การตรวจเอกสาร

บัวเป็นพืชไม้น้ำ ที่มีการนำมาใช้ประโยชน์มานาน ขยายพันธุ์ได้ง่ายรวดเร็วและจำนวนมาก ดอกบัวหลวงถือได้ว่าเป็นสัญลักษณ์ทางพุทธศาสนา เป็นดอกไม้ใช้บูชาพระ และพิธีการต่าง ๆ นักพฤษศาสตร์ได้จัดสกุล (genus) ของไม้น้ำที่คนไทยเรียกว่า "บัว" หรืออุบลชาติ ไว้ในวงศ์ Nymphaeaceae เพราะลักษณะของใบและดอกที่ชูช่ออยู่เหนือน้ำ และ ความงามของดอกบัวที่เบ่งบานประดุจความงามของหญิงสาวหรือเจ้าสาว คำว่า "Nymph" มาจากรากศัพท์ภาษาอังกฤษแปลว่า "สาวน้อย" (A BEAUTIFUL YOUNG WOMAN) หรือ "แม่เทพธิดาที่อยู่ในน้ำ" และจากลักษณะเด่นอื่นๆ นอกเหนือจากความงามของบัว อาทิ บัวมีหลากสีหลายพันธุ์ ดอกมีสารพัดสี บางพันธุ์มีดอกสีน้ำเงิน ซึ่งพบได้ยากในไม้ดอกอื่นๆ แม้แต่ในดอกเดียวกันก็อาจมีหลายสี หรือบางพันธุ์มีการเปลี่ยนสีของดอกไปเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการบาน ดอกบัวยังไม่เหมือนพืชชนิดอื่นอีกที่เมื่อดอกบานแล้วก็บานเลย แต่ดอกบัวจะบานแล้วก็หุบเมื่อหุบแล้วก็บานได้ใหม่อีก ดอกบัวบางพันธุ์ยังมีกลิ่นหอม นอกจากนี้บัวยังเป็นพืชที่ปลูกได้ง่ายและดูแลง่าย สามารถขึ้นเองได้ตามธรรมชาติ สมญาของบัวที่ได้รับว่าเป็น "ราชินีแห่งไม้น้ำ" ทั้งมวล จึงมีความเหมาะสมเป็นอย่างยิ่ง (http://www.kmitl.ac.th/agridata/Lotus/article/Lotus.pdf)

1. การจำแนกประเภทของบัว

เดิมนักพฤกษศาสตร์ได้รวมบัวหลวงและบัวสายไว้ในวงศ์ Nymphaeaceae ซึ่งมี 7 สกุล คือ *Nymphaea, Nelumbo, Victoria, Barclaya, Nyphar, Euryale* และ *Ondinea* ขณะนี้นักพฤกษศาสตร์ได้แยกบัวหลวงออกเป็นวงศ์ Nelumbonaceae ส่วนสกุลอื่นๆ นั้น ยังคงอยู่ในวงศ์ Nymphaeaceae (สุชาดา, 2540)

การจำแนกหรือแบ่งประเภทของบัวมีหลายวิธี (http://www.nanagarden.com)

1.1 การจำแนกตามถิ่นกำเนิด และการเจริญเติบโต แบ่งได้ 2 จำพวก คือ

1.1.1 บัวที่เกิดและเจริญเติบโตในเขตอบอุ่นและเขตหนาว (Hardy Type หรือ Hardy Water Lily) เช่น ยุโรป อเมริกาเหนือ ภาคใต้ของอเมริกาใต้ ตอนเหนือของอินเดีย จีน และออสเตรเลีย บัวประเภทนี้มีเหง้าสะสมอาหารอยู่ในดิน ในฤดูหนาวที่น้ำกลายเป็นแผ่นน้ำแข็ง บัวจะทิ้งใบ และอาศัยอาหารในเหง้าเลี้ยงตัวเอง เมื่อเข้าฤดูใบไม้ผลิ น้ำแข็งละลาย ก็จะเจริญแตกหน่อต้นใหม่ และจะเจริญเติบโตออกดอกออกผล หมุนเวียนอยู่เช่นนี้เรื่อยไป นักพฤกษศาสตร์จัดให้บัวประเภทนี้ อยู่ในกลุ่ม Castalia Group หรือ อุบลชาติประเภทยืนต้น

1.1.2 บัวที่เกิดและเจริญเติบโตในเขตร้อน (Tropical Type หรือ Tropical Water Lily) เช่น ทวีปเอเชียตอนกลาง และตอนใต้ แอฟริกา ออกสเตรเลียตอนเหนือ อเมริกากลาง และอเมริกาใต้ บัว

ประเภทนี้กำเนิด และเจริญเติบโตได้ในเขตร้อนเขตเดียว ไม่สามารถอยู่ได้ในเขตหนาว นักพฤกษศาสตร์จัดให้บัวประเภทนี้ อยู่ในกลุ่ม Lotus Group หรือ อุบลชาติประเภทล้มลุก

1.2 การจำแนกบัวตามสกุล โดยทั่วไปนักพฤกษศาสตร์ได้จัดแบ่งบัว ไว้เป็น 3 สกุล ได้แก่

1.2.1 สกุลนีลัมโบ (*Nelumbo*) บัวหลวง หรือปทุมชาติ (*Nelumbo*) บัวหลวงมีชื่อสามัญ คือ Lotus มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Nelumbo nucifera* Gaertn. อยู่ในวงศ์ Nelumbonaceae ลักษณะเด่นคือ ใบและดอกจะชูเหนือน้ำ บัวพวกนี้มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนแถบเอเชีย เช่น จีน อินเดียและไทย บัวหลวงทุกพันธุ์จึงปลูกได้ในไทย มีลำต้นใต้ดินแบบเหง้าและไหลซึ่งเมื่อยังอ่อนจะมีลักษณะเรียวยาว เมื่อโตเต็มที่จะอวบอ้วนเนื่องจากสะสมอาหารไว้มาก มีข้อปล้องเป็นที่เกิดของราก ใบและดอกเกิดจากหน่อที่ข้อปล้องแล้วเจริญขึ้นมาที่ผิวน้ำหรือเหนือน้ำ ใบเป็นใบเดี่ยวมีลักษณะกลมใหญ่ สีเขียวอมเทา ขอบใบยกผิวด้านบนมีขนอ่อนๆ ทำให้เมื่อโดนน้ำจะไม่เปียกน้ำ เมื่อใบยังอ่อนใบจะลอยปิ่มน้ำ ส่วนใบแก่จะชูพ้นน้ำ ก้านใบและก้านดอกมีหนาม ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดใหญ่ชูสูงพ้นผิวน้ำ มีทั้งดอกป้อมและดอกแหลม บานในเวลากลางวันมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ประกอบด้วยกลีบเลี้ยง 4-6 กลีบ ด้านนอกมีสีเขียว ด้านในมีสีเดียวกับกลีบดอก กลีบดอกมีทั้งชนิดดอกซ้อนและไม่ซ้อน สีของกลีบดอกมีทั้งสีขาว ชมพู หรือเหลือง แตกต่างกันแล้วแต่ชนิดพันธุ์ บัวในสกุลนี้เป็นบัวที่รู้จักกันดีเพราะเป็นบัวที่มีดอกใหญ่นิยมนำมาไหว้พระ และใช้ในพิธีทางศาสนา เหง้าหรือที่มักเรียกกันว่ารากบัวและไหลบัวรวมทั้งเมล็ดสามารถนำมาเป็นอาหารได้

1.2.2 สกุลนิมเฟีย (*Nymphaea*) อุบลชาติ หรือ บัวสาย ได้แก่ บัวฝรั่ง บัวผันบัวเผื่อน และจงกลนี ชื่อสามัญว่า Waterlily จัดอยู่ในวงศ์ Nymphaeacea ลักษณะเด่นคือ ใบจะลอยแตะผิวน้ำ และไม่มีหนาม ซึ่งแยกเป็น 2 ชนิด คือ พวกบานกลางวัน ได้แก่ บัวผันฝรั่ง (*Nymphaea capensis* var. zanzibariensis) บัวผันและบัวเผื่อน (*Nymphaea nouchali* หรือ *Nymphaea stella*) พวกบานกลางคืน ได้แก่ บัวสาย (*Nymphaea pubescens*) หรือบัวกินสาย (อุบล หรืออุบลชาติ) ส่วนจงกลนี (*Nymphaea lotus* var. pubescens) เป็นบัวพันธุ์พื้นเมืองของไทย จัดอยู่ในกลุ่มอุบลชาติลักษณะใบรีมีหยัก ออกดอกดก และทยอยออก ดอกตูมป้อม สีชมพู กลีบดอกมาก ดอกลอยเหนือผิวน้ำ บานแล้วไม่หุบ ต้องการน้ำลึก (ประมาณ 60 ซม.) เพราะถ้าตื้นมากบัวจะไม่ออกดอก บัวสกุลนิมเฟียมีลำต้นใต้ดินเป็นหัวหรือเหง้า ใบและดอกเกิดจากตาหรือหน่อและเจริญขึ้นมาที่ผิวน้ำด้วยก้านส่งใบและยอด บางชนิดมีใบใต้น้ำ ใบเป็นใบเดี่ยว มีขอบใบทั้งแบบเรียบและแบบคลื่น ผิวใบด้านบนเรียบเป็นมัน ด้านล่างมีขนละเอียดหรือไม่มี ดอกเป็นดอกเดี่ยวมีทั้งชนิดที่บานกลางคืนและบานกลางวัน บางชนิดมีกลิ่นหอม มีสีสันหลากหลายแตกต่างกันไป

1.2.3 สกุลวิกตอเรีย (*Victoria*) บัววิกตอเรีย หรือบัวกระด้ง จัดอยู่ในวงศ์ Victoria เป็นไม้น้ำพื้นเมืองของทวีปอเมริกาใต้ แต่ถูกนำไปเพาะบนเกาะอังกฤษได้สำเร็จ และถูกขนานนามว่า "บัววิคตอเรีย" เพื่อเป็นเกียรติแก่สมเด็จพระนางเจ้าวิคตอเรีย จัดเป็นบัวที่มีขนาดใหญ่ที่สุด มีลำต้นใต้ดินเป็นหัวใหญ่ ใบเป็นใบเดี่ยวมีขนาดใหญ่ประมาณ 6 ฟุต ลอยบนผิวน้ำ ใบอ่อนมีสีแดงคล้ำเมื่อแก่จะ

เปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ขอบใบยกขึ้นตั้งตรง มีหนามแหลมตามก้านใบและผิวใบด้านล่าง ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดใหญ่ ดอกดกมีกลิ่นหอม ทยอยออกดอก ดอกตูมจะป้อมมาก กลีบดอกชั้นนอกมีหนามแหลม ปกติดอกบานตอนกลางคืนและมีกลิ่นหอม ดอกประกอบด้วยกลีบเลี้ยงจำนวน 4 กลีบ ด้านนอกมีสีเขียวด้านในสีเดียวกับกลีบดอก เมื่อแรกที่ดอกบาน จะมีสีขาว แล้วจึงเปลี่ยนเป็นสีอื่น เช่น สีชมพู สีแดงเข้ม ต่อไป

ในแต่ละสกุลสามารถจำแนกได้หลายชนิด สำหรับในประเทศไทยชนิดของบัวที่ปลูกเป็นการค้ามี 6 ชนิด

1. บัวหลวง : (*Nelumbo nucifera*) อยู่ในสกุลปทุมชาติ ลักษณะใบชูเหนือน้ำ เจริญเติบโตโดยมี ไหลชอนไชไปใต้พื้นดิน พันธุ์ของบัวหลวงที่นิยมปลูกในปัจจุบัน ได้แก่ พันธุ์ฉัตรขาว ฉัตรแก้ว และฉัตรแดง

2. บัวฝรั่ง : (*Zephyranthes rosaw*) อยู่ในสกุลปทุมชาติ ลักษณะคล้ายบัวหลวง ต้นอ่อน เจริญเติบโตโดยสร้างลำต้น หรือเหง้า เจริญตามแนวนอนใต้ผิวดิน ลักษณะใบมีทั้งขอบเรียบและขอบใบจัก

3.บัวผัน บัวเผื่อน : (Nymphacea lotus) อยู่ในสกุลอุบลชาติ ต้นที่งอกจากเมล็ดจะเจริญตามแนวดิ่งขึ้นสู่ผิวดิน แล้วแตกก้านใบบนผิวดินดอกชูพ้นน้ำ บานในเวลาเช้าหรือกลางวัน และหุบตอนเย็น เป็นบัวชนิดที่ขยายพันธุ์ได้ช้า

4. บัวสาย : (Nymphacea lotus) อยู่ในสกุลอุบลชาติ มีหัวกลมๆ สายขนาดปลายนิ้วก้อย มีขนเล็กน้อย ใบมน ขอบใบจัก ดอกบานกลางคืน และหุบเวลาเช้า

5.บัวจงกลนี : (Nymphacea lotus) อยู่ในสกุลอุบลชาติ มีเหง้าเจริญเติบโตในแนวดิ่ง เมื่อเหง้าแก่เต็มที่จะสร้างหัวเล็กๆรอบเหง้า เมื่อหัวแก่จะเจริญเป็นต้นใหม่ขึ้นมาข้างๆต้นแม่

6. บัวกระด้ง : (*Victoria amazonica*) ใบมีขนาดใหญ่ กลมคล้ายกระด้ง

2. ลักษณะของบัวหลวง

บัวหลวงจัดอยู่ในวงศ์ Nelumbonaceae ซึ่งมีเพียงสกุล *Nelumbo* เท่านั้น บัวสกุลนี้แบ่งออกเป็น 2 ชนิด (species) คือ บัวหลวงซีกโลกตะวันออก (lotus, sacred lotus) ที่ให้ดอกสีขาว และสีชมพู-แดง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nelumbo nucifera* Gaertn. และบัวหลวงซีกโลกตะวันตก หรือบัวหลวงอเมริกัน (american lotus, water chinquapin) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nelumbo lutea* Pers. (เสริมลาภ, 2549)

บัวหลวง บัวก้านแข็ง หรือปทุมชาติ (lotus) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nelumbo nucifera* Gaertn. ชื่อสามัญคือ lotus, sacred lotus ชื่อพื้นเมืองคือ บุณฑริก ปุณฑริก ปทุม ปัทมา โกกระณต สัตตบุษย์ บัวฉัตรขาว สัตตบงกช บัวฉัตรชมพู โช้ค บัวอุบล มีถิ่นกำเนิดแถบเอเชีย

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ต้นเป็นไม้โผล่เหนือน้ำ อายุหลายปี ลำต้นมีทั้งที่เป็นเหง้าใต้ดิน และเป็นไหลเหนือดินใต้น้ำ ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงสลับ ใบรูปไข่ค่อนข้างกลม ขนาด 15-40 เซนติเมตร ขอบใบเรียบและเป็นคลื่นเล็กน้อย แผ่นใบเรียบ สีเขียวและมีนวลเคลือบ ก้านใบมีหนามเป็นตุ่มเล็กๆ ก้านใบติดกับแผ่นใบ ด้านหลังใบ (peltate leaf) โคนก้านใบมีหูใบ (stipule) 2 อัน ก้านใบกลมเรียวแข็งส่งใบให้เจริญที่ผิวน้ำหรือเหนือน้ำ ดอกสีชมพู ขาว มีกลิ่นหอม ดอกออกจากเหง้าใต้ดินตรงซอกใบ ก้านดอก (peduncle) ส่งดอกให้ขึ้นมาบานเหนือน้ำ ก้านดอกและก้านใบมีลักษณะเหมือนกัน ภายในก้านใบ และก้านดอก มีน้ำยางใส เมื่อถูกอากาศแล้วเป็นสีคล้ำ นอกจากนี้ยังมีท่ออากาศ (air canal) ใหญ่ 4 – 6 ช่อง ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดใหญ่ สมบูรณ์เพศ (perfect flower) ก้านดอกสีเขียว อวบกลมส่งดอกชูขึ้นเหนือน้ำ กลีบเลี้ยง (sepal) สีเขียว มี 4-5 กลีบ ขนาดเล็ก กลีบดอก (petal) จำนวนมากสีขาว สีชมพู และสีเหลือง (ซึ่งไม่มีชนิดนี้ในเมืองไทย) เรียงซ้อนกันหลายชั้น ลักษณะของกลีบดอกเป็นรูปไข่กลับ เกสรเพศผู้จำนวนมากติดกับฐานรองดอกในตำแหน่งที่ต่ำกว่าเกสรเพศเมีย อับเรณู (anther) สีเหลืองมี 4 อัน ลักษณะเรียวยาว ปลายอับเรณูมีระยางค์สีขาวหรือขาวอมเหลือง บัวชนิดนี้บางพันธุ์มีเกสรเพศผู้ธรรมดา (stamen) เกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน (staminode) เกสรเพศผู้ที่เหมือนกลับดอก (stamen petaloid) และเกสรเพศผู้ที่เหมือนกลีบดอกและเป็นหมัน (staminode petaloid) เกสรเพศเมียประกอบด้วยรังไข่อยู่เหนือชั้นของกลีบดอกและเกสรเพศผู้ รังไข่มีคาร์เพล (carpel) แยกออกจากกัน โดยแต่ละคาร์เพลฝังตัวอยู่ในตอนบนของฐานรองดอก (receptacle) ที่ขยายใหญ่เรียกว่า torus ก้านชูเกสรและยอดเกสรเพศเมียชนาดเล็กอยู่ทางด้านบน ในรังไข่แต่ละอันมีไข่อ่อนเพียง 1 อัน ติดอยู่ที่ผนังส่วนบนของรังไข่ ผลเป็นผลกลุ่ม (aggregate fruit) ประกอบด้วยเมล็ดเดี่ยวเปลือกแข็ง (nut) จำนวนมาก เรียกว่า ฝักบัว (torus or thalamus) ผลย่อยมีรูปร่างคล้ายรูปไข่ เมล็ดมีเปลือกเมล็ดชั้นนอกอ่อนนุ่ม ไม่มีเอนโดสเปิร์ม มีใบเลี้ยงหนา 2 ใบ นำมารับประทานได้ ต้นอ่อน (embryo) ใบนำมาสกัดใช้เป็นยาได้ เป็นที่สะสมอาหารเมล็ดจะงอกส่วนของ epicotyl ออกมาก่อน ส่วนใบเลี้ยงยังคงอยู่ในเมล็ดซึ่งฝังอยู่ใต้ดิน (hypogeal-germination) สภาพการปลูกจะชอบดินเหนียวที่มีอินทรียวัตถุ เจริญได้ดีที่ระดับน้ำ 15-30 เซนติเมตร มีแสงเต็มวัน และมีการขยายพันธุ์ โดยการแยกเหง้า

2.2 สารประกอบและสรรพคุณทางยาที่พบในบัวหลวง

จากการศึกษาวิจัยพบสารชนิดต่างๆ ในส่วนประกอบของบัวหลวง ที่มีสรรพคุณในการบำรุงร่างกายหรือนำมาปรุงเป็นยารักษาโรคได้ เช่น

ส่วนต่างๆ ของบัวหลวง (โดยเฉพาะ *Nelumbo nucifera* Gaertn.) คือ ดอก ใบ ก้านใบ ฝักบัว เมล็ด และโดยเฉพาะดีบัว มีสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) หลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต่อการขยายเส้นเลือดที่เลี้ยงหัวใจ

เกสรบัว (ตัวผู้) พบสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

รากบัว เหง้าบัว และเปลือกผล พบสารพวกแทนนิน (Tannin) เป็นสารฝาดสมานที่มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งอาการท้องเดิน และรากบัวมีสารพวกแคลเซียม (Calcium) ช่วยบำรุงร่างกาย

เมล็ดบัว มีสารไขมัน (Lipid) ช่วยเพิ่มพลังงาน บำรุงไขข้อและเอ็น

สรรพคุณทางยาของบัวหลวงโดยทั่วไป บัวหลวง จะเป็นบัวที่เกือบทุกส่วนจะมีสรรพคุณทางยา ดังนี้

