถิ่น แต่ละพื้นที่มีการใช้ประโยชน์จากพืชตระกูลนี้ในหลากหลายรูปแบบด้วยกัน การบริโภคเมาเป็น อาหารได้ปฏิบัติกันมานานในหลายประเทศ โดยส่วนใหญ่จะบริโภคผลสด ในประเทศไทย อินเดีย และอินโดนีเซีย มีการบริโภคใบ และยอดของพืชในกลุ่ม *Antidesma* หรือผสมอาหารเพื่อให้มีรส เปรี้ยว โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทยนิยมรับประทานผลสด โดยการนำมาปรุง รสคล้ายกับส้มตำที่เรียกว่า ตำเมา หรือใช้เปลือกต้นหรือใบมาโขลกรวมกับพริกสด และน้ำปลาร้า เรียกว่าตำเเมียง นิยมรับประทานในฤดูร้อน ซึ่งช่วยลดอาการท้องเสียได้ จะเห็นได้ว่านอกจาก ประโยชน์ในด้านการเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงแล้ว พืชในกลุ่ม *Antidesma* ยังมี คุณค่าทางเภสัชอีกด้วย จากเดิมเมาเป็นเพียงผลไม้พื้นบ้าน ที่รู้จักและบริโภคกันเฉพาะใน ท้องถิ่นเท่านั้น แต่ในปัจจุบันเมากลายเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย มีผู้บริโภคเมาในรูปผลสด และในลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมาที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้าง เพราะเป็นพืชที่เกิดเองตามธรรมชาติโดยใช้สารเคมีใน

กระบวนการผลิตค่อนข้างน้อย อาจกล่าวได้ว่า การให้ความรู้ด้านคุณค่าทางโภชนาการและการนำผลเม่าที่มีอยู่ในธรรมชาติมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ถือว่าเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่ม (value added) ให้กับไม้ผลท้องถิ่นชนิดนี้อีกทางหนึ่ง

อาร์บูติน (Arbutin) เป็นสารในกลุ่ม Glycosidase Hydroquinone สกัดได้จากใบของแบเบอร์รี่และพืชในสายพันธุ์เบอร์รี่อีกหลายชนิด [Kittipongpatana N. et.al. 2007] มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase : EC 1.14.18.1) เป็นเอนไซม์ประเภทออกซิจีเนสที่เป็นตัวการในการสร้างเม็ดสีเมลานินที่ทำให้เกิดสีผิว และทำให้เกิดรอยคล้ำบนใบหน้า [Hamed SH., 2004] โดยไม่ทำให้เกิดพิษต่อเซลล์ ช่วยฟื้นฟูเมทาบอลิซึมของผิวที่ไหม้แดด มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และต้านแบคทีเรีย [Leslie, 2002] ดังนั้นอาร์บูตินจึงมีความปลอดภัยสูงไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ไม่มีผลต่อการแสดงของ mRNA ของไทโรซิเนส การใช้อาร์บูตินจึงเป็นที่นิยมแพร่หลายมากขึ้น โดยเฉพาะในเม่าซึ่งเป็นพืชในกลุ่มเดียวกับเบอร์รี่ จึงคาดว่าน่าจะมีปริมาณอาร์บูตินอยู่ในเม่า

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบปริมาณอาร์บูตินในเม่า [*Antidesmatheria argentea* Muell. Arg.] ของจังหวัดสกลนคร ซึ่งเม่าเป็นพืชท้องถิ่นในสายพันธุ์เบอร์รี่ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี และพบมากในภูมิภาคนี้ โดยนำเทคนิคการสกัดและแยกส่วนสกัดให้บริสุทธิ์ด้วยทางโครมาโทกราฟี จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาร์บูตินด้วยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะหาวิเคราะห์เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารอาร์บูตินซึ่งอยู่ในเม่า โดยผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นคาดว่าจะประโยชน์และเพิ่มมูลค่าให้กับเม่าซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจของจังหวัดสกลนครอีกด้วย

1.2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารอาร์บูตินในพืชเม่า
2. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส จากสารสกัดที่ได้จากเม่า

1.3. ขอบเขตของการวิจัย

1. การเก็บพืชตัวอย่างเม่า เฉพาะในเขตพื้นที่จังหวัดสกลนคร
2. ทำการวิเคราะห์สารอาร์บูตินเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณในเม่า ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอแมนส์ลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC)
3. ทำการวิเคราะห์หาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดจากเม่า

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อทำให้เกิดองค์ความรู้เกี่ยวกับการสกัดสารอาร์บูตินในมะ
2. เพื่อสร้างมูลค่าให้กับพืชท้องถิ่น

