บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มะหาด

มะหาด (*Artocarpus lakoocha* Roxb.) อยู่ในวงศ์ Moraceae พรรณไม้ที่อยู่ในวงศ์เดียวกันได้แก่ ขนุนสำปะลอ (*Artocarpus altilis* (Parkison) Fosberg ExT) ไสน (*Artocarpus altissimus* J. J. Sm. T) หาดส้าน (*Artocarpus chaplasha* Roxb.) หาดรุม (*Artocarpus dadah* Miq. T) กะออก (*Artocarpus elasticus* Rienw. ex Blume T) หาดหนุน (*Artocarpus gomezianus* Wall. ex Tre´cul T) ขนุน (*Artocarpus hetero*phyllus Lam. ExT) จำปาดะ (*Artocarpus integer* (Thunb.) Merr. ExT) ขนุนป่า (*Artocarpus kemando* Miq. T) (กรมป่าไม้, 2544)

มะหาด หรือ หาด เป็นพรรมไม้ที่มักพบตามบริเวณป่าดงดิบทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ ภาคตะวันตกเฉียงใต้ และภาคใต้ของประเทศไทย มีชื่ออื่นๆ คือ กาแย, ตาแป, ตาแปง (มาเล-นราธิวาส) มะหาดใบใหญ่ (ตรัง) มะหาดเป็นพรรณไม้ยืนต้น ขนาดใหญ่ ลำต้นมีความสูงราว 15-20 เมตร ลักษณะของลำต้นตั้งตรง ผิวเปลือกนอกค่อนข้างขรุขระ แตกเป็นรอยสะเก็ดเล็กๆ มีสีน้ำตาลดำ หรือเป็นสีเทาแกมน้ำตาล และบริเวณเปลือกของลำต้นมักจะมีรอยแตกและมียางไหลซึมออกมา แห้งติด ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับกัน ใบเป็นรูปไข่หรือรูปยาวรี ปลายใบแหลม ส่วนโคนใบเว้ามน ใบมีขนาดกว้างประมาณ 2-8 นิ้ว ยาวประมาณ 4-12 นิ้ว ใบอ่อนมีขนแต่พอแก่ขึ้น ขนนั้นก็จะหลุดไปทำให้ใบเกลี้ยงเรียบ ดอกออกเป็นช่อเล็กๆ ตามบริเวณง่ามใบ มีสีเหลือง ดอกช่อหนึ่งจะมีทั้งดอกเพศผู้และเพศเมียอยู่ในต้นเดียวกัน ลักษณะของดอกเพศเมียกลีบดอกเป็นรูปค่อนข้างกลมมน โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด และลักษณะของดอกเพศผู้กลีบเป็นรูปขอบขนานปลายกลีบหยัก กลีบดอกยาวประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ผลมีลักษณะเป็นรูปกลมใหญ่ มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-8 เซนติเมตร เปลือกนอกมีผิวขรุขระ เนื้อค่อนข้างนุ่ม ผลอ่อนมีสีเขียว แต่พอแก่หรือสุกเต็มที่มีสีเหลืองส้ม

ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะทางพฤษศาสตร์ของมะหาด

สรรพคุณทางยา เปลือกลำต้น ใช้เปลือกสด นำมาต้มเอาน้ำกินเป็นยาแก้ไข้ หรือยาขับพยาธิ แก่นไม้ ใช้แก่นไม้สด นำมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำมาเคี่ยวให้เป็นฟอง จากนั้นช้อนฟองออกมาตากแดดให้แห้ง แล้วบดให้เป็นผงละเอียดใช้ชงกินกับน้ำเย็น เป็นยาช่วยขับพยาธิตัวตืด และไส้เดือน แก้ท้องอืดเฟ้อ แก้โรคกระษัย แก้เบื่ออาหาร แก้กระหายน้ำ แก้ฝีในท้อง แก้ปวด แก้ลม ขับโลหิต แก้เคือง และแก้ปัสสาวะกะปริดกะปรอย

ราก ใช้รากสดหรือแห้ง นำมาต้มเอาน้ำกินเป็นยาแก้ไข้ แก้พิษร้อนใน แก้กระษัยในเส้นเอ็น และช่วยขับพยาธิ (วิทย์, 2542; นันทวันและอรนุช , 2542)

สรรพคุณของสมุนไพรที่ใช้รักษาโรคต่างๆ ขึ้นอยู่กับการออกฤทธิ์ของสารเคมีที่อยู่ในสมุนไพร ดังนั้น การวิจัยเกี่ยวกับสารเคมีต่างๆ ในพืชทำให้ได้ข้อมูลที่สำคัญและเป็นประโยชน์ สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา มีดังนี้

1. ลดความดันโลหิต
2. ต้านไวรัสที่ก่อโรคพืช
3. ต้านแบคทีเรีย ต้านไมโครแบคทีเรีย
4. ฆ่าพยาธิตัวตืด
5. การทดสอบความเป็นพิษ พบว่าเมื่อฉีดสารสกัดส่วนที่อยู่เหนือดิน

สารสำคัญในแก่นมะหาด

1. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารประกอบที่สามารถลดหรือชะลออัตราการเร่งของปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารที่เกิดออกซิไดซ์ได้เอง (Auto-oxidation) การเกิดออกซิเดชันแบบออโตออกซิเดชันจะทำให้เกิดสารประกอบแอลดีไฮด์ (Aldehydes) และ คีโตน (Ketones) ขึ้น (นิตยาและสุกานดา, 2549 ; วัลยาและพัชรี, 2542) สารต้านอนุมูลอิสระ จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ ประกอบของเซลล์ (วัลยาและพัชรี, 2542) เป็นสารที่สามารถยับยั้งออกซิเดชันในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระอยู่แล้ว ซึ่งประกอบได้ด้วยแอนติออกซิแดนท์มากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป บางตัวเป็นเอนไซม์ บางตัวเป็นสารประกอบ บางตัวเป็นสารที่ละลายในน้ำได้ บางตัวละลายได้ในไขมัน แอนติออกซิแดนท์เหล่านี้ทำหน้าที่ในการเป็นตัวป้องกันและกำจัดการก่อตัวของอนุมูลอิสระ นอกนั้นยังทำหน้าที่ซ่อมแซมส่วนที่ถูกทำลาย (สุเขตร์, 2548)

สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

1. สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระโดการให้อนุมูลไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรมากขึ้น สารที่มีสมบัติดังกล่าว เช่น สารประกอบฟีนอลิก หรือสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น บิวทิเลเตต ไฮดรอกซี่ โทลูอีน (Butylated hydroxy toluene, BHT) เป็นต้น

2. สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยา โดยตรงกับอนุมูลอิสระแต่จะทำหน้าที่คล้ายไฮโดรเพอร์ออกไซด์ ของไขมันทำให้เกิดเป็นสารที่มีความเสถียร เช่น กรดไทโอโพรพิโอนิก (Thiopropionic acid) เป็นต้น

3. สารที่ทำหน้าที่ดักจับออกซิเจน เป็นสารที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน แล้วกำจัดออกไปจากระบบได้ ซึ่งสารจับออกซิเจนจะช่วยเสริมฤทธิ์ หรือเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เป็นต้น

4. เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัดออกวิเจนเช่น กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase) หรือกำจัดสารที่เกิดการออกซิเดชันได้ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมูแทรส (Superoxide dismutase)

5. สารที่ทำหน้าที่จับอนุมูลอิสระ เป็นสารที่ทำหน้าที่จับกับอนุมูลโลหะ ซึ่งอนุมูลโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดง จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารที่ทำหน้าที่จับอนุมูลอิสระนี้เป็นตัวส่งเสริมการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ ซึ่งสารเหล่านี้อาจมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเล็กน้อยหรืออาจไม่มีเลย เช่น กรดซิตริก (Citric acid) กรดอะมิโน (Amino acid) (ชัยรัตน์, 2552)

2. เมลานิน (Melanin) เมลานินหรือเม็ดสีสร้างจากเซลล์ผิวหนังที่เรียกว่าเมลาโนไซต์ (Melanocyte) เป็นเซลล์ที่เจริญมาจากเซลล์ระบบประสาทซึ่งแทรกตัวอยู่ในชั้นหนังกำพร้าส่วนล่างสุด โดยเซลล์เมลาโนไซต์หนึ่งเซลล์จะแตกแขนงเป็นร่างแหเล็กๆ ยื่นไปสัมผัสเซลล์ผิวหนังประมาณ 35 เซลล์ เมลาโนไซต์จะสร้างสารเมลานินบรรจุในแคปซูลเรียกว่าเมลาโนโซม เมื่อสร้างเสร็จจะส่งไปตามร่างแหเข้าสู่เซลล์ผิวหนัง เมลานินสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด

1. ยูเมลานิน (Eumelanin) เป็นเซลล์เม็ดสีเข้ม เพราะมีเมลานินบรรจุอยู่ในแคปซูลมาก
2. ฟีโอเมลานิน (Pheomelanin) เป็นเซลล์สีเหลืองหรือแดง เพราะมีเมลานินน้อย

ฉะนั้นคนผิวขาว ผมแดง จึงมีฟีโอเมลานินมาก ส่วนคนผิวเข้ม ผมดำ จึงมียูเมลานินมาก ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่ทำให้คนผิวดำแตกต่างจากคนผิวขาว ผิวเหลือง คือคนผิวเข้มจะมีการสร้างเมลาโนโซมขนาดใหญ่กว่า มีจำนวนมากกว่า จึงทำให้สร้างเมลานินได้มากกว่า รวมถึงเมลาโนโซมถูกทำลายช้ากว่าคนผิวขาวด้วยแต่สีผิวของคนเราไม่ได้ขึ้นอยู่กับเมลานินเพียงอย่างเดียว ยังขึ้นอยู่กับเส้นเลือดและสารบางชนิด เช่น เบตาแคโรทีนที่ทำให้ผิวเหลือง นอกจากนี้ผิวหนังทั่วร่างกายของเราก็ยังมีการกระจายตัวของเม็ดสีไม่สม่ำเสมอ อาทิ พบเซลล์เม็ดสีมากบริเวณ หน้า หัวนม อวัยวะเพศ

เมลานินมีกลไกออกฤทธิ์ป้องกันแสงหลายประการ ได้แก่

1. ทำหน้าที่เหมือนแผ่นกรองแสง
2. ช่วยกระจายแสง เช่น แสงที่มีความยาวคลื่นสั้นอย่างแสงสีม่วงฟ้าที่เมื่อกระทบผิวหนังจะถูกหักเหออกไป
3. ดูดซับรังสีอัลตราไวโอเลตและแสงที่เห็นด้วยตาเปล่า แล้วกระจายออกเป็นความร้อน
4. ทำหน้าที่จับอนุมูลอิสระ

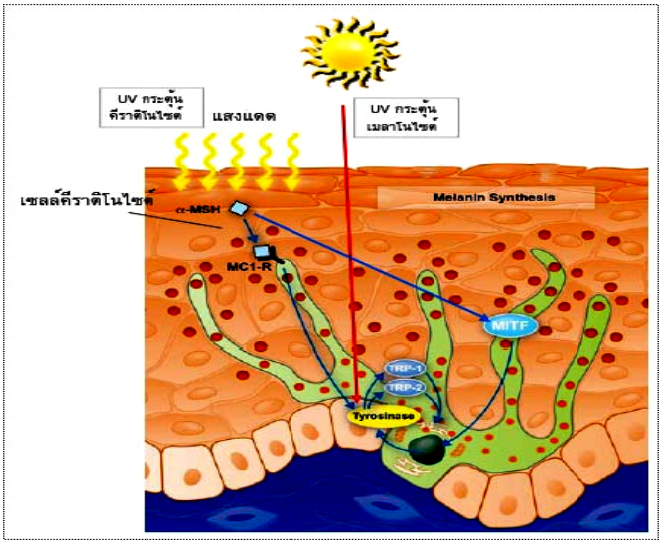
การผลิตเม็ดสีเมลานินเป็นผลจาก 2 ปัจจัยหลัก ดังนี้

1. รังสี UV เป็นปัจจัยสำคัญที่กระตุ้นให้มีการสร้างเมลานินและสิ่งแวดล้อมจะมีผลต่อปัจจัยนี้ (ภาพที่ 2.2)
2. พันธุกรรม เป็นตัวที่กำหนดสีผิวของแต่ละเชื้อชาติ ดังภาพที่ 2.3

รังสี UV สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างเม็ดสีเมลานินได้ 2 วิธี

1) กระตุ้นเซลล์เมลาโนไซต์โดยตรง โดยรังสี UV จะไปกระตุ้นเซลล์เมลาโนไซต์โดยตรง ให้มีการสร้างเม็ดสีเมลานินโดยจะกระตุ้นให้เอ็นซ์ไทโรสิเนสทำงานมากขึ้น ผลที่ได้คือเมลานินมากด้วย

2) กระตุ้น Keratinocyte โดยรังสี UV จะไปกระตุ้นเซลล์คีราติโนไซต์ให้หลั่งสารหลายตัวออกมา ตัวที่สำคัญคือ ฮอร์โมนที่หลั่งจากต่อมใต้สมองส่วนกลาง คือ เมลาโนไซท์ สติมูเลติง ฮอร์โมน (Melanocyte stimulating hormone เรียกย่อว่า α-MSH) สร้างจากเซลล์เมลาโนไซท์ (Melanotropic cell) รังสี UV จะไปกระตุ้น α-MSH ทำงาน ซึ่งตัวนี้จะไปกระตุ้นการสร้างเมลานิน

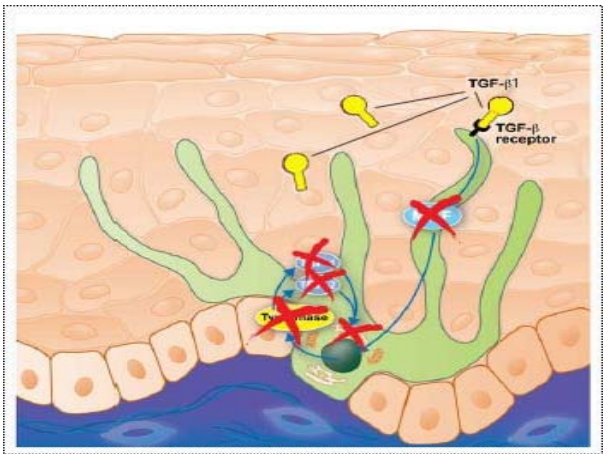


ภาพที่ 2.2 การผลิตเม็ดสีเมลานินโดยการกระตุ้นด้วยรังสี UV

ที่มา : http://www.brecosmeticlab.com/newslet/54/03_mar/02_betawhite.html

นักวิทยาศาสตร์เชื่อกันว่า Microphtalmia-associated transcription factor (MITF) เป็นหน่วยหนึ่งทางพันธุกรรมที่ควบคุมเซลล์เมลาโนไซต์ ให้ทำงานดังนี้

1. ให้สร้างเม็ดสีเมลานิน
2. แบ่งตัวเพิ่มจำนวน และ
3. วงจรชีวิตของเซลล์ จากการศึกษาวิจัยพบว่า Transforming growth factor - β1 (TGF-β1) ซึ่งปกติแล้วสารตัวนี้มีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ การปรับและพัฒนาตัวเองของเซลล์ให้โตขึ้น แต่จากงานวิจัยล่าสุดพบว่า TGF-β1 สามารถยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานินได้ด้วย



ภาพที่ 2.3 การสร้างเม็ดสีจากพันธุกรรม

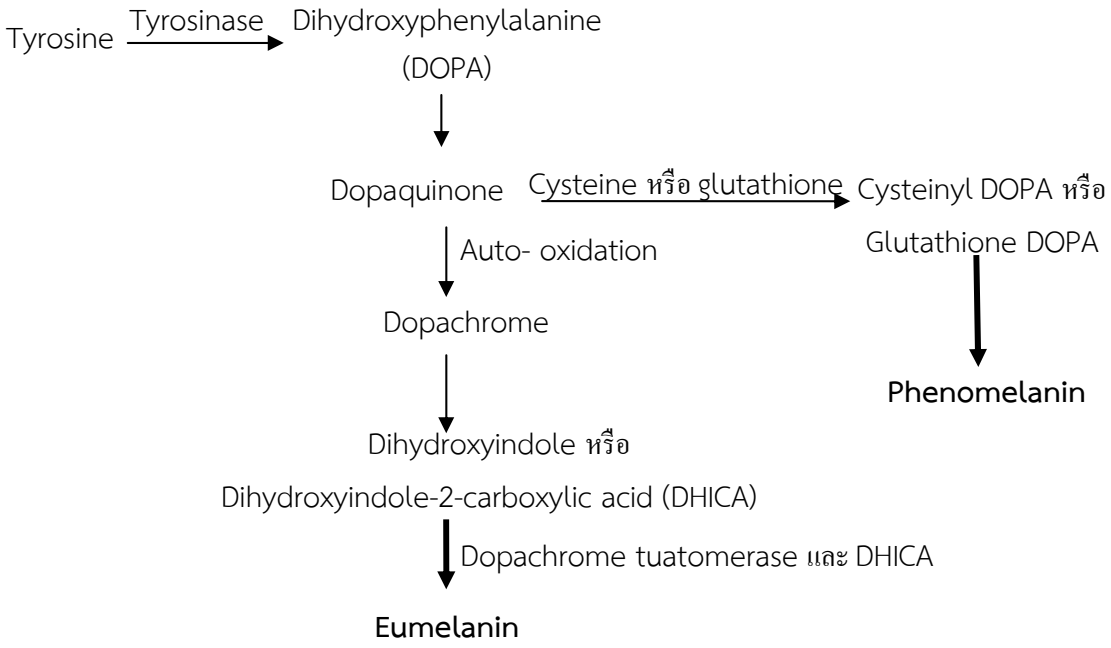
ที่มา : http://www.brecosmeticlab.com/newslet/54/03_mar/02_betawhite.html

จากรูป จะเห็นว่า TGF-β1 (เป็นตัวควบคุมที่พบในธรรมชาติ โดยจะไปยับยั้งการสร้างเมลานิน) จะไปจับกับ TGF-β receptor ที่ผนังของเซลล์เมลาโนไซต์ ผลจากการจับตัวกันนี้ จะไปกระตุ้นกลไกภายในเซลล์เมลาโนไซต์ ให้ลดการสร้างเม็ดสีเมลานินลง โดย

1. ลดการทำงานของเอ็นไซม์ Tyrosinase

2. ลดการผลิต MITF ด้วย

การลดการทำงานของ MITF และนอกจากนี้ยังมีหลักฐานว่า การควบคุมการสังเคราะห์เมลานินนี้เกิดขึ้นที่ระดับเซลล์คีราติโนไซต์ และ TGF-β1 ก็มีผลที่ระดับนี้ด้วยเช่นกัน เมื่อผิวหนังถูกรังสี UV จะกระตุ้นให้มีการสร้างเม็ดสีเมลานินเกิดขึ้น ทั้งที่ระดับเซลล์เมลาโนไซต์และผ่านทางเซลล์คีราติโนไซต์ ทำให้เกิดเม็ดสีเมลานินจำนวนมากขึ้นมา จากนั้น เซลล์คีราติโนไซต์จะหลั่งสาร TGF-β1 ออกมาเพื่อหยุดการสร้างเมลานิน ทั้งหมดนี้เป็นกลไกในการควบคุมตามธรรมชาติ โดย TGF-β1 จะไปจับกับ TGF-β receptor แล้วก็จะเกิดกระบวนการกระบวนการสร้างเมลานินจะใช้ tyrosine (เป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เมลานิน ดังแผนภาพแสดงดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 แผนภาพกระบวนการชีวสังเคราะห์ของเมลานิน (pheomelanin และ eumelanin)
ที่มา : ดัดแปลงจาก บุปผาชาติ และมณีรัตน์, 2549

นอกจากแสงแดดจะเป็นสาเหตุของรอยหมองคล้ำแล้ว ยังมีสาเหตุที่มาจากฮอร์โมน ซึ่งมักพบในสตรีมีครรภ์หรือสตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิดบางชนิดยารับประทานบางชนิดก็เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดฝ้าได้ เช่น ไดเฟนนิลไฮแดนดทอิน (Diphenylhydantoin) เป็นยากันชัก รอยด่างดำบางชนิดเกิดจากการใช้เครื่องสำอาง (Pigmented cosmetic dermatitis) ซึ่งจะทำให้ผู้ป่วยมีผื่นคันสีดำปนแดง และอาจมีอาการอักเสบร่วมด้วย นอกจากนี้ยังมีความเชื่อว่าพันธุกรรมและภาวะทุพโภชนาการอาจเป็นสาเหตุของฝ้าได้ ความผิดปกติของสีผิวชนิดเข้มขึ้นมีสาเหตุมาจากจำนวนเมลานินมากผิดปกติ การกระจายของเมลานินในชั้นหนังแท้ การสะสมของสารบางชนิดในผิวหนัง เช่น โลหะหนัก ยาบางชนิด หรือพอไพริน (Porphyrin) ที่ทำให้เมลาโนไซต์สร้างเมลานินมากขึ้น และความผิดปกติจากการหนาตัวของหนังกำพร้า ทำให้การผ่านของแสงและการกระจายของแสงเปลี่ยนแปลงไปรวมทั้งมีการดูดซับแสง (Absorption) เพิ่มมากขึ้นด้วย

กลไกลการทำหน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระมีกลไกลการทำงานแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มดังนี้

1. การดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) สารต้านอนุมูลอิสระ (AH) เหล่านี้สามารถชะลอหรือยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ในระยะเพิ่มจำนวน โดยการให้อนุมูลไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการ

$$LOO^{\circ} + AH \longrightarrow LOOH + A^{\circ}$$

$$LO + AH \longrightarrow LOH + A^{\circ}$$

$$A^{\circ} + LOOH \longrightarrow AH + LOO^{\circ}$$

$$A^{\circ} + LOO^{\circ} \longrightarrow AOOL$$

$$A^{\circ} + A^{\circ} \longrightarrow \text{non-radical products}$$

2. การสลายเพอร์ออกไซด์ (Peroxide decomposing) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด สามารถทำหน้าที่สลายเพอร์ออกไซด์ของไขมัน ให้เกิดเป็นสารที่มีความเสถียร เช่น แอลกอฮอล์ คีโตน หรือแอลดีไฮด์

3. การยับยั้งการทำงานของ Singlet oxygen (Singlet oxygen quenching) โดยปกติออกซิเจนที่อยู่ในสถานะพื้น (Ground state) จะอยู่ในรูปของ Triplet oxygen ($^3O_2$) จะไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับกรดไขมัน แต่เมื่อ Triplet oxygen ได้รับพลังงานกระตุ้นจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ Singlet oxygen ($^1O_2$) ซึ่งจะไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยากรดไขมัน ซึ่งสารที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของ Singlet oxygen อาจไปยับยั้งสารที่ไปกระตุ้นการเกิด Singlet oxygen หรืออาจเข้าจับกับ Singlet oxygen โดยไม่ทำปฏิกิริยาเคมี หรืออาจเข้าทำปฏิกิริยากับ Singlet oxygen (Meryer et al., 2002)

4. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Enzyme inhibiting) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแกลเลต (Gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซด์ลิพอกซีจิเนส ได้โดยการเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ จึงส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว (ปณัฐฐา, 2547)

5. การจับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Metal chelating) อนุมูลโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันโดยสารที่ทำหน้าที่จับกับโลหะเหล่านี้ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดซิตรก เอทิลีน ไดอะมินเททรา แอซิติกแอซิด (Ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA) นอกจากนี้กรดอะมิโน เฟปไทด์ และแลคโตเฟอริน (lactoferrin) ก็มีความสามารถในการจับกับอนุมูลโลหะเช่นกัน (Meryer et al., 2002)

6. การดักจับออกซิเจน (Oxygen scavenging) กรดแอสคอร์บิกมีสมบัติในการจับกับออกซิเจน สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับซุปเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide) อนุมูลไฮดรอกซิล อนุมูลเพอร์รอกซิล และ Singlet oxygen กรดแอสคอร์บิก ทำหน้าที่เป็นรีดิวซิง (Reducing agent) ซึ่งจะถ่ายไฮโดรเจนอะตอม (H) ให้กับออกซิเจน จึงทำให้ออกซิเจนไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อไป นอกจากนี้กรดแอสคอร์บิกยังทำหน้าที่เป็นตัวเสริมฤทธิ์ (Synergist) ให้กับโทโคฟีรอล (Tocopherols) โดยจะช่วยให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟา-โทโคฟีรอล เพอร์รอกซิล เปลี่ยนรูปกลับไปเป็นแอลฟา-โทโคฟีรอล ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้อีกครั้ง (ปณัฐฐา, 2547)

แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ

แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มดังนี้

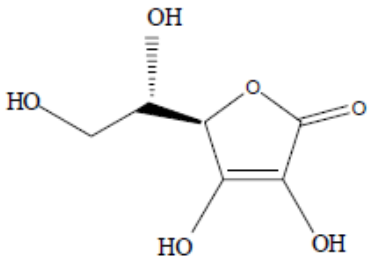
1. สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) เป็นสารที่พบได้ในธรรมชาติไม่ว่าจะมาจากพืช จุลินทรีย์ หรือเนื้อเยื้อของสัตว์ แบ่งกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเป็น 4 กลุ่มได้แก่ กลุ่มโมเลกุลเล็ก เช่น กรดแอสคอร์บิก โทโคฟีรอล แคโรทีนอยด์ และ โพลีฟีนอล กลุ่มของเอนไซม์ เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมูเทรส กลูทาไทโอนเพอร์ออกซิเดส (Glutathaione peroxidase) กลุ่มสารโมเลกุลใหญ่ เช่น อัลบูมิน (Albumin) เฟอติน (Ferritin) เป็นต้น

สารในธรรมชาติที่มีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ได้จะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของหมู่ OH ในสารประกอบฟีนอล ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสาร (Antioxidant activity, AOA) ขึ้นอยู่กับตำแหน่งและจำนวนของหมู่ OH รวมทั้งโครงสร้างอื่น ๆ ของโมเลกุล สารแอนติออกซิแดนท์ในธรรมชาติที่สำคัญมีดังนี้ (สุภามาส, 2547)

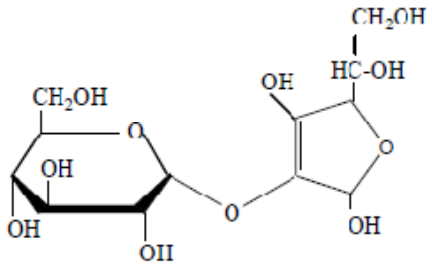
1.1 วิตามินซี (Ascorbic acid)

วิตามินซีเป็นสารที่ละลายน้ำได้ ลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่ากรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid) ในธรรมชาติจะพบ 2 รูปแบบ คือ Ascorbic acid (Reduced form) และ Dehydro-ascorbic acid (Oxidized form) สะสมมากที่บริเวณต่อมหมวกไต รองลงมาคือตับและม้าม ตามลำดับ วิตามินซีมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนและทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ของปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่างๆในร่างกาย นอกจากนี้วิตามินซียังเป็นส่วนหนึ่งของกลุ่มสารชีวเคมีที่สร้างคอลลาเจน (Collagen) ซึ่งเป็นโปรตีนส่วนหนึ่งของโครงสร้างกระดูกมนุษย์ วิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญชนิดหนึ่งในกระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกายเป็นสารสำคัญในปฏิกิริยาสายโซ่ของเอนไซม์ที่สำคัญนอกจากนี้ยังเป็นตัวที่ทำให้วิตามินอีนั้นกลับคืนมาได้ใหม่อีกครั้ง

วิตามินซีเป็นตัวก่อให้เกิดและปกป้องคอลลาเจน เสริมสร้างหน้าที่ของระบบภูมคุ้มกันให้ดีขึ้น เป็นตัวปรับน้ำตาลในเลือดปกป้องดวงตาจากการทำลายของแสงอัลตราไวโอเลต ป้องกันการก่อตัวของคลอเลสเตอรอลในผนังเลือดแดง ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ช่วยทำให้ปอดทำงานได้ดีขึ้น ช่วยให้มีการดูดซึมเหล็กได้ดีขึ้นที่ลำไส้เล็กและป้องกันการเปลี่ยนรูปของสารไนไตรท์เป็นสารไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสารก่อตัวมะเร็งและเป็นตัวร่วมในการสร้างฮอร์โมนที่เป็นตัวลดระดับภาวะตึงเครียดและภาวการณ์อักเสบ (สุเขตร์, 2548)



ภาพที่ 2.5 แสดงโครงสร้างของวิตามินซี Ascorbic Acid

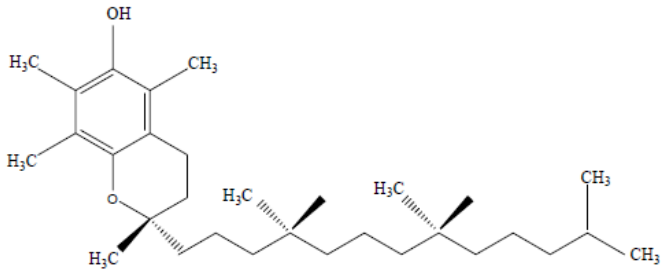


ภาพที่ 2.6 แสดงโครงสร้างของวิตามินซี Ascorbic Acid-2-Glucoside)

1.2 วิตามินอี (α -Tocopherol)

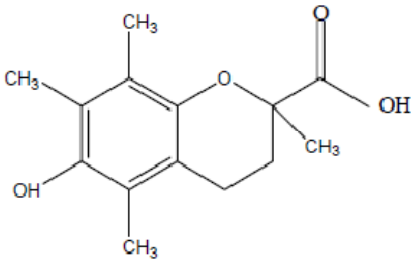
เป็นโมเลกุลที่ละลายได้ดีในน้ำมันหรือลิพิด ดังนั้นจึงสามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าได้ วิตามินอีช่วยปกป้องผนังเซลล์จากอนุมูลอิสระ การสะสมวิตามินอีบนผิวหนัง พบว่าช่วยปกป้องผิวจากแสงแดด และป้องกันมะเร็งจากผิวหนัง รวมทั้งช่วยซ่อมแซมผิวและให้ภูมิคุ้มกันผิวหนังอีกด้วย (โอภาและ มาลีรักษ์, 2549) ซึ่งปริมาณวิตามินอีในเลือดของคนปกติมีค่า 1.0 mg ต่อ 90% ของวิตามินอีในเนื้อเยื่อซึ่งจะอยู่ในรูป tocopherol สะสมในอวัยวะต่างๆ เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์ทั่วๆไป คือ ตับ กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน และต่อมต่างๆ วิตามินอีมีประสิทธิภาพในการทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิแดนท์ได้ดีมากจะป้องกันกระบวนการออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งเป็นส่วนประกอบของฟอสโฟลิปิดของแมมเบรนของออร์แกนเนล เนื่องจากวิตามินอีละลายในไขมันได้ดีจะแทรกตัวอยู่ตามเมมเบรน โดยเมื่อเกิด Liquid peroxidation จะมีการสร้าง Peroxyl radicals และ Alkoxyl radicals ขึ้น วิตามินอีจะเข้าจับกับสารดังกล่าวก่อนที่ Peroxyl radicals และAlkoxyl radicals จะไปจับกับกรดไขมันอื่นในช่วงของ propagation อีกทั้งวิตามินอียังทำงานร่วมกับ Glutathione peroxidase และธาตุ Selenium โดยในช่วงแรกๆ มีการตั้งชื่อวิตามินอีว่า วิตามินป้องกันการเป็นหมัน (Antisterility vitamin) เนื่องจากพบว่าวิตามินอีเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการสืบพันธุ์ในหนูตัวเมีย ถ้าขาดวิตามินอีจะทำให้ลูกอ่อนตายในครรภ์และแท้งลูก นอกจากนี้ยังพบมีการเรียกวิตามินอีว่าโทโคฟีรอล (Tocopherol) ในธรรมชาติมีวิตามินอีอยู่หลายชนิด ปัจจุบันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ โทโคฟีรอลและโทโคไทรอินอล (Tocotrienol) แต่ละกลุ่มยังแยกเป็นวิตามินย่อยๆอีก 4 ชนิด มีชื่อเรียกตามพยัญชนะในภาษาละตินว่า แอลฟา (α) เบต้า (β) แกมมา (γ) และ

เดลต้า (δ) ขึ้นอยู่กับจำนวนและตำแหน่งของหมู่เมธิลที่ติดกับวงแหวนโครเมน (Chromane ring) โทโคฟีรอลแตกต่างจากโทโคไทรอินอลที่โครงสร้างของโทโคฟีรอลมีแขนงข้างเป็น 4’, 8’, 12’- trimethyltridecyl เรียกว่า phytol หรือ phytyl side chain ส่วนโทโคไทรอินอลมีแขนงข้างที่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 3’, 7’ และ 11’ เรียกว่า unsaturated side chain (Cadenas and Packer, 1996)



ภาพที่ 2.7 แสดงโครงสร้างวิตามินอี (α -Tocopherol)

โทรลอก (Trolox) เป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ดัดแปลงโครงสร้างโดยการเปลี่ยนสายอัลเคนเป็นหมู่คาร์บอกซิลิก (-COOH group) ทำให้สามารถละลายได้ดีในน้ำ แต่เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำได้ดี จึงทำให้ออกฤทธิ์เร็วกว่าวิตามินอี โดยวิตามินอีต้องใช้เวลานานเป็นชั่วโมงหรือเป็นวัน ในขณะที่ Trolox ออกฤทธิ์เกือบจะทันทีในหลายโมเดล (โอภา และมาลีรักษ์, 2549) trolox เป็นแอนติออกซิแดนท์ที่กำจัดพวกเปอร์ออกซิล และอัลคอกซิล เรดิคัล จากนั้นจะเปลี่ยนรูปเป็น Trolox radical โดยมีวิตามินซี เป็นตัวช่วยให้คืนรูปกลับมา (สุเขตร์, 2548)