ใบอ่อน รสฝาดเปรี้ยว บำรุงร่างกายให้ชุ่มชื่น

ใบแก่ รสฝาดเปรี้ยวเมาเล็กน้อย แก้ไข้ บำรุงโลหิต สูบแก้ริดสีดวงจมูก หวัดเรื้อรัง ลดเสมหะ ลดความดันโลหิต และไขมันในเส้นเลือด (โคเรสเตอรอล) ถ้าเผาอบแล้วบดละเอียดผสมพิมเสน ใช้แทรกยาหอม

ดอก รสฝาดหอม สรรพคุณแก้ไข้ ไข้มีพิษร้อน แก้ธาตุพิการ แก้เสมหะและโลหิต บำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต และบำรุงครรภ์ทำให้คลอดบุตรง่าย

เกสร รสฝาดหอมเย็น แก้ไข้ ไข้มีพิษ ไข้รากสาด แก้เสมหะ แก้อ่อนเพลีย แก้คลื่นเหียน ใช้เป็นยาบำรุงครรภ์ เกสรตัวผู้รสฝาดสมาน มีกลิ่นหอม ใช้ปรุงเป็นยาหอม บำรุงหัวใจ บำรุงประสาท และชูกำลังทำให้ชุ่มชื่น

เมล็ด รสหวานมัน เย็น บำรุงกำลัง ไขข้อ เส้นเอ็นและบำรุงประสาท ทำให้กระชุ่มกะชวย แก้ร้อนใน กระหายน้ำ แก้เสมหะ พุพอง ดีพิการ อาเจียน อ่อนเพลีย ช่วยเพิ่มพลังงานและไขมันในร่างกาย แต่แสลงกับโรคไอมีเสมหะ

ดีบัว รสขม ขยายหลอดเลือดหัวใจ แก้กระหายน้ำ แก้น้ำกามเคลื่อนขณะหลับ และแก้อาเจียนเป็นโลหิต

ก้านดอก รสเย็นเมา ตากแห้งสูบแก้ริดสีดวงจมูก

ก้านใบ มีฤทธิ์เป็นยาห้ามเลือดหรือทำให้เลือดหยุด

ราก รสหวานหอม แก้ไข้ แก้ท้องเสีย บำรุงกำลัง บำรุงเพลิงธาตุ แก้เสมหะ แก้กระหาย ต้มเป็นน้ำกระสายแก้ร้อน อ่อนเพลีย แก้อาเจียน พุพองและละลายยาแก้สะอึก

เหง้า รสหวานเย็นมัน แก้ลงท้อง บำรุงกำลัง แก้ร้อนในกระหายน้ำ แก้เสมหะ แก้ฝีพุพอง ดีพิการ และแก้อาเจียนใช้เหง้าบัวต้มกับน้ำ ดื่มแก้อาการไอขับเสมหะ ลดอาการอ่อนเพลีย ระงับอาการท้องร่วง ธาตุไม่ปกติในเด็ก

ทั้งต้น ใช้แก้พิษจากการรับประทานเห็ดพิษ แบะพิษจากอาการพิษสุราเรื้อรัง โดยใช้ทั้งต้นขนาด 10-15 กรัม นำไปต้มให้รับประทาน

พิกัดยาไทยที่เกี่ยวกับบัว

"พิกัดยา" ซึ่งหมายถึงการจัดยาหรือจำกัดชนิดของยาตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป จัดรวมกันเข้าเป็นหมวดหมู่ โดยมีสัดส่วนของยาแต่ละชนิดเท่ากันหรือเสมอภาคกัน รวมเรียกเป็นชื่อเดียว เพื่อ

สะดวกในการจดจำ ในการเขียนตำรับยา และในการปรุงยาพิกัดยาที่พบบ่อยๆ และมีบัวหรือส่วนประกอบของบัวเป็นยา ได้แก่ พิกัดเกสรทั้งห้า พิกัดบัวทั้งห้า และพิกัดบัวพิเศษ

พิกัดเกสรทั้ง 5 ,เกสรทั้ง 7 และเกสรทั้ง 9

พิกัดเกสรทั้ง 5 หรือพิกัดเบญจเกสร หมายถึง เกสรดอกมะลิ พิกุล บุนนาค สารภี และเกสรดอกบัวหลวง ส่วนพิกัดทั้ง 7 หรือพิกัดสัตตะเกสร เพิ่มเกสรดอกกระดังงา และดอกจำปา และพิกัดเกสรทั้ง 9 หรือพิกัดเนาวเกสร เพิ่มดอกลำเจียก และดอกลำดวน รสหอมเย็น เป็นตัวยาที่มีสรรพคุณรวมเป็นยาบำรุงหัวใจ จึงใช้เป็นตัวยาประกอบยาหอม เพราะช่วยบำรุงหัวใจให้ชุ่มชื่น แก้ลมวิงเวียน ยังแก้ร้อนในกระหายน้ำ ชูกำลัง แก้อ่อนเพลีย ทำให้เจริญอาหาร แก้ไข้เพ้อกลุ้ม แก้ไข้เพื่อปถวีธาตุ(ธาตุดิน) แก้โรคตา แก้พิษโลหิต และกลั่นสาบสางในร่างกาย

พิกัดบัว (บัวน้ำ) ทั้ง 5 ประกอบด้วย บัวสัตตบุษย์ บัวสัตตบรรณ บัวลินจง บัวจงกลนี และบัวนิลุบล พิกัดบัวทั้ง 5 นี้ มีรสฝาดหอมเย็น สรรพคุณรวมกันเป็นยาบำรุงหัวใจ ช่วยชูกำลัง แก้ลมพานไส้ แก้อุจจาระธาตุ แก้ไข้เพื่อลมและโลหิต แก้ไข้รากสาด และบำรุงครรภ์รักษา

พิกัดบัวพิเศษ 6 อย่าง ประกอบด้วยบัวหลวงแดง บัวหลวงขาว บัวสัตตบงกชแดง บัวสัตตบงกชขาว บัวเผื่อน และบัวขม พิกัดบัวพิเศษนี้ มีรสฝาดเย็น สรรพคุณรวมกันในการชูกำลัง บำรุงหัวใจ แก้ลมพานไส้ แก้อุจจาระธาตุ แก้ไข้ แก้โลหิต

(http://www.kmitl.ac.th/agridata/Lotus/article/Lotus.pdf)

2.3 การจำแนกพันธุ์บัวหลวง สามารถจำแนกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. บัวหลวงสีขาว มี 2 พันธุ์ คือ

- พันธุ์ Hindu lotus ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ ปลายเรียว กลีบดอกชั้นเดียว ได้แก่ บุณฑริก ปุณฑริก บัวหลวงขาว บัวแหลมขาว

- พันธุ์ Magnolia lotus ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมทรงป้อม กลีบดอกซ้อนกันแน่น ได้แก่ สัตตบุษย์ บัวฉัตรขาว บัวป้อมขาว บัวหลวงขาวซ้อน

2. บัวหลวงพันธุ์สีชมพู มี 3 พันธุ์ คือ

- พันธุ์ East Indian Lotus ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมรูปไข่ ปลายเรียว กลีบดอกชั้นเดียว ได้แก่ ปทุม ปัทมา โกกระณต บัวหลวงชมพู บัวแหลมแดง

- พันธุ์ Roseum Plenum ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูทรงป้อม กลีบดอกซ้อนกันแน่น ได้แก่ สัตตบงกต บัวหลวงป้อมแดง บัวฉัตรแดง

- พันธุ์บัวเข็มชมพู ดอกมีขนาดเล็ก ดอกตูมเรียวเป็นรูปไข่ กลีบดอกชั้นเดียว ได้แก่ บัวปักกิ่งชมพู บัวไต้หวัน บัวหลวงจีนชมพู

พันธุ์บัวหลวงที่พบในประเทศไทย

1. บัวพันธุ์ดอกสีชมพู (บัวแหลมชมพู) มีชื่อว่า ปทุม ปัทมา โกกระนต หรือ โกกนุต ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ ปลายเรียวสีชมพู กลีบดอกชั้นนอกมี 4-5 กลีบ รูปไข่มีขนาดเล็ดเรียงตัวกัน 2 ชั้น ส่วนกลางของกลีบมีรูปร่างโค้งป่อง ตรงกลางสีชมพูอมเขียว ส่วนกลีบดอกชั้นกลางและชั้นในสีชมพูเข้ม โคนกลีบดอกสีขาวนวล มีประมาณ 13-14 กลีบ เรียงตัวเป็นชั้น ประมาณ 3 ชั้น อยู่โดยรอบฐานดอก กลีบชั้นนอกและชั้นในมีสีและรูปร่างคล้ายชั้นกลางแต่เล็กกว่ากลีบในชั้นกลาง

2. บัวหลวงพันธุ์ดอกสีขาว (บัวแหลมขาว) มีชื่อว่า บุณฑริก หรือ ปุณฑริก ดอกขนาดใหญ่เป็นรูปไข่ ปลายเรียว คล้ายบัวพันธุ์ปทุม ดอกมีสีขาวประกอบด้วยกลีบดอกชั้นนอกสีขาวอมเขียว ส่วนกลีบในชั้นกลางและชั้นในสีขาวปลายกลีบดอกสีชมพูเรื่อๆ รูปร่างของกลีบและการเรียงตัวของกลีบดอกคล้ายดอกบัวพันธุ์ปทุม

3. บัวหลวงชมพูซ้อน (บัวฉัตรชมพู) มีชื่อว่า สัตตบงกช ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ทรงป้อม สีชมพู ประกอบด้วยกลีบนอกเป็นรูปรี มี 4-7 กลีบ กลีบเล็กเรียนซ้อนกันเป็นชั้น 2-3 ชั้น สีเขียวอมชมพู กลีบในสีชมพูตลอด ส่วนโคนกลีบที่ติดกับฐานรองดอกมีสีขาวอมเหลือง กลีบในมีประมาณ 12-16 กลีบ กลีบในชั้นนอกและชั้นในมีขนาดเล็กกว่าชั้นกลาง เป็นรูปไข่ที่มีส่วนกว้างอยู่ด้านบน เกสรตัวผู้ชั้นนอกๆ เป็นหมัน โดยมีก้านชูที่เป็นเกสรตัวผู้ที่เป็นแผ่นบางๆ สีชมพูคล้ายกลีบในแต่มีขนาดเล็กกว่า ไม่มีอับเรณู แต่ปลายกลีบมีส่วนยื่นออกมาที่มีฐานเรียวเล็ก ส่วนปลายพองใหญ่ มีสีขาวนวล

4. บัวหลวงขาวซ้อน (บัวฉัตรขาว) มีชื่อว่า สัตตบุตย์ ดอกมีขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ทรงป้อม คล้ายบัวพันธุ์สัตตบงกช ดอกมีสีขาว ประกอบด้วยกลีบดอกสีเขียวอมขาว ส่วนกลีบชั้นในสีขาวตลอด ส่วนรูปทรงและการเรียงตัวของกลีบดอกคล้ายบัวพันธุ์สัตตบงกช

5.บัวหลวงพันธุ์ดอกสีชมพูเล็ก มีชื่อเรียกกันว่า บัวหลวงจีน บัวปักกิ่ง บัวเข็ม แหลมชมพูเล็ก มีลักษณะใบและดอกเช่นเดียวกับบัวพันธุ์ดอกสีชมพู แต่มีขนาด รูปร่างใบ และดอกเล็กกว่า ฝักมีขนาดเล็ก มีเมล็ดเพียง 4-5 เมล็ดเท่านั้น

ภาพที่ 1 ลักษณะของดอกบัวหลวง **A.** บัวแหลมชมพู-ปทุม **B.** บัวแหลมขาว-บุณฑริก
C1-2. บัวฉัตรชมพู-สัตตบงกช **D1-2.** บัวฉัตรขาว-สัตตบุตย์
E. บัวหลวงจีน *(Nelumbo nucifera* var. pekinese (China)
F. บัวหลวงอเมริกัน*(Nelumbo lutea* Pers.)

ที่มา: เศรษฐมันตร์, 2551.

3. การสกัดสารออกฤทธิ์จากพืช

การสกัดสารสำคัญในพืชสมุนไพรมีหลายวิธี ซึ่งวิธีการสกัดที่ดีที่สุดสำหรับพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมักได้จากการทดลองขั้นต้น (วีณา, 2534) โดยทั่วไปวิธีการสกัดที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง ได้แก่

1. คุณค่าของสารสกัดและค่าใช้จ่ายในการสกัด หากต้องการสกัดที่ไม่ใช้สาระสำคัญและคุณค่าทางการรักษาน้อย เช่น สารที่ใช้แต่งสี กลิ่น รส ของยาเตรียมต่าง ๆ ก็อาจใช้วิธีง่าย ๆ ที่ไม่ยุ่งยาก นอกจากนี้ควรคำนึงถึงค่าใช้จ่ายทั้งหมดเปรียบเทียบกับราคาของสารสกัดที่เตรียมได้ว่าคุ้มค่ากับการลงทุนหรือไม่

2. ความต้องการที่จะให้ได้การสกัดที่สมบูรณ์ (Exhausted extraction) หรือเกือบสมบูรณ์ หากต้องการสารสกัดเจือจาง การใช้วิธีมาเซอเรชันก็เพียงพอแล้ว แต่ถ้าต้องการสารสกัดเข้มข้นก็ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

3. ธรรมชาติของพืชสมุนไพร

- ลักษณะและโครงสร้างของเนื้อเยื่อ สมุนไพรที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เช่น ดอก ใบ อาจสกัดด้ววิธีมาเซอเรชัน หากเป็นพืชสมุนไพรที่มีเนื้อเยื่อที่แข็งแรงและเหนียว เช่น เปลือก ราก เนื้อไม้ ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

- ความสามารถในการละลายของสาระสำคัญในน้ำยาสกัด ถ้าละลายได้นิยมใช้วิธีดูดซับ แต่ถ้าละลายได้น้อยก็จำเป็นต้องใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

- ความสามารถในการละลายสาระสำคัญในน้ำยาสกัด ถ้าละลายได้ง่ายนิยมใช้วิธีตัวดูดซับ แต่ถ้าละลายได้น้อยก็จำเป็นต้องใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

- ความคงตัวของสาระสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน ถ้าเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อนควรใช้วิธีมาเซอเรชันหรือเพอร์โคเลชัน

4. ความต้องการที่จะให้ได้การสกัดที่สมบูรณ์ (Exhausted extraction) หรือเกือบสมบูรณ์ หากต้องการสารสกัดเจือจาง การใช้วิธีมาเซอเรชันก็เพียงพอแล้ว แต่ถ้าต้องการสารสกัดเข้มข้นก็ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชันหรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

3.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นวิธีทำสารให้บริสุทธิ์ หรือเป็นวิธีแยกสารออกจากกัน โดยอาศัยสมบัติของการละลายของสารแต่ละชนิด (ตารางที่ 3) เนื่องจากสารต่างชนิดกันละลายในตัวทำละลายต่างชนิดกันได้ต่างกัน และสารชนิดเดียวกันละลายในตัวทำละลายต่างชนิดได้ต่างกัน

ตัวทำละลายที่เหมาะสม ควรจะมีสมบัติทั่วไปดังนี้ คือ ละลายได้ดีในสารที่ต้องการ ไม่ละลายสารอื่นในของผสมนั้น ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด มีจุดเดือดต่ำ ระเหยได้ง่าย เมื่อสกัดสารออกมาเป็นสารละลายแล้ว สามารถแยกตัวทำละลายออกจากสารละลายนั้นได้ง่าย ไม่เป็นพิษ หาง่าย และราคาถูก

ตารางที่ 1 แสดงชนิดตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย	สูตรเคมี	จุดเดือด	Polarity	ความหนาแน่น
Non-Polar Solvents				
เฮกเซน	CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_3	69 °C	2.0	0.655 g/ml
เบนเซน	C_6H_6	80 °C	2.3	0.879 g/ml
โทลูอีน	C_6H_5-CH_3	111 °C	2.4	0.867 g/ml
Diethyl ether	CH_3CH_2-O-CH_2-CH_3	35 °C	4.3	0.713 g/ml
คลอโรฟอร์ม	$CHCl_3$	61 °C	4.8	1.498 g/ml
Ethyl acetate	CH_3-C(=O)-O-CH_2-CH_3	77 °C	6.0	0.894 g/ml
Tetrahydrofuran (THF)	/-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-\	66 °C	7.5	0.886 g/ml
Methylene chloride	CH_2Cl_2	40 °C	9.1	1.326 g/ml
Polar Aprotic Solvents				
Acetone	CH_3-C(=O)-CH_3	56 °C	21	0.786 g/ml
Acetonitrile (MeCN)	CH_3-C≡N	82 °C	37	0.786 g/ml
Dimethylformamide (DMF)	H-C(=O)N$(CH_3)_2$	153 °C	38	0.944 g/ml
Dimethyl sulfoxide (DMSO)	CH_3-S(=O)-CH_3	189 °C	47	1.092 g/ml
Polar Protic Solvents				
Acetic acid	CH_3-C(=O)OH	118 °C	6.2	1.049 g/ml
n-Butanol	CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-OH	118 °C	18	0.810 g/ml
Isopropanol	CH_3-CH(-OH)-CH_3	82 °C	18	0.785 g/ml

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

n-Propanol	CH_3-CH_2-CH_2-OH	97 °C	20	0.803 g/ml
เอทานอล	CH_3-CH_2-OH	79 °C	24	0.789 g/ml
เมทานอล	CH_3-OH	65 °C	33	0.791 g/ml
กรดฟอร์มิก	H-C(=O)OH	100 °C	58	1.21 g/ml
น้ำ	H-O-H	100 °C	80	0.998 g/ml

3.2 การเตรียมตัวอย่างพืช

การเตรียมตัวอย่างพืชต้องคำนึงถึงสารสำคัญในพืชคือการตรวจเอกลักษณ์ของพืชที่ถูกต้อง ไม่มีพืชอื่นเจือปนไม่มีโรคพืช อายุพืชที่ผลิตสารสำคัญ และการเก็บรักษา การเตรียมตัวอย่างให้แห้งเพื่อคงคุณภาพของสมุนไพรไว้ ควรจะทำให้แห้งโดยวิธีที่เร็วและอุณหภูมิต่ำๆ เพราะอุณหภูมิสูงจะทำให้สารสำคัญสลายหรือเปลี่ยนแปลง (วันดี, 2536)

3.3 ขั้นตอนการสกัด ตัวอย่างวิธีการสกัดอย่างเป็นขั้นตอน ทำได้หลายวิธี คือ

1. การสกัดโดยเพิ่มความมีขั้วของตัวทำละลาย โดยสกัดด้วยแอลกอฮอล์หรือเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จากแอลกอฮอล์นี้ไปทำให้เข้มข้นก่อนที่จะนำมาพาร์ทิชัน (Partition) กับตัวทำละลายที่มีขั้วต่าง ๆ กันโดยเริ่มจากตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (non-polar solvent) ไปถึงตัวทำละลายมีขั้ว (polar solvent) เช่น เฮกเซน อทิลแอซีเทต (ethyl acetate) บิวทานอล (butanol) เป็นต้น

2. การสกัดโดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นกรดและด่างของสาร โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม จากนั้นจึงแยกกลุ่ม โดยพาร์ทิชันกับกรดและด่าง หรือทางกลับกันพาร์ทิชันกับกรดและด่างก่อน แล้วจึงสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

3.4 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (Concentration)

เนื่องจากสารสกัดอย่างหยาบที่ได้จากวิธีการสกัดข้างต้นจะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนด้วยวิธีต่าง ๆ ดังนี้

1. การกลั่นในภาวะสูญญากาศ (Distillation in vacuum) จัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสูญญากาศ โดยใช้ปั๊มสูญญากาศ (vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า โรตารีอีวาโพเรเตอร์ (rotary evaporator) ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่กลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังกลั่น (receiving flask) โดยสารสกัดอย่างหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณอุณหภูมิได้และจะหมุน (rotate) ตลอดเวลาที่ทำงาน เพื่อให้มีการกระจาย

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 21 ก.พ. 2555
244203
เลขทะเบียน.....
เลขเรียกหนังสือ.....

ความร้อนอย่างถั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้ต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสูญญากาศสารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่น ที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับใช้ได้

2. การระเหย (free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัด โดยใช้ความร้อนจากหม้อไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในสารสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน

3. การทำให้แห้ง (Drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (lyophillizer หรือ freeze dryer) หรือ การใช้ความร้อน (spray dryer) ฯลฯ

4. อัลตราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรม (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000

โดยทั่วไปแล้ว การสกัดเพื่อทำเป็นสารสกัดของพืชนั้นอาจทำได้ทั้งพืชที่แห้งแล้วหรือยังสดอยู่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประเภทของสารที่มีอยู่ในสารสกัดของพืชนั้นๆ สำหรับสารที่มีความเป็นขั้ว (polarity) น้อย เมื่อเทียบกับสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยทั่วไป แล้ว และเป็นสารที่มักจะสกัดออกมาด้วยตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (non-polar sovent) เฮกเซน (hexane) หรือปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) มักจะสกัดจากพืชที่ทำให้แห้งแล้วหรือที่ยังสดอยู่ก็ได้ แล้วแต่ละกรณีและยังขึ้นอยู่กับสารที่มีอยู่ในสารสกัดที่มีอยู่มีเสถียรภาพมากน้อยเพียงใด สารบางชนิดเมื่อทำให้แห้ง ไม่ว่าจะโดยการใช้ความร้อนหรือโดยการตากแดดหรือแม้แต่ตากให้แห้งในร่ม ก็สามารถเกิดความเสื่อมสลาย (decomposition) ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องรีบนำมาสกัดขณะที่พืชยังสดอยู่ ในการสกัดนั้น ถ้าใช้วิธีการสกัดเย็น(cold extraction) คือแช่ด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้อง หรือโดยการสกัดร้อน(hot extraction) คือใช้ Soxhlet extraction apparatus หรือโดยการต้มกับพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม สำหรับวิธีการใดจะเหมาะสมนั้นขึ้นอยู่กับธรรมชาติของสารที่มีอยู่ เช่น หากสารนั้นสกัดออกมาได้ง่ายโดยตัวทำละลายชนิดหนึ่งหรือไม่เสถียรต่อความร้อน จะเลือกใช้วิธีการสกัดเย็น เพราะเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกและทำให้สารเกิดการเสื่อมสลายน้อย

3.5 การแยกส่วนผสม (Separation)

ในการแยกสารสกัดเบื้องต้น ซึ่งเป็นส่วนผสมของสารเคมีเพื่อให้ได้สารที่บริสุทธิ์ นั้น ต้องอาศัยวิธีการแยกโดยใช้เทคนิคคือ

1. Thin Layer Chromatography

เป็นการแยกของผสมโดยใช้ Stationary phase คือ ซิลิกาเจลเคลือบบนแผ่นอลูมิเนียม (แผ่น TLC) เมื่อหยดสารสกัดลงบน Stationary phase แล้วจึงนำแผ่น TLC ที่ได้ไปใส่ในแทงค์ ซึ่งบรรจุ Mobile phase ที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดกระบวนการเคลื่อนที่ของสารสกัดบน Stationary phase เพื่อให้สารสกัดผสมแยกออกจากกัน

2. Column Chromatography

เป็นวิธีการแยกสารสกัด โดยให้สารเคลื่อนที่ไปบน Stationary phase คือซิลิกาเจลซึ่งบรรจุอยู่ในหลอดแก้วกลวง ตัวทำละลายที่เหมาะสมเป็น Mobile phase แล้วสารจะเคลื่อนที่ผ่าน Stationary phase เพื่อแยกสารสกัดที่ผสมออกจากกัน

3.6 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identification)

การตรวจสอบเอกลักษณ์ของสาร เป็นการวิเคราะห์ สารสกัดที่มีแบนด์สารแยกออกมา จากส่วนผสมในสารสกัด โดยการใช้เทคนิคทางสเปกโทรเมตรีต่างๆ ได้แก่ สเปกโทรเมตรีนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (Nucler magnetic Resonance Spectrometry, NMR) เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการดูดกลืนพลังงานแม่เหล็กไฟฟ้า โดยในสเปกโทรเมตรีนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์นิวเคลียสที่ถูกวางอยู่ในสนามแม่เหล็กที่มีความแรงค่าหนึ่งๆ จะสามารถดูดกลืนพลังงานแม่เหล็ก ในช่วงความถี่คลื่นวิทยุ ที่เหมาะสมแล้วเปลี่ยนระดับ พลังงานขึ้นไปสู่ระดับพลังที่สูงขึ้น หากนิวเคลียส ที่ศึกษาเป็นนิวเคลียสของอะตอมของไฮโดรเจนหรือโปรตอน เรียกว่า สเปกโทรเมตรีนิวเคลียร์แมกเนติกของโปรตอน (Proton-NMR, ^{1}H- NMR) ข้อมูลทางด้านนิวเคลียร์แมกเนติกเรแนนซ์ นี้ เมื่อใช้ประกอบกับข้อมูลที่ได้จากสเปกโทรเมตรีอัลตราไวโอเลต สเปกโทรเมตรีอินฟราเรด และสเปกโทรเมตรีชนิดมวล(Mass spectrometry, MS) จะเป็นประโยชน์ในการพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีของอินทรีย์ (อรอุมา, 2547)

4. Column Chromatography (CC)

ทำได้โดยการบรรจุสารที่เป็นเฟสอยู่กับที่ เช่น อลูมินาหรือซิลิกาเจลไว้ในคอลัมน์ แล้วเทสารผสมที่เป็นสารละลายของเหลว ลงสู่คอลัมน์ สารผสมจะผ่านคอลัมน์ช้าๆ โดยตัวทำละลายซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่เป็นผู้พาไป สารในเฟสอยู่กับที่จะดูดซับสารในสารผสมไว้ส่วนประกอบใดของสารผสมที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ช้า ส่วนที่ถูกดูดซับไม่ดีจะเคลื่อนที่ได้เร็ว ทำให้สารผสมแยกจากกันได้

การเลือกตัวทำละลายและตัวดูดซับ

1. ตัวทำละลายและสารที่ต้องการแยกจะต้องมีการละลายไม่เท่ากัน
2. ควรเลือกตัวดูดซับที่มีการดูดซับสารได้ไม่เท่ากัน
3. ถ้าต้องการแยกสารที่ผสมกันหลายชนิด อาจต้องใช้ตัวทำละลายหลายชนิดหรือใช้ตัวทำละลายผสม

4. ตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ เฮกเซน ไซโคลเฮกเซน เบนซีน อะซีโตน คลอโรฟอร์ม เอธานอล

5. ตัวดูดซับที่นิยมใช้ ได้แก่ อะลูมินาเจล (Al_2O_3) ซิลิกาเจล (SiO_2)

5. Thin Layer Chromatography (TLC)

เป็นโครมาโทกราฟีแบบระนาบ (plane chromatography) โดยทำเฟสอยู่กับที่ให้มีลักษณะเป็นครีมข้น แล้วเคลือบบนแผ่นกระจกให้ความหนาของการเคลือบเท่ากันตลอดแล้วนำไปอบให้แห้ง หยดสารละลายของสารผสมที่ต้องการแยกบนแผ่นที่เคลือบเฟสอยู่กับที่นี้ไว้ แล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่บรรจุตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ไว้ โดยให้ระดับของตัวทำละลายต้องอยู่ต่ำกว่าระดับของจุดที่หยดสารผสมไว้ ตัวทำละลายจะซึมไปตามเฟสอยู่กับที่ด้วยการซึมตามรูเล็กเหมือนกับน้ำที่ซึมไปในกระดาษหรือผ้า เมื่อซึมถึงจุดที่หยดสารผสมไว้ ตัวทำละลายจะชะเอาองค์ประกอบในสารผสมนั้นไปด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพมีขั้ว (polarity) ของสารที่เป็นองค์ประกอบกับสารที่เป็นตัวทำละลาย ถ้าตัวทำละลายเป็นโมเลกุลมีขั้ว (polar molecules) จะชะเอาสารในสารผสมที่เป็นสารมีขั้วไปด้วยได้เร็ว ส่วนสารที่ไม่มีขั้วในสารผสมจะถูกชะพาไปได้ช้า สารผสมก็จะแยกออกจากกัน

ค่า Rf

โครมาโทกราฟีแบบกระดาษสามารถนำมาคำนวณหาค่า Rf ได้ ค่า Rf (Rate of flow) เป็นค่าเฉพาะตัวของสาร ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายและตัวดูดซับ ดังนั้นการบอกค่า Rf ของสารแต่ละชนิดจึงต้องบอกชนิดของตัวทำละลาย และตัวดูดซับเสมอค่า Rf สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$Rf = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคมีคลื่อนที่ (cm)}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (cm)}}$$

สารต่างชนิดกันจะมีค่า Rf แตกต่างกัน ดังนั้นจึงสามารถนำค่า Rf มาใช้ในการวิเคราะห์ชนิดของสารได้ กล่าวคือ ถ้าสารใดมีความสามารถในการละลายสูงจะมีค่า Rf มาก เนื่องจากตัวทำละลายจะเคลื่อนที่เร็วกว่าสารที่จะแยก ค่า Rf มีค่าน้อยกว่า 1 เสมอ

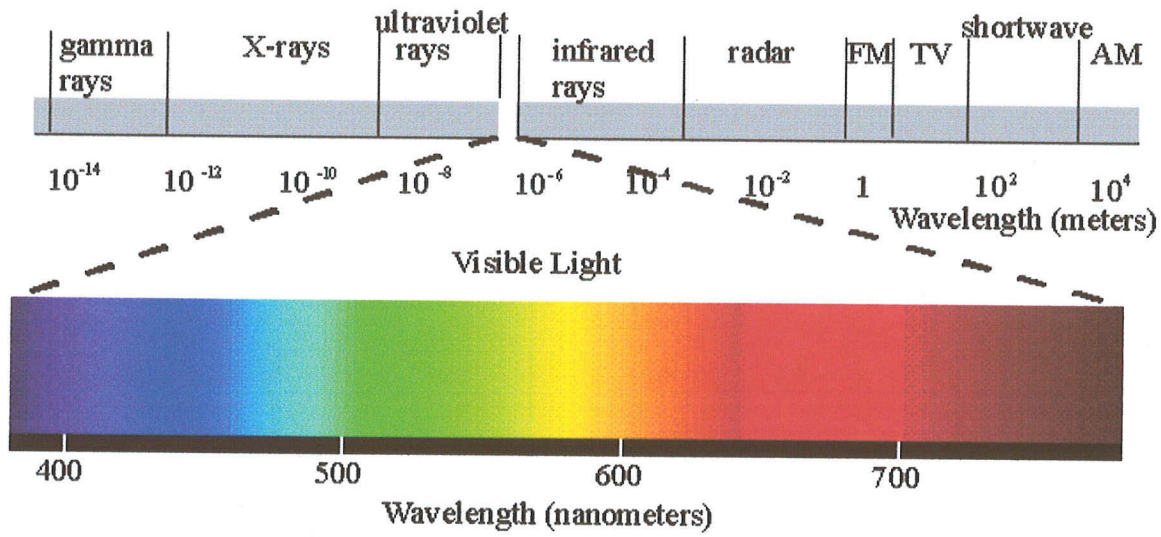
ถ้าใช้ตัวทำละลายและตัวดูดซับชนิดเดียวกันปรากฏว่ามีค่า Rf เท่ากัน อาจสันนิษฐานได้ว่า สารดังกล่าวเป็นสารชนิดเดียวกัน หรือนำสารตัวอย่างมาทำโครมาโทกราฟีคู่กับสารจริงก็ได้

6. อัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโตรสโกปี (Ultraviolet and Visible Spectroscopy)

ใช้ในการตรวจหาชนิดและปริมาณของสาร โดยใช้หลักการที่สารแต่ละชนิดจะสามารถดูดกลืนรังสีได้ในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน และปริมาณการดูดกลืนรังสีขึ้นอยู่กับความ

เข้มข้นของสารนั้น UV-Vis spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงในช่วงรังสียูวีและช่วงแสงขาวที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอนินทรีย์ ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ในปัจจุบันได้รับการพัฒนาให้มีขนาดที่เล็กลง มีความไวมากขึ้น ให้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น รวมไปถึงการพัฒนาโปรแกรมที่ใช้ควบคู่กันกับเครื่องมือในการวิเคราะห์ และการพ่วงต่อด้วยเทคนิคอื่นๆ ทำให้สามารถนำไปใช้งานได้กว้างขึ้น

คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้ามีแถบสเปคตรัม ตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นสั้น (รวมทั้งรังสีแกมมาและรังสีเอ็กซ์) ไปจนถึงช่วงความยาวคลื่นยาว (รวมถึงไมโครเวฟ และคลื่นวิทยุ) รังสียูวีและแสงขาวเป็นเพียงส่วนเล็กๆ ส่วนหนึ่งของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โดยมีความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร



ภาพที่ 2 คลื่นแสงในช่วง UV-Visible

6.1 สาเหตุการดูดกลืนแสงในช่วงยูวี-วิสิเบิล

เมื่อแสงที่เข้าไปอยู่ในช่วงยูวี-วิสิเบิล ผ่านเข้าไปในโมเลกุลของสาร สารนั้นจะดูดกลืนแสงเฉพาะบางช่วง ทำให้เกิดมีการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน ซึ่งโดยมากจะใช้พลังงานประมาณ 30-150 kcal/mol และอิเล็กตรอนที่อยู่วงนอกสุด หรืออิเล็กตรอนที่เกิดพันธะแล้ว หรืออิเล็กตรอนที่ยังไม่เกิดพันธะ ซึ่งแต่ละชนิดแตกต่างกัน อิเล็กตรอนที่ได้รับพลังงานสูงสุดขึ้นนี้เรียกว่า antibonding orbital

6.2 ส่วนประกอบของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

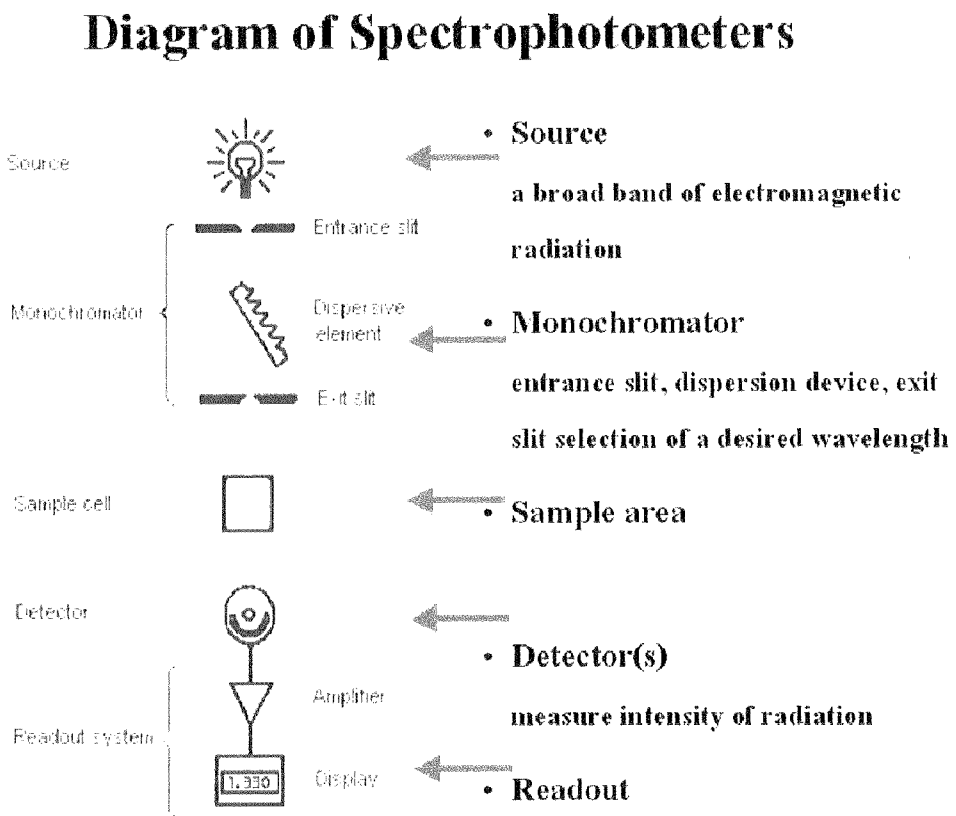
1.แหล่งกำเนิดรังสี: deuterium lamp & tungsten lamp

2.Monochromator: แยกคลื่นรังสีให้เหลือเป็นความยาว คลื่นเดียว

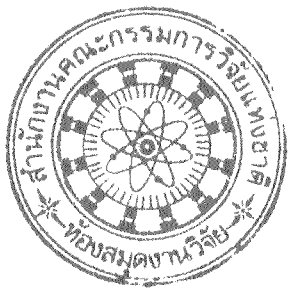
3.เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง

4.Detector: วัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืน โดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้า

5.เครื่องแสดงค่า: เปลี่ยนสัญญาณที่มาจาก detector เป็นค่าที่ใช้งาน



ภาพที่ 3 ส่วนประกอบของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์



7. การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical screening)

7.1 กลุ่มของสารสำคัญที่พบในพืช

สารสำคัญในพืชมีหลายชนิดซึ่งอาจแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ได้ 7 กลุ่ม ดังนี้ คือ (http://ittm.dtam.moph.go.th/data_all/herbs_index.html)

1. คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน คาร์โบไฮเดรตเป็นสารกลุ่มที่พบมากทั้งในพืช และสัตว์ สารที่เป็นคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง น้ำตาล กัม (Kum) วุ้น (Agar) น้ำผึ้ง เปคติน (Pectin) เป็นต้น

2. ไขมัน (Lipids) เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) เมื่อทำปฏิกิริยากับด่างจะกลายเป็นสบู่ น้ำมันในพืชหลายชนิดเป็นยาสมุนไพร เช่น น้ำมันละหุ่ง น้ำมันมะพร้าว เป็นต้น

3. น้ำมันหอมระเหย (Volatile oil หรือ Essential oil) เป็นสารที่พบมากในพืชเขตร้อนเป็นน้ำมันมีกลิ่นและรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิธรรมดา เบากว่าน้ำ สามารถสกัดออกมาจากส่วนของพืชได้โดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ (stream distillation) หรือการบีบ (expression) ประโยชน์คือเป็นตัวแต่งกลิ่นในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ และสมุนไพร มีประโยชน์ด้านขับลม ฆ่าเชื้อโรค พืชสมุนไพรที่มีน้ำมันหอมระเหย คือ กระเทียม ขิง ไพล มะกรูด ตะไคร้ กานพลู อบเชย เป็นต้น

4. เรซินและบาลซัม (Resins and Balsums) เรซินเป็นสารอินทรีย์หรือสารผสมประเภทโพลีเมอร์ มีรูปร่างไม่แน่นอน ส่วนใหญ่จะเปราะแตกง่าย บางชนิดจะนิ่มไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อเผาไฟจะหลอมเหลวได้สารที่ใส ข้น และเหนียว เช่น ชันสน เป็นต้น บาลซัมเป็นสาร resinous mixture ซึ่งประกอบด้วยกรดซินนามิก (CIN-NAMIC ACID) หรือเอสเตอร์ของกรดสองชนิดนี้ เช่น กำยาน เป็นต้น

5. แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (Organic Nitrogen Compound) มักพบในพืชชั้นสูงมีสูตรโครงสร้างซับซ้อนและแตกต่างกันมากมาย ปัจจุบันพบแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด คุณสมบัติของแอลคาลอยด์คือ ส่วนใหญ่มีรสขม ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) มีฤทธิ์เป็นด่าง แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น พืชสมุนไพรที่มีแอลคาลอยด์เป็นส่วนมาก คือ หมาก ลำโพง ซิงโคนา ดองดึง ระย่อม ยาสูบ กลอย ฝิ่น แสลงใจ เป็นต้น

6. กลัยโคไซด์ (Glycosides) เป็นสารประกอบอินทรีย์ ที่เกิดจาก aglycone (หรือ genin) จับกับส่วนที่เป็นน้ำตาล (glycone part) ละลายน้ำได้ดี โครงสร้างของ aglycone มีความแตกต่างกันหลายแบบทำให้ประเภทและสรรพคุณทางเภสัชวิทยาของกลัยโคไซด์มีหลายชนิดใช้เป็นยาที่มี

ประโยชน์ และสารพิษที่มีโทษต่อร่างกาย กลัยโคไซด์จำแนกตามสูตรโครงสร้างของ aglycone ได้หลายประเภท คือ

คาร์ดิเอ็ก กลัยโคไซด์ (Cardiac Glycosides) มีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจ และระบบการไหลเวียนของโลหิต เช่น ใบยี่โถ เป็นต้น

แอนทราควิโนน กลัยโคไซด์ (Anthraquinone Glycosides) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย ยาฆ่าเชื้อ และสีย้อมผ้า เช่น ใบมะขามแขก ใบขี้เหล็ก ใบชุมเห็ดเทศ ใบว่านหางจระเข้

ซาโปนิน กลัยโคไซด์ (Saponins Glycosides) เป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ เช่น ลูกประคำดีควาย เป็นต้น

ไซยาโนเจนนีติก กลัยโคไซด์ (Cyanogenetic Glycosides) มีส่วนของ aglycone เช่น Cyanogenetic Nitrate สารกลุ่มนี้เมื่อถูกย่อยจะได้สารพวกไซยาไนด์ เช่น รากมันสำปะหลัง ผักสะตอ ผักหนาม ผักเสี้ยนผี กระเบาน้ำ เป็นต้น

ไอโซไทโอไซยาเนทกลัยโคไซด์ (Isothiocyanate Glycosides) มีส่วนของ aglycone เป็นสารจำพวก Isothiocyanate

ฟลาโวนอยด์ กลัยโคไซด์ (Flavonol Glycosides) เป็นสารที่พบในหลายส่วนของพืช ส่วนใหญ่สีออกไปทางสีแดง เหลือง ม่วงน้ำเงิน เช่น ดอกอัญชัน เป็นต้น

ฟลาโวนอยด์ กลัยโคไซด์ (Flavonol Glycosides) เป็นสารที่พบในหลายส่วนของพืช ส่วนใหญ่สีออกไปทางสีแดง เหลือง ม่วงน้ำเงิน เช่น ดอกอัญชัน เป็นต้น

แอลกอฮอลิค กลัยโคไซด์ (Alcoholic Glycosides) มี aglycone เป็นแอลกอฮอล์ ยังมีกลัยโคไซด์อีกหลายชนิด เช่น ฟีนอลิคกลัยโคไซด์ (Phenolic Glycosides) แอลดีไฮด์ กลัยโคไซด์ (Aldehyde Glycosides) เป็นต้น

7. แทนนิน (Tannins) เป็นสารที่พบได้ในพืชหลายชนิด มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีสถานะเป็นกรดอ่อน รสฝาด แทนนินใช้เป็นยาฝาดสมานและยาแก้ท้องเสีย ช่วยรักษาแผลไฟไหม้ และใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง กรณีที่รับประทานแทนนินเป็นประจำ อาจทำให้เกิดมะเร็งได้ สมุนไพรที่มีแทนนิน คือ เปลือกทับทิม เปลือกอบเชย ใบฝรั่ง ใบ/เปลือกสีเสียด ใบชา เป็นต้น

นอกจากสารดังกล่าวในพืชสมุนไพรยังมีสารประกอบอีกหลายชนิด เช่น ไขมันสเตียรอยด์ (Steroid) เป็นต้น สารเหล่านี้บางชนิดมีสรรพคุณทางยาเช่นกัน

7.2 การตรวจสอบทางพฤกษเคมี

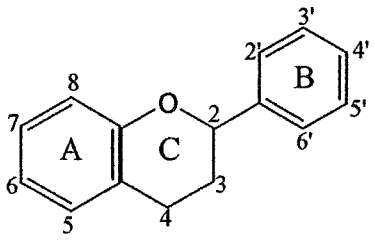
การตรวจสอบทางพฤกษเคมี (Phytochemical screening) เป็นการตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากพืชในระยะเวลาอันสั้น ง่าย รวดเร็ว และใช้เครื่องมือน้อยที่สุด โดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีง่ายๆ ใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี (color reaction) ซึ่งจะให้ผลเป็นสีต่างๆ หรือการเกิด

ตะกอน บอกถึงกลุ่มสารเคมีที่สำคัญและมีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ในการศึกษาควรเริ่มโดยการตรวจเอกสารแล้วนำพืชที่เราสนใจมาตรวจสอบเบื้องต้นว่ามีสารสำคัญประเภทใด โดยอาศัยข้อมูลเบื้องต้นที่ว่ามีสารเคมีกลุ่มใดบ้างที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

อ้อมบุญ (2536) ได้อธิบายกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ดังนี้ "**แอลคาลอยด์** (alkaloids) เป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นด่างและประกอบด้วยไนโตรเจนอย่างน้อย 1 อะตอม ที่พบในพืชและสัตว์ ส่วนใหญ่เกิดจากชีวสังเคราะห์จากกรดอะมิโน พบมากในพืชดอก และพบในพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าใบเลี้ยงเดี่ยว เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญมากทางด้านเภสัชวิทยา **แทนนิน** (tannins) เป็นสารจำพวก polyphenol ที่มีความสลับซับซ้อนมากและมีอยู่แพร่หลายในอาณาจักรพืชเกือบจะทุกวงศ์ของพืชมีแทนนิน ป้องกันพืชให้พ้นจากการทำลายโดยแมลงและรา เพราะแทนนินมีฤทธิ์ antiseptic และเมื่อพืชผ่านระยะหนึ่งไปแล้ว แทนนินจะถูกทำลายไป หรือถูกนำไปสะสมในเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ดังนั้นจึงมีความคิดว่าแทนนินเป็นของเสียที่ได้จากการดำรงชีวิตของพืช จึงถูกนำไปสะสมในใบ ผล เปลือกหรือลำต้น **ฟลาโวนอยด์** (flavonoids) เป็นสารกลุ่มที่พบมากในพืชทั้งในรูปของ aglycone และไกลโคไซด์ ซึ่งไกลโคไซด์มักพบมากในดอก ผล และใบ ส่วนใหญ่เป็นสารสี (pigment) สำหรับการล่อแมลงและสัตว์เพื่อการผสมเกสร และการกระจายเมล็ดของดอกและผล ฟลาโวนอยด์บางชนิดช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืช บางชนิดเป็นสารต่อต้านเชื้อราและแบคทีเรีย บางชนิดสามารถป้องกันพืชจากแมลง และสัตว์อื่นได้ และหลายชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ช่วยเพิ่มความต้านทานของหลอดเลือดฝอย และจากสารสกัดจากใบแป๊ะก้วย ซึ่งเพิ่มการไหลเวียนของโลหิตไปสมอง **สเตอรอยด์** (steroids) ทำหน้าที่หลายอย่าง หน้าที่ที่สำคัญอย่างหนึ่ง คือเป็นฮอร์โมน **คาร์ดิแอคไกลโคไซด์** (cardiac glycosides) เป็นสารเคมีที่ออกฤทธิ์ต่อหัวใจ **แอนทราควิโนน** (anthraquinones) เป็นสารกลุ่มที่ออกฤทธิ์เป็นยาระบาย พบได้ทั้งในพืช แมลง และจุลชีพ ในพืชชั้นสูง พบได้ทั้งในพืชใบเลี้ยงคู่และพืชใบเลี้ยงเดียว ส่วนใหญ่ใช้ประโยชน์เป็นยาถ่าย ยาระบาย ใช้เป็นยารักษาเชื้อราที่ผิวหนัง และใช้เป็นสีย้อม

กลุ่มสาร ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

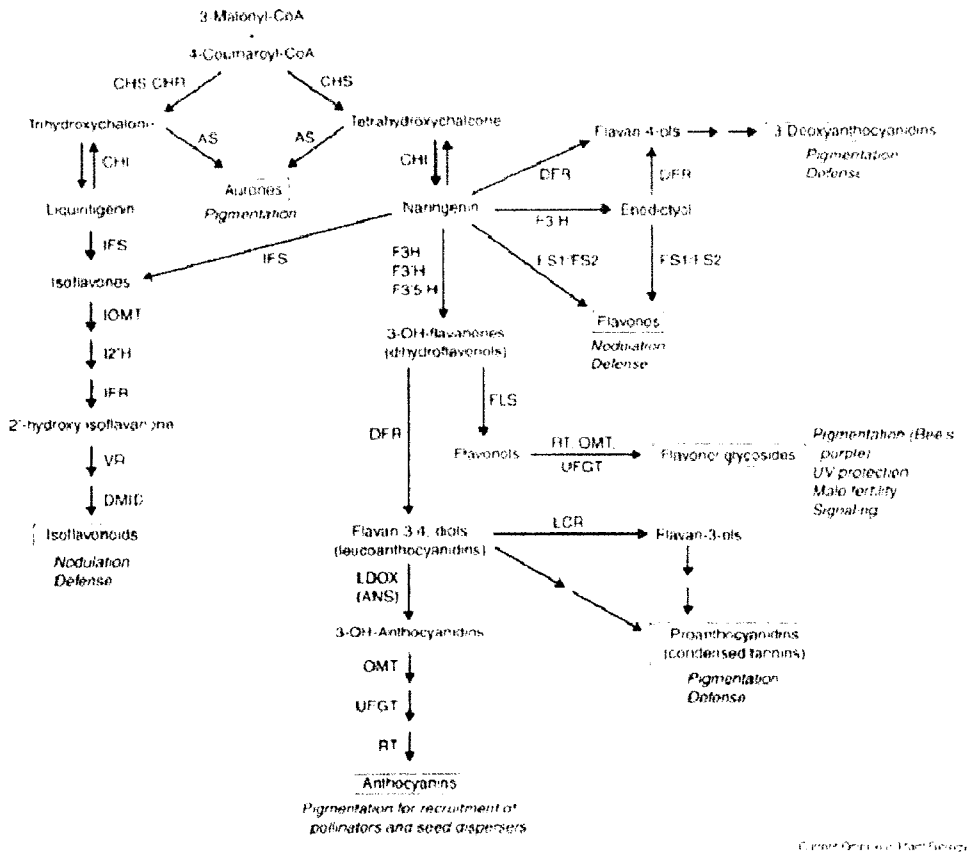
สารฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียว และพบในทุกส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็นใบ ราก เนื้อไม้ เปลือกไม้ ดอก ผล หรือเมล็ด ในสัตว์พบบ้าง โดยมีความเชื่อว่ามาจากพืชที่บริโภคเข้าไปมากกว่าการเกิดชีวะสังเคราะห์ในร่างกายของสัตว์เอง ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารสำคัญของกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาแวน (flavan) ดังแสดงในภาพที่ 4 หรือ 2-phenylbenzopyran ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม ที่มีสูตรโครงสร้างพื้นฐานเป็น C_6-C_3 –C_3 คือ ประกอบด้วยคาร์บอน 3 อะตอม และมีความแตกต่างต่างกันตรง oxidation state ของ aliphatic chain ของอะตอมคาร์บอน 3 อะตอมนี้