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. การสกัด (Extraction) หมายถึง การแยกสารเคมีที่ต้องการแยกออกจากของผสมหรือวัตถุดิบ เช่น การแยกองค์ประกอบทางเคมีในพืช
2. ฟรีฟาร์เทฟทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี หมายถึง เทคนิคการแยกสารที่อาศัยคุณสมบัติที่แตกต่างระหว่างความสามารถในการเคลื่อนที่ด้วยเฟสเคลื่อนที่ และการถูกดูดซับด้วยเฟสอยู่กับที่ซึ่งเป็นเครื่องมือที่เป็นแผ่นแก้ว แผ่นอลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติก ที่ฉาบด้วยอะลูมินา หรือ ซิลิกาเจล โดยการราดสารตัวอย่างเป็นแถบด้วยหลอดหยดหรือปิเปต
3. โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง หมายถึง เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์และแยกสารเกือบทุกชนิดเพื่อตรวจเอกลักษณ์ที่มีความไวสูง และวิเคราะห์หาปริมาณได้อย่างรวดเร็วแม่นยำโดยเฉพาะสารที่ไม่ระเหยและไม่คงตัวต่อความร้อน
4. คอลัมน์ (Column) หมายถึง อุปกรณ์ที่อยู่ภายในที่บรรจุอนุภาคของแข็งขนาดเล็กที่มีรูพรุนทำหน้าที่แยกสารในเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
5. เฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) หมายถึง พาสาร์ที่ต้องการทำการวิเคราะห์เคลื่อนที่เข้าไปในคอลัมน์
6. เฟสคงที่ (Stationary Phase) หมายถึง อนุภาคเคลื่อนที่ซึ่งบรรจุอยู่ในคอลัมน์ที่ทำหน้าที่เป็นตัวแยกสารที่นำมาทำการวิเคราะห์
7. รีเทนชันไทม์ (Retention Time) หมายถึง ระยะเวลาที่เฟสเคลื่อนที่นั้นได้ชะสารตัวอย่างผ่านเฟสคงที่ซึ่งเริ่มต้นตั้งแต่ทำการฉีดสารเข้าไปยังคอลัมน์จนถึงเวลาที่ตำแหน่งจุดยอดของพีคแล้วรายงานผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม
8. อาร์บูติน (Arbutin) คือ เป็นสารในกลุ่มไฮโดรควิโนน ไกลโคไซด์ ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของการสร้างเม็ดสีเมลานิน
9. การสไปค์ (Spike) หมายถึง การเติมสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นลงไปในการตัวอย่างควบคู่ไปกับการวิเคราะห์สารตัวอย่าง เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์

10. วิธี Standard addition หมายถึง เป็นวิธีในการแก้ปัญหา matrix effect โดยทำการเติมสารมาตรฐานลงไปในการตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์

11. ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography; TLC) หมายถึง เป็นกระบวนการแยกสารที่ผสมกันโดยใช้เครื่องมือที่เป็นแผ่นแก้วฉาบด้วยตัวดูดซับชนิดที่เหมาะสมโดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของสารซึ่งมีอัตราเร็วในการเคลื่อนที่แตกต่างกันอันเป็นผลมาจากความสามารถของตัวดูดซับที่มีต่อสารแต่ละชนิดไม่เท่ากัน การทำทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีจะต้องจุดสารละลายที่ต้องการแยกให้มีขนาดเล็กที่สุดลงบนตัวดูดซับที่ฉาบอยู่บนแผ่นแก้ว สำหรับตัวดูดซับนี้มีหลายชนิดที่นิยมใช้กันมาก คือ ซิลิกาและอลูมิเนียมออกไซด์

12. การสกัดด้วยเฟสของแข็ง (Solid phase extraction : SPE) เป็นเทคนิคที่ถูกนำมาใช้เพื่อการสกัดที่มีปริมาณน้อยๆ แทนที่การสกัดด้วยเฟสของเหลว (Liquid-liquid extraction) ระบบการสกัดด้วยระบบนี้แตกต่างจากการสกัดสารด้วยเฟสของเหลวตรงที่ตัวกลางใช้เป็นของแข็งโดยวัตถุประสงค์หลักแล้วเพื่อเป็นการเตรียมสารตัวอย่างก่อนที่จะฉีดเข้าระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อทำการกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่อาจจะทำลายคอลัมน์ในระบบโครมาโทกราฟี

13. เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) หมายถึง เอนไซม์ประเภทออกซิจีเนสเป็นตัวการสำคัญในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน

14. สารต่อต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase Inhibitor) หมายถึง สารกลุ่มที่ไปขัดขวาง หรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน