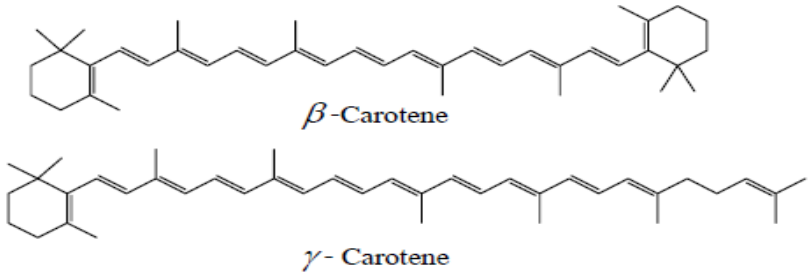
ภาพที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของโทรลอก (Trolox)

1.3 สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid)

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เป็นสารสำคัญที่พบในคลอโรพลาสต์ของพืชมีบทบาทในการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับคลอโรฟิลล์ โดยทำหน้าที่ช่วยคลอโรฟิลล์ในการดักรับพลังงานแสง ในผักและผลไม้ที่ยังไม่สุกจะพบแคโรทีนอยด์น้อยกว่าผักและผลไม้ที่สุกแล้ว เนื่องจากปกติผักใบเขียวหรือผักและผลไม้ที่ยังดิบอยู่ แคโรทีนอยด์จะอยู่ในส่วนของ คลอโรพลาสต์ ในขณะที่ผักหรือผลไม้สุกแคโรทีนอยด์จะถูกสังเคราะห์ขึ้นในโครโมพลาสต์เป็นปริมาณมากเนื่องจากเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์มีมากขึ้น โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่า Etraterpene skeleton ซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองข้างของโมเลกุล วงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้ แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามองค์ประกอบของโครงสร้างในโมเลกุล ดังนี้

1. แคโรทีน (Carotene) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและ ไฮโดรเจนเท่านั้น เช่น เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) แอลฟา-แคโรทีน (α-carotene) แกมมา-แคโรทีน (γ-carotene) และไลโคพีน (lycopene) เป็นต้น

2. ออกโซแคโรทีนอยด์ (Oxocarotenoid) หรือแซนโทฟิลล์ (Xanthophylls) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวนประกอบด้วยกลุ่มอื่น นอกเหนือจากคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น เบต้า-คริบโทแซนทิน (β-cryptoxanthin) และลูทีน (lutein) มี hydroxyl group, Violerythrin มี keto group และ violaxanthin มี epoxy group เป็นต้น



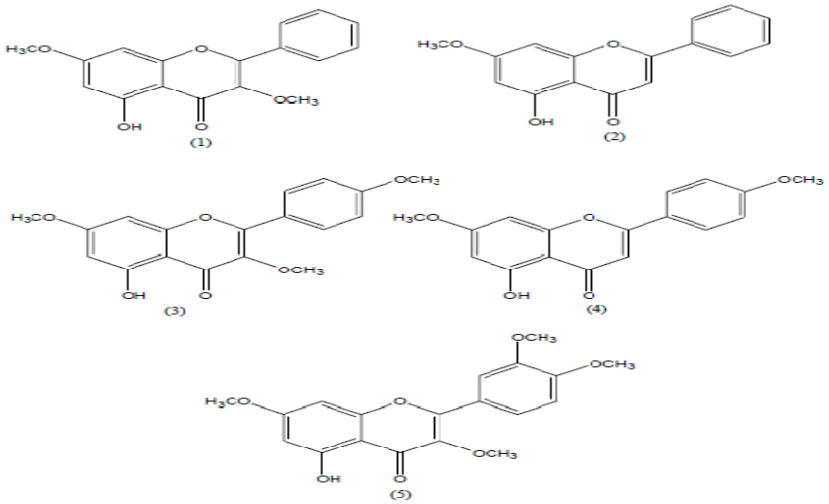
ภาพที่ 2.9 โครงสร้างโมเลกุลของแคโรทีนอยด์บางชนิด

1.4 สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

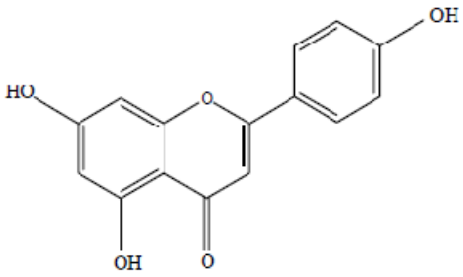
เป็นสารกลุ่มที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ พบอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียว และพบในทุกส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็นใบ ราก เนื้อไม้ เปลือกต้น ดอก ผล หรือเมล็ด เป็นสารที่ให้สี (pigments) ในสัตว์สามารถพบได้บ้าง โดยเชื่อว่ามาจากพืชที่บริโภคเข้าไปมากกว่าการเกิดชีวสังเคราะห์ในร่างกายของสัตว์เอง ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสาระสำคัญของกลุ่มโพลีฟีนอล (ปรีชา, 2549)

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ นอกจากจะเป็นสารที่ทำให้ดอกหรือผลมีสีสวย เช่น สีเหลือง ชมพู แดง ฟ้า หรือม่วง ซึ่งมีประโยชน์ใช้ล่อแมลง นก หรือผึ้งเข้ามาผสมเกสร เพื่อแพร่กระจายพันธุ์แล้ว มีรายงานการยืนยันถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารฟลาโวนอยด์ที่ใช้ป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่นโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านแพ้ ต้านไวรัส เป็นต้น คุณสมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์ (ปรีชา, 2549)

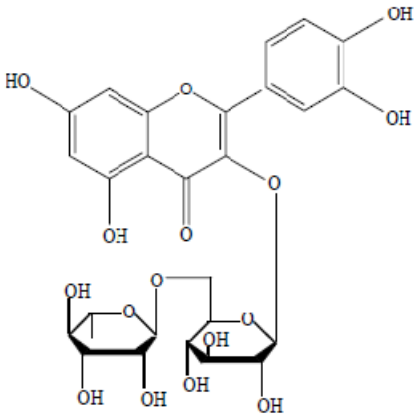
ฟลาโวนอยด์ที่มีความสำคัญทางเภสัชกรรมและการแพทย์แผนปัจจุบันในขณะนี้ เช่น รูทิน (Rutin) ที่มีฤทธิ์ช่วยเพิ่มความต้านทานของหลอดเลือดฝอย และสารสกัดจากใบแป๊ะก้วยช่วยเพิ่มการไหลเวียนของโลหิตไปสมองและช่วยทำลายอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดความเสื่อมของเนื้อเยื่อในร่างกายมนุษย์ ฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีสมบัติในการยับยั้งการเกิด ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดีมากในอาหารประเภทไขมันและไขมันผสมน้ำ



ภาพที่ 2.10 แสดงโครงสร้างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)



ภาพที่ 2.11 แสดงโครงสร้างของโพลีฟีนอล (Polyphenol)

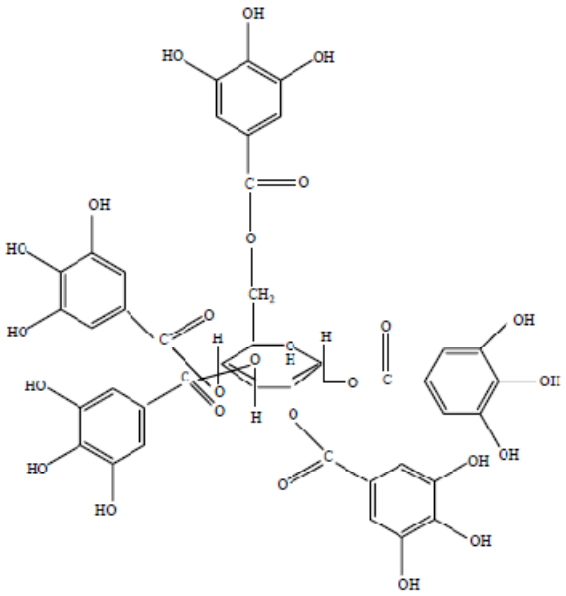


ภาพที่ 2.12 แสดงโครงสร้างของรูทิน (Rutin)

1.5 สารกลุ่มแทนนิน (Tannins)

แทนนิน คือ กลุ่มของสารประกอบที่ได้มาจากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เปลือก ใบ ผล เปลือกผล ซึ่งมีคุณสมบัติละลายได้ดีในน้ำ สามารถรวมตัวกับโปรตีนในหนังสัตว์ ในปัจจุบันได้มีการนิยามว่า แทนนิน คือ สารประกอบฟีนอลิคที่ได้จากธรรมชาติที่มีน้ำนักโมเลกุลระหว่าง 500 และ 3,000 ทั้งยังมีหมู่ฟีนอลิคไฮดรอกซี (Phenolic hydroxyl) อิสระอยู่จำนวนหนึ่ง (1-2 หมู่ต่อ 100 หน่วยน้ำหนักโมเลกุล) ที่สามารถเกิดการเชื่อมโยงได้กับสารโปรตีนและสารไบโอโพลิเมอร์ (Biopolymer) เช่น เซลลูโลส (Cellulose) และ เพคติน (Pectin) ได้สารใหม่ที่มีคุณสมบัติคงตัว

ธรรมชาติของแทนนินนั้น พบว่ามีการกระจายตัวอยู่ในอาณาจักรของพืชเกือบทุกวงศ์ และเกิดเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่เด่นมากในพืชใบเลี้ยงคู่จำนวนมากมาย แต่ในพืชชั้นต่ำ เช่น เชื้อรา สาหร่าย มอสส์ ลิฟเวอร์เวิร์ท (Liverworts) ตลอดจนพวกหญ้าทั้งหลาย พบว่ามีแทนนินเป็นองค์ประกอบอยู่น้อยมาก บทบาททางนิเวศวิทยาของแทนนินที่พบอยู่ในพืชยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดและโดยทั่วไปแล้วพืชทั้งหลายมักจะมีแทนนินเป็นองค์ประกอบ (สุเขตร์, 2548)



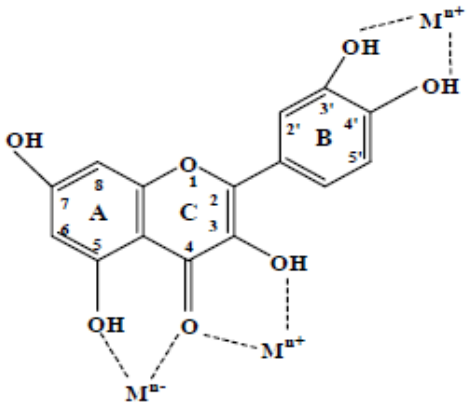
ภาพที่ 2.13 แสดงโครงสร้างของแทนนิน (Tannins)

1.6 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป พบได้มากในธรรมชาติอันได้แก่ ผักสีเขียว ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ชอกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ (ปรีชา, 2549) มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ที่มีจำนวน Hydroxyl group อย่างน้อยหนึ่งโมเลกุล สามารถละลายได้ในน้ำ ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกมักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่ม และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกัน กลุ่มใหญ่ที่พบจะเป็น

สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flovonoid) นอกจากนั้นยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น Simple monocyclic phenol, Phenyl propanoid, Phenolic, Quinine และ Polyphenolic ซึ่งได้แก่ ลิกนิน (Lignin) เมลานิน (melanin) และแทนนิน (tannin) รวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (Phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (Alkaloid) และเทอร์ฟีนอยด์ (Terpenoid) เป็นต้น

สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติที่หลากหลายตามชนิดของสารนั้นๆ เช่น ลิกนินทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช สารในกลุ่มแอนโธไซยานิน (Anthocyanin) เป็นสารที่ให้สีในดอกไม้ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญของพืชจำพวกถั่ว เป็นต้น นอกจากนี้พบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระ ที่สำคัญคืออนุมูล Peroxyl โดยมีกลไก 2 แบบ คือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอน Propagation ได้ (Basu et al., 1999) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็น chelating agent ดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซิทิน (Quercetin) โดยโครงสร้างของเคอร์ซิทินมีตำแหน่ง (binding site) ที่สามารถดักจับไอออนของโลหะ เช่น ทองแดง ได้ 3 บริเวณ คือบริเวณ 3',4'-dihydroxyl ของวงแหวน B บริเวณ 3-hydroxyl, 4-keto ของวงแหวน C และบริเวณระหว่างตำแหน่ง 5-hydroxy ของวงแหวน A กับตำแหน่ง 4-keto ของวงแหวน C ดังรูปภาพที่ 2.14



ภาพที่ 2.14 แสดงบริเวณ bingding site ของเคอร์ซิทินที่จับกับไอออนของโลหะ

สารประกอบฟีนอลิกยังทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ เป็นตัวให้ไฮโดรเจนและกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ด้วยทำหน้าที่ต่างๆ ดังกล่าวจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป

1.7 เอนไซม์ และโปรตีนบางชนิด

เมื่อร่างกายอยู่ในสภาวะเครียด (Oxidative stress) ซึ่งเป็นสภาวะที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมและป้องกันปริมาณของอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ได้ ร่างกายจะมีระบบป้องกันอนุมูลอิสระที่เรียกว่า Antioxidant defense system ซึ่งได้แก่ สารในกลุ่มของเอนไซม์ โปรตีน และ

สารอาหารต่างๆ เช่น วิตามินซี และวิตามินอี (วัลยาและ พัชรี, 2542) สารต้านอนุมูลอิสระในระบบดังกล่าวจะทำหน้าที่ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระและซ่อมแซมเซลล์ที่ได้รับความเสียหายเนื่องจากอนุมูลอิสระ

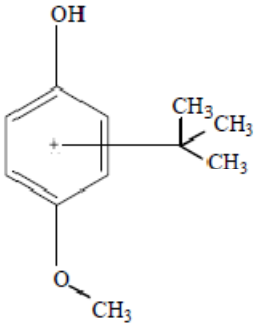
2. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthesis antioxidants) เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สังเคราะห์ขึ้น โดยในโครงสร้างจะมีการเติมหมู่แอลคิล เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติให้เหมาะสมกับการละลายในไขมัน นำไปใช้เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมัน สารสังเคราะห์เหล่านี้ เช่น บีเอชเอ บีเอชที และบีเอชคิว โดยในปริมาณไม่เกิน 0.02%

สารแอนติออกซิแดนท์ที่ได้จากการสังเคราะห์มีโครงสร้างได้หลายแบบและยับยั้งการเกิดออกซิเดชันด้วยกลไกที่แตกต่างกันดังนี้ (สุภามาส, 2547)

สารแอนติออกซิแดนท์สังเคราะห์ชนิด Proper antioxidants คือสารที่มีสมบัติเป็นตัวยับยั้งที่มีกลไกการป้องกันการเกิดออกซิเดชันด้วยตัวของมันเอง เป็นสารที่เติมลงไปเพื่อรับเอาอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นหลังจากสารอินทรีย์เสียไฮโดรเจนไปแล้ว เพื่อให้เกิดเป็นสารใหม่ที่เสถียรกว่าจึงสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ ซึ่งมีด้วยกัน 4 ชนิด คือ

2.1 Butylated Hydroxyanisole (BHA)

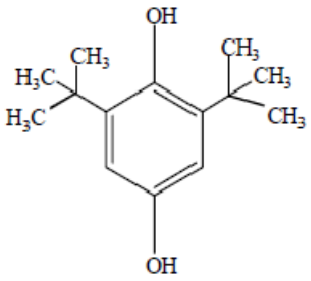
เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้กันมากชนิดหนึ่งโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทที่มีไขมันและน้ำมันเป็นส่วนประกอบ มีลักษณะเป็นของแข็งมันวาวสีขาว ละลายได้ในไขมันแต่ไม่ละลายในน้ำ



ภาพที่ 2.15 แสดงโครงสร้างของสาร Butylated Hydroxyanisole (BHA)

2.2 Butylated Hydroxytoluene (BHT)

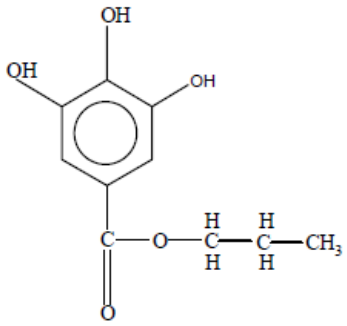
มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กัน เช่นเดียวกับ BHA แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าเล็กน้อย



ภาพที่ 2.16 แสดงโครงสร้างของสาร Butylated Hydroxytoluene (BHT)

2.3 Propyl Gallate (PG)

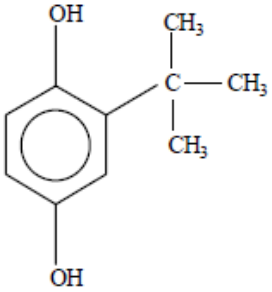
เป็นเอสเทอร์ของกรดแกลลิค มีลักษณะเป็นผงสีขาวละลายน้ำ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพดีมาก ช่วยป้องกันการเกิดเพอร์ออกไซด์ได้ดี



ภาพที่ 2.17 แสดงโครงสร้างของสาร Propyl Gallate (PG)

2.4 Tertiary Butylhydroquinone (TBHQ)

มีลักษณะเป็นผงสีขาวคล้ำ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารประเภททอด ช่วยป้องกันเรื่องการเปลี่ยนแปลงของสีและการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังละลายได้ดีในน้ำมันและไขมัน สารบางชนิดต้องทำงานร่วมกับสารแอนติออกซิแดนท์ชนิดอื่น ๆ จึงจะมีสมบัติในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้ เช่น กรดซิทริก กรดทาร์ทาริก และกรดแอสคอร์บิก



ภาพที่ 2.18 แสดงโครงสร้างของสาร Tertiary Butylhydroquinone (TBHQ)

การสกัด (Extraction)

การสกัดเป็นกระบวนการที่ใช้แยกสารที่ต้องการแยกออกจากของผสมหรือสารละลาย โดยใช้ตัวทำละลาย และวิธีการที่เหมาะสม ถ้าตัวถูกละลายที่ต้องการสกัดอยู่ในสารตัวอย่างที่เป็นของแข็งสามารถทำการสกัดด้วยตัวทำละลายของเหลวได้ ซึ่งเรียกว่าวิธีการสกัดนี้ว่า Solid-liquid extraction การสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับการละลายของตัวถูกละลายในตัวสกัด หรือตัวทำละลายของเหลว และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจะขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวถูกละลายที่อยู่ในสารตัวอย่างของแข็ง ถ้าตัวถูกละลายเพียงดูดซับที่ผิวของของแข็ง การสกัดก็จะใช้เวลาน้อย แต่ถ้าตัวถูกละลายอยู่ภายในโครงร่างของของแข็งก็ต้องใช้เวลามากกว่า และถ้าการแพร่ของตัวทำละลายสู่ภายในโครงร่างของของแข็งเกิดได้ช้ามากจำเป็นต้องบดของกแข็งให้มีขนาดเล็กลงก่อนทำการสกัดเพื่อช่วยลดระยะเวลาในการสกัดให้สั้นลง การสกัดของแข็งหรือการทำ Solid-liquid extraction สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการสกัดสารทางชีววิทยา สารอินทรีย์ ตลอดจนเกลือของสารอนินทรีย์ วิธีการสกัดของแข็งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

1. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีหนึ่งที่มีประโยชน์มากในเคมีอินทรีย์ สำหรับแยกสารและทำสารให้บริสุทธิ์ เช่น การสกัดแยกสารประกอบผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ การสกัดแยกสารที่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการออกจากของผสมในปฏิกิริยาการสังเคราะห์ต่างๆ หลักการของการสกัดจะเป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากของผสม

ถ้าตัวถูกละลายอยู่ในสารตัวอย่างของแข็งเพียงแต่ดูดซับที่ผิว และการละลายของตัวถูกละลายในตัวสกัดมีค่าสูง การสกัดสามารถทำได้โดยเติมตัวสกัด หรือตัวทำละลายลงไปในสารตัวอย่างภายในบีกเกอร์ หรือขวดรูปชมพู่ จากนั้นคนด้วยเครื่องคน (Magnetic stirrer) หรือใช้เครื่องเขย่า (Shaker) หรืออาจใช้วิธีการแช่ในตัวทำละลาย (Maceration) ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งตัวถูกละลายละลายในตัวสกัดหมดแล้ว ให้ใช้วิธีการกรองเอาของแข็งออกจากสารละลายจะสามารถแยกตัวถูกละลายออกมาจากสารตัวอย่างของแข็งได้

2. การสกัดด้วยเครื่องซอกเล็ต (Soxhlet extractor)

ถ้าตัวถูกละลายเป็นสารประกอบอินทรีย์ หรือสารทางชีววิทยา ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีการละลายในตัวสกัดต่ำหรือการสกัดจะสมบูรณ์ได้ต้องใช้เวลานาน จำเป็นตังใช้เทคนิคการสกัดด้วยเครื่องซอกเล็ต โดยบรรจุของแข็งที่ต้องการสกัดลงในถุงผ้า แล้วใส่ลงในหลอดแก้ว ตัวสกัดคือตัวทำละลายอินทรีย์ที่ระเหยกลายเป็นไอได้บรรจุอยู่ในขวดก้นกลม โดยการให้ความร้อนแก่ตัวสกัดในขวดก้นกลมจะทำให้ตัวสกัดระเหยกลายเป็นไอผ่านหลอดแก้วไปยังตัวควบแน่น เมื่อตัวสกัดถูกควบแน่นกลายเป็นของเหลวจะไหลตกลงมาบนของแข็งที่ต้องการสกัด เมื่อตัวถูกสกัดถูกสะสมในหลอดแก้วมากเพียงพอ ของเหลวจะเกิดการไหลกลับมายังขวดก้นกลม สารที่ถูกสกัดจะออกมากับตัวสกัด และสะสมในขวดก้นกลม ส่วนตัวสกัดจะถูกความร้อนทำให้กลายเป็นไอแล้วควบแน่นมาใช้ใหม่ได้อีกอย่างต่อเนื่อง

การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระออกจากพืช จัดเป็นการสกัดของแข็งด้วยของเหลว (Solid-liquid extraction) ซึ่งต้องทำการศึกษาตัวแปรที่มีผลต่ออัตราการสกัด และปัจจัยในการเลือกตัวทำละลายเพื่อให้ได้อัตราการสกัดสูงที่สุด

ตัวแปรที่มีอิทธิผลต่อการสกัด

1. ขนาดอนุภาค (Particle size) ขนาดอนุภาคถ้ามีขนาดเล็กจะทำให้พื้นที่ผิวในการถ่ายเทมวลสารมากขึ้น และระยะทางของตัวถูกละลายที่อยู่ภายในของแข็งจะสั้นลงทำให้ตัวถูกละลายแพร่กระจากออกสู่ตัวทำละลายได้เร็วขึ้น

2. ตัวทำละลาย (Solvent) ตัวทำละลายที่ดีควรมีขั้วที่เหมาะสมกับตัวถูกละลาย และมีความหนืดต่ำ เพื่อให้มีการไหลเวียนที่ดี โดยทั่วไปจะใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ ตัวทำละลายบริสุทธิ์จะไม่มีตัวถูกละลายอยู่เลย ระหว่างการสกัดความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลาย และตัวอย่างที่นำมาสกัดจะมีค่าลดลง ทำให้สกัดตัวถูกละลายได้ลดลง

3. อุณหภูมิของตัวทำละลาย เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้น เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสัมประสิทธิ์การแพร่กระจาย (Diffusivity) มีค่าเพิ่มขึ้น

เวลาในการสกัด ถ้าใช้เวลาในการสกัดน้อย สารที่ต้องการสกัดจะถูกสกัดออกมาได้น้อย ดังนั้นจะต้องใช้เวลาในการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด

4. การกวนของการไหล เป็นสิ่งสำคัญมาก เพราะจะช่วยเพิ่มอัตราการสกัดเนื่องจากเกิดการแพร่ในสภาวะปั่นป่วนทำให้อัตราการแพร่ ทำให้การสกัดดีขึ้น

ปัจจัยในการเลือกตัวทำละลาย

การเลือกตัวทำละลายในการสกัดผลิตภัณฑ์จากพืช มีปัจจัยสำคัญที่ต้องคำนึงถึงดังนี้

1. ตัวทำละลายที่ดีควรละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี (Partition coefficient, K สูง) ซึ่งพิจารณาได้จากสภาพขั้วที่คล้ายคลึงกัน
2. ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายของของผสมที่จะถูกสกัด
3. ไม่ควรละลายสิ่งเจือปนหรือสารที่ไม่ต้องการ
4. ควรมีจุดเดือดไม่สูงมากนัก เพื่อที่จะกำจัดออกไปจากสารที่ต้องการได้ง่ายภายหลังการสกัด
5. ต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารหรือตัวทำละลายอื่นๆ ที่จะใช้ร่วม
6. ตัวทำละลายควรมีราคาไม่แพง ไม่ควรมีพิษ และไม่ควรติดไฟง่าย (ถ้าจำเป็นต้องใช้ให้หลีกเลี่ยงการจุดตะเกียงหรือเครื่องทำความร้อนในขณะทำการสกัด)

ตัวทำละลายที่นิยมใช้สกัดสารในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether) ปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต เมธานอล และ เมทธานอล เป็นต้น (วิจิตรและคณะ, 2548)

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

Candida albicans เป็นเชื้อยีสต์ (Adam, 1986) ที่มีอยู่ทั่วไปตาม ช่องปาก ทางเดินอาหาร ผิวหนัง โดยปกติมันก็จะอยู่กับเราได้โดยไม่เป็นอันตราย แต่หากภูมิคุ้มกันอ่อนแอ หรือได้รับยาปฏิชีวนะเข้าไปเชื้ออื่นๆที่มีประโยชน์ในร่างกายอ่อนแอลงก็จะยอมให้เจ้าตัวนี้เพิ่มจำนวนมันจะกลายเป็นเชื้อฉวยโอกาสก่อให้เกิดโรคผิวหนังได้เช่น เป็นขาวๆที่ช่องปาก เล็บ (Creamy-white or bluish-whitepatches) หรือเป็น

ผื่นแดงๆ (Red rush) เป็นสากๆ (Scaly) เกิดการอักเสบตามผิวหนัง (Inflammation) หรือแม้กระทั่งคันและอักเสบบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ (Adam, 1986)

Staphylococcus aureus (Götz et al., 2006) เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม แกรมบวกอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม อาศัยอยู่ตามผิวหนัง ลำคอ จมูก และ ลำไส้ของคน เป็นต้น เป็นแบคทีเรียที่เด่นในเรื่องผิวหนัง เนื่องจากโดยปกติมันอาศัยตามผิวหนังของคนเราหากมีบาดแผลหรือรอยถลอก เชื้อนี้จะสามารถเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลนี้และทำให้เกิดหนอง (AOAC International, 1998) ถ้าในภาวะที่ร่างกายมีความต้านทานต่ำเชื้อนี้ก็จะเข้าแทรกซ้อนได้และสามารถติดต่อจากคนสู่คนผ่านการสัมผัสแผลหนองนอกจากนี้อาจทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดต่อไปได้

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียรูปร่างแท่ง แกรมลบ อาศัยอยู่ในน้ำ ดิน ของเน่าเสีย บางครั้งพบในลำไส้ของคนและสัตว์ เชื้อนี้มักจะแทรกซ้อน เช่น กรณีร่างกายได้รับอุบัติเหตุ เกิดบาดแผล หรือรับการผ่าตัดร่างกาย จะมีความต้านทานน้อยลงเมื่อได้รับเชื้อนี้เข้าไปอาจทำให้ถึงตายได้ ซูโดโมนาส (*Pseudomonas*) นี้ยังดื้อต่อยาฆ่าเชื้อโรคบางชนิดได้ (Jefferson et al., 2005) ดังนั้นจึงเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดอาการแทรกซ้อนได้ง่ายเมื่อร่างกายอ่อนแอและที่สำคัญในทางเครื่องสำอางคือหากเกิดการติดเชื้อที่ตาจะก่อให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อในตาซึ่งจะทำให้ตาบอดได้

Clostridium spp. เป็นเชื้อจุลินทรีย์รูปแท่ง ไม่ต้องใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโตเป็นสาเหตุของการเกิดเน่าตายของเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการติดเชื้อที่อวัยวะหลาย ๆ แห่ง เช่น ระบบอวัยวะสืบพันธุ์ และกระเพาะปัสสาวะ และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในการเกิดโรคในทางเดินอาหารอยู่ในวงศ์ Entero bacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform) ประเภท Fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีคุณสมบัติสำหรับป้องกันการจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา ควบคุมและป้องกันโรคพืชจากแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Erwinia spp, Alternaria spp.*และจากเชื้อรา (mold) เช่น *Fusarium* เป็นbacterialที่ใช้อย่างกว้างขวางมาก ในการผลิต enzymesและมีความจำเพาะทางเคมีในทางอุตสาหกรรมจึงนำไปประยุกต์ในการผลิต Enzyme เช่น Amylase และ Protease เป็นต้น

การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์มาตรฐาน (Standard plate count ,SPC) (Hunsinger, *et al*, 2005)

คือการนับเซลล์จุลินทรีย์โดยดูจากจำนวนโคโลนี (Colony) ที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ มีความสำคัญ คือ ต้องมีจำนวนไม่มากหรือน้อยเกินไป โดยทั่วไปจะนับเฉพาะจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ระหว่าง 25-250 เซลล์เท่านั้น เมื่อเชื้อจุลินทรีย์เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนับจำนวน คำนวณหาจุลินทรีย์ต่อกรัมหรือมิลลิลิตรของตัวอย่าง การรายงานผลมักรายงานเป็น Colony Forming Unit (CFU)

มากกว่าจำนวนจุลินทรีย์ เนื่องจากไม่สามารถบอกได้อย่างแน่นอนชัดเจนว่า 1 โคโลนี (Colony) มาจาก 1 เซลล์ การนับจำนวนด้วยวิธี Plate count จึงเป็นการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (Viable count)

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่ทำมาจากสารสกัดที่ทำให้ผิวขาวและมีที่มาจากธรรมชาติ มีหลายชนิด ได้แก่ สารสกัดเปลือกสน สารสกัดเมล็ดองุ่น สารสกัดเมล็ดลำไย สารสกัดเมล็ดลิ้นจี่ สารสกัดรังไหม สารสกัดใบหม่อน สารสกัดแก่นมะหาด สารสกัดผลมะขามป้อม และสารสกัดรากชะเอมเทศ เป็นต้น ซึ่งที่ผ่านมายังอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย และมีกลไกในการออกฤทธิ์ต่างกัน ล้วนมีศักยภาพสูงในการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ทำให้หน้าขาว เพราะมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase) หรือฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ข้อควรระวังในการใช้ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวคือควรใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาและมีฉลากที่ถูกต้อง รวมถึงไม่ควรใช้ผลิตภัณฑ์ ที่มีส่วนผสมของสารปรอทซึ่งอาจเกิดอันตราย ซึ่งสารสกัดเหล่านี้ส่วนใหญ่ได้มาจากพืชของไทย จึงนับว่าเป็นจุดเริ่มต้นที่ดีที่จะช่วยกันพัฒนาอุตสากรรมผลิตภัณฑ์ทำให้หน้าขาวสำหรับคนไทย และเป็นสินค้าส่งออกไปยังต่างประเทศเพื่อลดการขาดดุลการค้าและยังเป็นการช่วยสนับสนุนผลิตผลทางการเกษตรของเกษตรกรไทยอีกด้วย

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จุไรรัตน์ รัตนพันธ์ (2547) ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเบื้องต้นในพืชสมุนไพรไทยโดยทดสอบกับ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร พบว่าสารสกัดชั้นไดคลอโรมีเทนและสารสกัดชั้นเอธิลอะซิเตตของลำต้นชะลู *(Alyxia reinwardtii)* มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดี จากนั้นจึงนำส่วนของสารสกัดเหล่านี้มาศึกษา พบว่า สาร zhebeiresinol มีฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระ โดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 วิธี คือ วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPHวิธีทดสอบฤทธิ์เกี่ยวเนื่องกับเอนไซม์ xanthine oxidase) และวิธีการทดสอบการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในไขมัน จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสาร 7 (IC_{50}) =0.19 mM) แสดงฤทธิ์สูงสุด ตามด้วยสาร 6 (IC_{50} = 0.31 mM) สาร 2 (IC_{50} = 0.61 mM)สาร 5 (IC_{50} = 3.17 mM) และสาร 4 (IC_{50} = 71.05 mM) ในขณะที่สาร 1, 3 และ 8แสดงฤทธิ์ที่ต่ำ (IC_{50} > 100 mM) ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide พบว่าสาร 2(IC_{50} = 4.55 mM) สาร 6 (IC_{50} = 4.51 mM) และสาร 7 (IC_{50} = 3.38 mM) แสดงฤทธิ์ที่ดี ในขณะที่สาร 1 และ 8 ไม่แสดงฤทธิ์ (IC_{50} > 100 mM) อย่างไรก็ตามสารทั้งหมดไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ xanthine oxidase จากผลการทดสอบการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในไขมัน พบว่าสาร 6 และ 7 แสดงฤทธิ์ที่สูง (IC_{50} = 3.31 และ 2.08 mMตามลำดับ) ขณะที่สาร 1, 2, 3, และ 4 แสดงฤทธิ์ปานกลางโดยมี IC_{50} = 67.64, 69.07,67.45, และ 58.13 mM ตามลำดับ

กนกภรณ์ พยาฆรินทรังกูร (2548) ได้ค้นหาสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากพืชสมุนไพรไทยจำนวน 40 ชนิดโดยทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH ย่อมาจาก 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6,-trinitrophenyl) hydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร พบว่า สารสกัดรากต้นพีพวนน้อย (*Uvaria rufa*) ชั้นไดคลอโรมีเทนและในชั้นบิวทานอล แสดงฤทธิ์ที่ดี ดังนั้น จึงเลือกนำมาศึกษาต่อไป โดยการแยกองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟิก แยกสารได้ทั้งหมด 15 ชนิด ในส่วนของสิ่งสกัดไดคลอโรมีเทนพบสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 6 ชนิด ในส่วนของสารสกัดรากต้นพีพวนชั้นบิวทานอล พบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์ 7 ชนิด

ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชั้นไดคลอโรมีเทนและชั้นบิวทานอล 3 วิธี ได้แก่ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซุปแปอร์ออกไซด์ (superoxide) และการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีน ออกซิเดส จากผลการศึกษาพบว่า สาร 2,5-ไดไฮดรอกซี-6,7-ไดเมทรอกซี ฟราโวน ในชั้นบิวทานอล (dimethoxy flavanone 2,5-dihydroxy-6,7-dimethoxy flavanone) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชและซูเปอร์ออกซิเดส ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} = 0.16 และ 1.03 mg/mL ตามลำดับ ในส่วนของฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีน ออกซิเดส ไม่มีสารใดแสดงฤทธิ์ที่ดี

พรสุข จิตรถเวช (2548) ศึกษาประเมินฤทธิ์ของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายต่างชนิดกัน จากผลมะขามป้อมที่ปลูกในประเทศไทย ในการมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านคอลลาจิเนส และฤทธิ์ต้านไทโรซิเนส โดยนำผงแห้งของสารสกัดมะขามป้อมจากการพ่นแห้งมาสกัดโดยตรงด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดที่มีสภาพขั้วต่างๆ กัน ได้แก่ เอธิลอะซิเตต อะซิโตน และเอธานอล โดยใช้เครื่องสกัดซอกเลต ผลแห้งของสารสกัดมะขามป้อมที่เหลือจากการสกัดด้วยเอธิลอะซิเตต ถูกนำมาสกัดอย่างต่อเนื่องด้วยอะซิโตน และต่อด้วยเอธานอลได้สารสกัดอะซิโตน (อย่างต่อเนื่อง) และสารสกัดเอธานอล (อย่างต่อเนื่อง) ตามลำดับ สารสกัดทั้ง 5 ส่วน สารสกัดมะขามป้อมจากการพ่นแห้งและสารสกัดมะขามป้อมทางการค้าถูกนำมาประเมินฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากคุณสมบัติการให้ไฮโดรเจนอะตอมและการยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลแม้ว่าสารสกัดอะซีโตน (โดยตรง) เอธานอล (โดยตรง) เอธานอล (อย่างต่อเนื่อง) อะซิโตน (อย่างต่อเนื่อง) และสารสกลัดมะขามป้อมพ่นแห้ง IC_{50} 4.43, 4.62, 4.63, 5.00 และ 6.29 mg/mL ตามลำดับ มีฤทธิ์ในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระดีพีพีเอชน้อยกว่าอีจีซีจี วิตามินซีและโทรรอกซ์แต่ก็ยังมีฤทธิ์สูงกว่าสารสกัดมะขามป้อมทางการค้า IC_{50} 6.87 mg/mL ส่วนสารสกัดเอธิลอะซิเตตมีฤทธิ์ในการให้ไฮโดรเจนอะตอมต่ำที่สุด โดยแสดงค่า IC_{50} สูงที่สุดเท่ากับ 7.74 mg/mL สำหรับฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลนั้นสารสกัดอะซิโตน (อย่างต่อเนื่อง) IC_{50} 0.88 mg/mL มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงที่สุดและใกล้เคียงกับโทรรอกซ์ IC_{50} 0.92 mg/mL ในขณะที่สารสกลัดจากมะขามป้อมพ่นแห้ง IC_{50} 1.12 mg/mL และอีจีซีจี IC_{50} 1.19 mg/mL ให้ฤทธิ์น้อยกว่าสารสองชนิดแรกแต่ยังคงมีฤทธิ์มากกว่าสารสกัดมะขามป้อมทางการค้า IC_{50} 1.62 mg/mL และสารสกัดอะซิโตน (โดยตรง) พบว่าสารสกัดมะขามป้อมทั้งหมดที่ความเข้มข้นต่ำมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการเกิดออกซิเดชันต่อการสลายตัวของดีออกซีไรโบส แต่อย่างไรก็ตามพบว่าฤทธิ์ในการกระตุ้นออกซิเดชันนี้ลดลงเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นและพบว่าสารสกัดอะซิโตน (อย่างต่อเนื่อง) ไม่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นออกซิเดชันที่ความเข้มข้นสูงกว่า 1 mg/mL ในขณะที่สารสกัดมะขามป้อมอื่นๆ และ อีจีซีจี ยังคงแสดงฤทธิ์กระตุ้นออกซิเดชันพบว่าทั้งสารสกัดเอธานอล และสารสกัดอะซิโตน มีฤทธิ์ต้านคอลลาจิเนสมากกว่าสารสกัดมะขามป้อมอื่นๆ ในขณะที่สารสกัดมะขามป้อมทางการค้ามีฤทธิ์ต้านคอลลาจิเนสต่ำที่สุด ฤทธิ์ต้านไทโรซิเนสของสารสกัดมะขามป้อมในการป้องกันการสร้างเมลานิน พบว่าสารสกัดเอธิลอะซิเตตให้ฤทธิ์ในการยับยั้งไทโรซิเนสมากที่สุดซึ่งส่งผลให้สารสกัดโดยตรงของทั้งอะซิโตนและเอธานอลมีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสมากกว่าสารสกัดอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้พบว่าสารสกัดมะขามป้อมทั้งหมดมีความคงตัวดีในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชในช่วงการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 เดือน จากข้อมูลการศึกษานี้บอกได้ว่ามะขามป้อมที่ปลูกในประเทศไทยสามารถช่วยป้องกันผิวหนังจาการทำลายของอนุมูลอิสระ ทั้งยังป้องกันผิวหนังจากเอนไซม์คอลลาจิเนสและเอนไซม์ไทโรซิเนส ดังนั้นด้วยคุณสมบัติมากมายของสารสกัดมะขามป้อม สารสกัดมะขามป้อมจึงเป็นประโยชน์มากต่อการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องต่อสุขภาพ

ธัญลักษณ์ เมืองมั่น (2548) การศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในผักและผลไม้มีคุณสมบัติในการลดโอกาสเสี่ยงที่จะเกิดโรคเรื้อรังและโรคที่เกิดจากความเสื่อมของอวัยวะต่างๆ ได้ โดยสมมุติฐานเกี่ยวกับพยาธิวิทยาของโรคเหล่านั้นเชื่อว่าเกิดจากการที่อนุมูลอิสระทำลายโมเลกุลของสารพันธุกรรม (ดีเอ็นเอ) โปรตีน ไขมัน และ สารโมเลกุลเล็กอื่นๆในเซลล์ของร่างกาย ปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติโดยเฉพาะสารที่ได้จากพืชเพื่อใช้ในการรักษาและป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เพิ่มมากขึ้น แต่จำนวนการศึกษาทางวิทยาศาสตร์เพื่อบอกถึงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านในประเทศไทยยังมีน้อยมาก ผักเชียงดาเป็นพืชพื้นบ้านของประเทศไทยที่นิยมปลูกในแถบภาคเหนือของประเทศ มีการศึกษาพบว่าผักเชียงดามีสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักเชียงดาในรูปแบบการเตรียมต่างๆ กัน รวมทั้งศึกษาผลต่อการป้องกันการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงและการเสียหายของดีเอ็นเอ ผักเชียงดาถูกเตรียมด้วยวิธีการ 4 แบบ ได้แก่ น้ำคั้นผักสด ส่วนที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 และ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 การทดสอบคุณสมบัติการจับอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันการทำลายสารชีวโมเลกุลใช้วิธี DPPH assay, deoxyribose assay, hemolysis assay, และ comet assay จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำคั้นผักสดมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และป้องกันการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงและการเสียหายของดีเอ็นเอสูงสุดรวมทั้งมีปริมาณของวิตามินอี และเบต้าแคโรทีนสูงที่สุดด้วย ส่วนสารสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 50มีปริมาณของสารประกอบฟินอลิกสูงสุด และสารสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟินอลิกต่ำสุด การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าผักเชียงดาในรูปแบบของผักสดที่ไม่ผ่านขบวนการแปรรูปมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีและยังมีปริมาณวิตามินที่มีคุณสมบัติที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงอีกด้วย

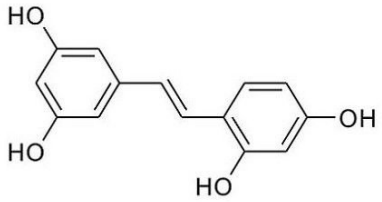
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย (2550) ได้พัฒนาสูตรตำรับสมุนไพรไทยจากแก่นมะหาด จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากแก่นมะหาด ลดความเข้มของเม็ดสีเมลานินในผิวหนัง มีผลทำให้ผิวขาวได้ปลอดภัยและไม่ทำให้ระคายเคืองผิว ทั้งนี้เนื่องมาจากสารสกัดจากแก่นมะหาดมีสารสำคัญคือ สารออกซิเรสเวอราทรอล (2,4,3",5" – tetrahydroxystibene) ซึ่งสารนี้สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส และจากการศึกษาในอาสาสมัครจำนวน 4 คน โดยทาสารสกัดจากแก่นมะหาดที่แขนวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และทำการวัดค่าความเข้มของสีผิวด้วยเครื่องแมกซามิเตอร์ (Mexameter) พบว่าแขนที่ทาด้วยสารสกัดจากแก่นมะหาดมีแนวโน้มให้ค่าความเข้มของสีผิวลดลง นอกจากนี้ ยังไม่มีอาการแพ้หรือระคายเคือง ผู้วิจัยได้ศึกษาในอาสาสมัครจำนวนมากขึ้น คือ 60 คน ในระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยแบ่งอาสาสมัครออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน เป็นเพศหญิง อายุ 20–48 ปี มีสภาพผิวหนังปกติ จากการทาสารสกัดที่ต้นแขนของอาสาสมัครวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น เปรียบเทียบกับอาสาสมัครที่ทาด้วยสารสกัดจากชะเอมและกรดโคจิก ผลการทดลองพบว่ากลุ่มอาสาสมัครที่ทาด้วยสารสกัดจากมะหาด จะมีผิวขาวขึ้นเรื่อย ๆ ความขาวของสีผิวจะเห็นผลในระยะเวลาเพียง 4 สัปดาห์ และจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างมีนัยสำคัญตามระยะเวลาที่ทำการทดลอง นอกจากนี้ ยังไม่พบอาการแพ้หรือระคายเคืองผิวแต่อย่างใด ในขณะที่กรดโคจิกให้ผลในการทำให้ผิวขาวในระยะเวลาที่นานกว่า 8 สัปดาห์

จำเนียร โสมณวัฒน์ และคณะ (2550) ได้ทำการศึกษากลุ่มสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเมลานินและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากใบกระดังงาจีน โดยนำสารสกัดจากใบกระดังงาจีนในชั้นเฮกเซน เอธิลอะซีเตตและเมธานอล มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการศึกษาสารสกัดหยาบชั้นที่

แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส คือสารสกัดชั้นเอธิลอะซีเตต (%tyrosinase inhibition 24.37±13.62) สารสกัดชั้นเมธานอล แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยมี %DPPH inhibition 46.57±1.38 จากนั้นนำสารสกัดชั้นเอธิลอะซีเตต และเมธานอล ไปแยกให้เป็นส่วนสกัดด้วยคอลัมน์ โครมาโตกราฟี และทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า ส่วนสกัด AHM 2, 6 และ 7 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสดี โดยมี %tyrosinase inhibition ดังนี้คือ 37.50±1.85, 40.15±4.81 และ 43.60±7.49 ตามลำดับ และแสดง % DPPH inhibition ดังนี้คือ 31.95±1.36, 21.48±8.89 และ 40.54±1.18 ตามลำดับ จากนั้นแยกส่วนสกัด AHM 2, 6 และ 7 ต่อ และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าส่วนสกัดย่อย AHM 7-1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีที่สุด (%tyrosinase inhibition 29.58±3.57) ส่วนสกัดย่อย AHM 6-4 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด (%tyrosinase inhibition 79.01±7.45) จากนั้นศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของ AHM 6-4 และ 7-1 ด้วย TLC พ่นด้วยน้ำยา dragendorff, vanillin - sulfuric acid และ ferric chloride พบว่าให้ผลบวกกับ ferric chloride ทำให้ทราบเบื้องต้นว่า AHM 6-4 และ 7-1 ประกอบด้วยสารกลุ่มฟีนอล

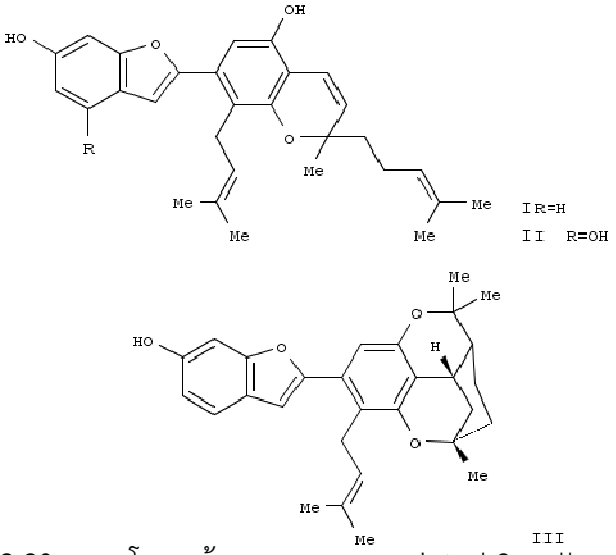
Kondo และคณะ (1998) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่ได้จากพืช 22 ชนิดได้แก่ *Artocarpus lakoocha* Roxb., *Streblus asper* Lour., *Blumea balsamifera* DC., *Pluchea indica* (L.) Less., *Coccinia indica* Wight & Arnott, *Coccinia grandis* Voight, *Gloriosa superba* L., *Heliotropium indicum* R. Br., *Hibiscus sabdariffa* L., *Mammea siamensis Kosterm*., *Michelia champaca* L., *Murraya paniculata* Jack, *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil., *Morinda citrifolia* L., *Randia siamensis* Craib., *Solanum trilosatum* L., *Diospyros mollis* Griff., *Elephantopus scber* L., *Mesua ferrea* L., *Micromelum minutum* Seem., *Orthosiphon stamineus*, และ *Solanum violaceum* Ortega. พบว่าสารสกัดทั้ง 22 ชนิดมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ยับยั้งการเกิดเม็ดสี (melanin generation) และมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิด lipid peroxidation จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผิวพรรณได้

Tengamnuay และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากแก่นต้นมะหาด (*Artocarpus lakoocha* Roxb.) พบว่าจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในระดับหลอดทดลอง และมีผลต่อการสร้างเม็ดสีของคน โดยทำการศึกษาในระดับสัตว์ทดลอง จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบและสาร Oxyresveratrol ซึ่งเป็นสารหลักที่พบในแก่นมะหาดจะแสดงค่า IC_{50} เท่ากับ 0.76 and 0.83 µg/mL ตามลำดับ



ภาพที่ 2.19 แสดงโครงสร้างสาร Oxyresveratrol

Sritularak และคณะ (2010) สามารถแยกสารชนิดใหม่ 3 ชนิดจากส่วนรากของมะหาด คือ prenylated2-arylbenzofurans-artolakoochol (I), 4-hydroxy-artolakoochol (II) และ cycloartolakoochol (III) โดยทำการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และเปรียบเทียบข้อมูลกับผู้วิจัยที่เคยรายงานไว้แล้ว



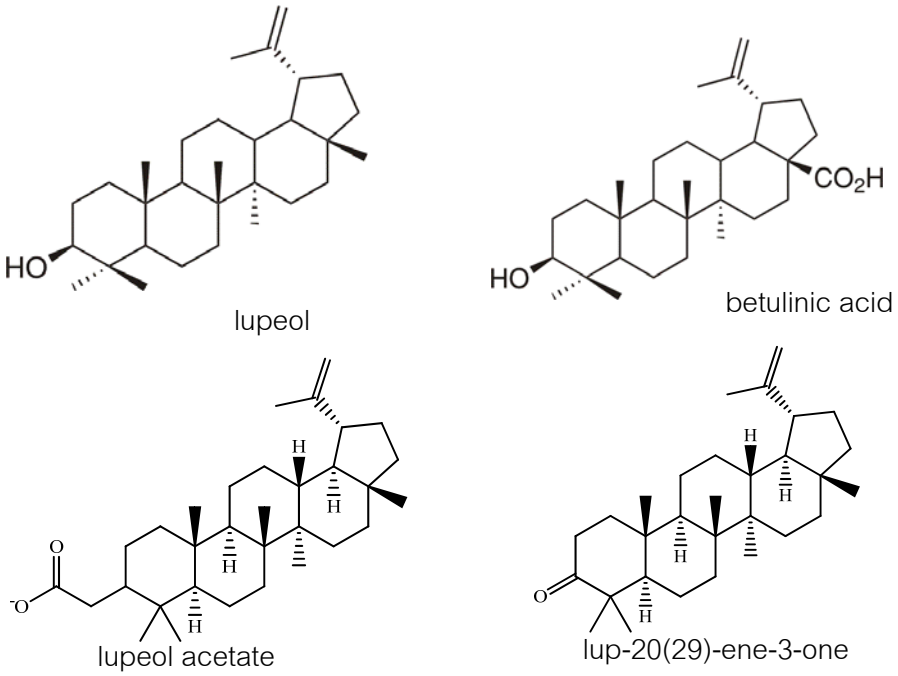
ภาพที่ 2.20 แสดงโครงสร้างของสาร prenylated-2-arylbenzofurans-artolakoochol (I), 4-hydroxy-artolakoochol (II) และ cycloartolakoochol (III)

Povicit และคณะ (2010) สามารถแยกสาร oxyresveratrol ได้จากแก่นของมะหาด (*Artocarpus lakoocha* Roxb.) เมื่อนำสารดังกล่าวไปทดสอบฤทธิ์ต้านการเกิดไกลเคชัน (antiglycation) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสาร oxyresveratrol จะแสดงฤทธิ์ต้านการเกิดไกลเคชัน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.0 ± 0.03 µg/mL และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.1 ± 0.01 µg/mLเมื่อทดสอบวิธี DPPH และมีค่าเท่ากับ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.43 ± 0.03 µg/mL เมื่อทดสอบด้วยวิธี TBARS

Singhatong และคณะ (2010) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากแก่นมะหาดด้วยวิธี ABTS (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothazoline-6-sulphonic acid)), วิธี DPPH และวิธี H_2O_2 scavenging assay โดยใช้สาร Trolox เป็นสารมาตรฐาน นอกจากนี้ยังได้ทำการทดสอบหาปริมาณโพลีฟีนอลิก ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟราโวนอยด์ และปริมาณแทนนิน จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจะมีค่าเท่ากับ 128.30 ± 0.13, 55.86 ± 0.01 และ 463.49 ± 0.01 µmol Trolox/g สารสกัด เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี ABTS, DPPH และวิธี H_2O_2 scavenging assay ตามลำดับ และจากการตรวจสอบปริมาณสารพบว่าใน 1 กรัมของสารสกัดหยาบจะมีปริมาณฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 325.63 ± 2.99 มิลลิกรัม มีปริมาณฟราโวนอยด์เท่ากับ 521.98 ± 0.01 มิลลิกรัม และปริมาณแทนนินเท่ากับ 124.03 ± 0.46 มิลลิกรัม

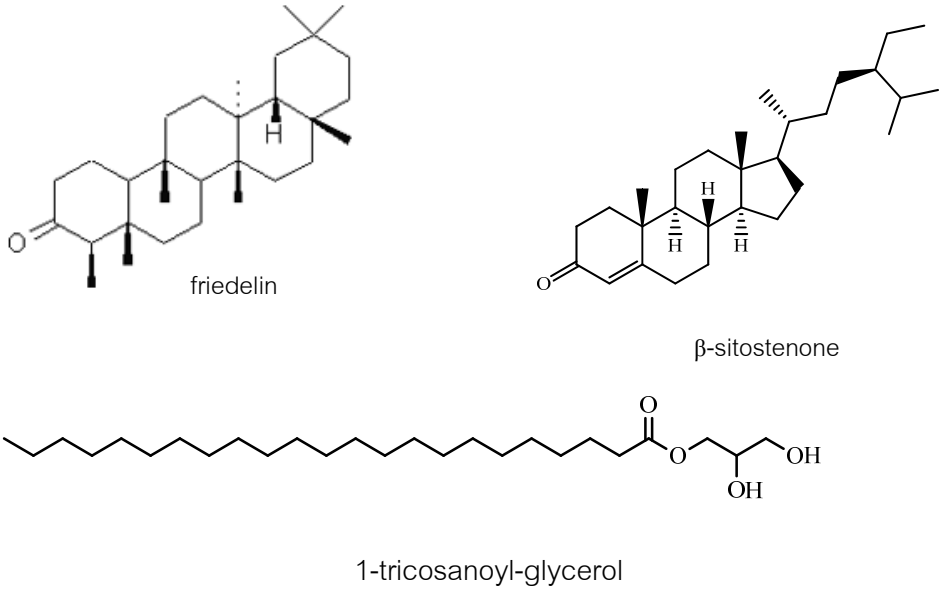
Nguyen และคณะ (2010) ได้ทำการแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเฮกเซนและเอทธิลอะซิเตรตของมะหาดที่เก็บจากจังหวัดสงขลา สามารถแยกสารประเภท triterpene ได้ทั้งหมด 4 ชนิดคือ lupeol หรือ

lup-20(29)-ene-3β-ol, lupeol acetate หรือ lup-20(29)-ene-3β-acetate, lup-20(29)-ene-3-one และ betulinic acid หรือ 3β-hydroxylup-20(29)-en-28-oic acid โดยทำการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และเปรียบเทียบข้อมูลกับผู้วิจัยที่เคยรายงานไว้แล้ว



ภาพที่ 2.21 แสดงโครงสร้างสาร lupeol, lupeol acetate, lup-20(29)-ene-3-one และ betulinic acid

Nguyen และคณะ (2011) ได้ทำการแยกสารจากส่วนสกัดชั้นเฮกเซนและเอทธิลอะซิเตตของมะหาดที่ประเทศเวียดนาม สามารถแยกสารใหม่ได้ 3 ชนิด คือ friedelin หรือ friedelan-3-one, β-sitostenone หรือ stigmast-4-en-3-one และ 1-tricosanoyl-glycerol โดยทำการวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และเปรียบเทียบข้อมูลกับผู้วิจัยที่เคยรายงานไว้แล้ว



ภาพที่ 2.22 แสดงโครงสร้างสาร friedelin, β-sitostenone และ 1-tricosanoyl-glycerol