ภาพที่ 4 โครงสร้างของ Flavan

การชีวสังเคราะห์กลุ่มสาร ฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์มีสูตรโครงสร้างหลักเป็น C_6-C_3 –C_3 ซึ่งเกิดจาก phenyl-propanoid (C_6-C_3 – C_3) เชื่อมกับ malonyl-CoA 3 หน่วย ซึ่งมีวิถีการชีวสังเคราะห์ ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การชีวสังเคราะห์กลุ่มสารฟลาโวนอยด์

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยากลุ่มสารฟลาโวนอยด์

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ นอกจากจะเป็นสารที่ทำให้ดอก หรือผลไม้มีสีสวย เช่น สีเหลือง แดง ฟ้า หรือ ม่วงน้ำเงิน ซึ่งมีประโยชน์ ใช้ในการล่อแมลง นก หรือผึ้งเข้ามาผสมเกสร เพื่อในการแพร่กระจายพันธุ์แล้ว มีรายงานการศึกษามากมาย ยืนยันถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของฟลาโว

นอยด์ที่ใช้ป้องกันในการรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ เป็นต้น ซึ่งพบว่าคุณสมบัติเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารฟลาโวนอยด์

สำหรับกลไกการต้านอนุมูลอิสระของกลุ่มสารฟลาโวนอยด์นั้น ได้มีรายงานการศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยมีกลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มนี้ รวมทั้งโพลีฟีนอลอื่นๆ มี 3 กลไก คือ

1. เป็นสารคีเลต (chelating) โดยเฉพาะสารโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างเป็นออร์โทไดไฮดรอกซีฟีนอลิก (ortho-dihydroxyphenolic) ทำหน้าจับหรือสร้างพันธะโคออร์ดิเนตกับโลหะหนัก เช่น ทองแดง และเหล็ก มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ รวมทั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

2. เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant) ในการยับยั้งหรือขจัดอนุมูลอิสระ เช่น lipid alkoxyl และ peroxyl radical เป็นต้น โดยทำหน้าที่ เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลเหล่านั้น ดังแสดงในปฏิกิริยา (1) หลังจากที่ฟลาโวนอยด์ถูกออกซิไดซ์แล้วจะได้อนุมูลของฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิลเป็นผลิตผล และอนุมูลที่ได้นี้มีความเสถียรมากกว่าเนื่องจากโครงสร้างของฟลาโวนอยด์มีการ delocalize ของอิเล็กตรอนตลอดเวลา

$$\text{Flavonoid-OH} + \dot{R} \longrightarrow \text{Flavonoid-}\dot{O} + RH \qquad (1)$$

โดยที่ Flavonoid-OH = สารฟลาโวนอยด์

$\dot{R}$ = อนุมูลอิสระในร่างกาย

Flavonoid-$\dot{O}$ = อนุมูลฟีนอกซิล

3. ทำหน้าที่ regenerate วิตามินอี (α-tocopherol) โดยจะรีดิวซ์อนุมูล α-tocopheroxyl กลับเป็น α-tocopherol เหมือนเดิม ทำให้สามารถทำหน้าที่เป็น antioxidant ได้ต่อไป ดังแสดงในสมการ

$$\alpha\text{-tocopheryl-OH} + \dot{R} \longrightarrow \alpha\text{-tocopheryl - O}\bullet + RH$$

$$\alpha\text{-tocopheryl - O}\bullet + \text{Flavonoid-OH} \longrightarrow \alpha\text{-tocopheryl-OH} + \text{Flavonoid-}\dot{O}$$

มีการรายงานการศึกษาว่า ฟลาโวนอยด์เฉพาะกลุ่มฟลาโวน (flavones) และไอโซฟลาโวน (isoflavone) สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ โดยยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 (COX-2) ผ่าน PPARγ (peroxisome proliferator-activated receptor-γ) ซึ่งเป็นแฟกเตอร์ที่มีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของเอนไซม์ COX-2 โดยพบว่าโครงสร้างที่จำเป็นในการยับยั้ง ได้แก่ (1) พันธะคู่ที่ C2-

C3 ของวง C (2) หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 5 และ 7 ที่วง A และหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 4' บนวง A และยังมีรายงานการศึกษายืนยันว่า ฟลาโวนอยด์สามารถยับยั้งการแสดงออกของเอนไซม์ COX ของยีนส์ โดยเกิดอัตรกิริยาในกระบวนการ cell signaling เช่น NF-kB, protein kinase C และ tyrosine kinase เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงฤทธิ์อื่นๆ เช่น สารกลุ่มไอโซฟลาโวนสามารถออกฤทธิ์เป็น phytoestrogen โดยจับกับเอสโตรเจนรีเซพเตอร์ (β-subtype) ทำให้สามารถใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนในผู้หญิงที่ใกล้หมดประจำเดือน รวมทั้งใช้ป้องกันมะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับฮอร์โมน เช่น มะเร็งเต้านม และมะเร็งต่อมลูกหมาก เป็นต้น

โครงสร้างที่สำคัญพื้นฐานที่จำเป็นต่อการออกฤทธิ์ที่ต้านอนุมูลอิสระ

1. โครงสร้าง catechol หรือ ortho-diphenolic group ในวง B ถือเป็นโครงสร้างที่สำคัญที่สุดสำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งนอกจากจะมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยทำหน้าที่เป็น hydrogen donating แล้ว ยังสามารถจับหรือคีเลตกับโลหะหนักโดยเฉพาะ ทองแดง และเหล็ก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้าง และการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระในร่างกาย
2. พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2-3 คอนจูเกต (conjugate) กับหมู่ 4-oxo ในวง C ซึ่งจะเพิ่มความเสถียรของอนุมูลอิสระในร่างกาย
3. หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3 และ 5 จากรายงานการศึกษา พบว่าสารกลุ่มฟลาโวนและฟลาวาโนนซึ่งไม่มีหมู่ไฮดรอกซีที่ C3 จะมีโครงสร้างที่บิดเบี้ยว ในขณะที่สารกลุ่มฟลาโวนอลและฟลาวานอล ซึ่งมีหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งดังกล่าว จะทำให้พันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล โครงสร้างจะมีลักษณะแบนราบในระนาบเดียวกัน ส่งผลให้การ delocalization ของอิเล็กตรอนผ่านพันธะคู่เกิดได้ดีขึ้น

อนุมูลอิสระ (Free radicals)

อนุมูลอิสระ หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่หรืออิเล็กตรอนเดี่ยว (unpaired electrons or singlet electron) อยู่ในวงโคจรของอิเล็กตรอนในอะตอมหรือโมเลกุลในภาวะปกติอะตอมหรือโมเลกุลจะเสถียรเมื่อมีอิเล็กตรอนครบคู่ ดังนั้นการที่อนุมูลอิสระมีเล็กตรอนเดี่ยว ทำให้เป็นสารที่ไม่เสถียร มีช่วงครึ่งอายุสั้น (half life) ซึ่งโดยทั่วไปอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นใน 2 รูปแบบ คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนมาจากสารโมเลกุลอื่นที่ อยู่ข้างเคียง โดยการเพิ่มโมเลกุลของออกซิเจนเข้าไป เพื่อให้เกิดอนุมูลเปอร์ออกซิล(peroxyl radical) เนื่องจากอนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่อยู่ในโมเลกุล จึงมีความไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลภายในร่างกาย ทำลายสมดุลของระบบต่างๆ ในร่างกาย โดยการทำลายองค์ประกอบหลักของเซลล์ เช่น ทำลายหน้าที่ของเซลล์เมมเบรน อันนำไปสู่การตายของเซลล์ ทำลายดีเอ็นเอ โดยการไปจับกับหมู่ฟอตเฟตและน้ำตาลดีออกซีไรโบส อนุมูลอิสระยังสามารถแตกพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้โปรตีนไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุของการเกิดการกลาย

พันธุ์ และการเกิดมะเร็ง นอกจากนี้ ยังก่อให้เกิดสภาวะทางพยาธิสภาพในโรคสำคัญบางโรค เช่น ไขมันอุดตันเส้นเลือด โรคหัวใจ โรคไขข้ออักเสบ ต้อกระจกเป็นต้น อนุมูลอิสระมีมาจากทั้งแหล่งภายในและภายนอกร่างกาย ได้แก่ มลพิษในอากาศ โอโซน ไนตรัสออกไซด์ อาหารที่มีกรดไขมันอิ่มตัว หรือธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา ยาบางชนิด เป็นต้นและแหล่งจากภายนอกร่างกาย ได้แก่ ออกซิเจน เป็นต้น

ออกซิเดชัน (Oxidation)

ออกซิเดชัน คือ ปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนให้แก่ธาตุหรือสาร หรือการลดจำนวนอิเล็กตรอนในธาตุ ธาตุโลหะที่ถูกเติมออกซิเจนจะหมดสภาพความเป็นโลหะ ธาตุคาร์บอนอินทรีย์ที่ถูกเติมออกซิเจนกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ จะหมดศักยภาพของความที่เป็นสารที่มีพลังงานชีวภาพ จุลชีพและพืชที่สังเคราะห์แสงพยายามจะเพิ่มสถานะของคาร์บอนให้เป็น reduce carbon คือ เปลี่ยนจากคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำให้เป็นสารอินทรีย์ หรือสารอาหารเสมอ เพื่อรักษาสภาพพลังงานที่เป็นประโยชน์ต่อชีวิต ในทางตรงกันข้าม ในเมตะบอลิสม์ของเซลล์ เช่นในไมโตรคอนเดรีย ในไมโครโซม มีออกซิเจนอยู่ตลอดเวลา ออกซิเจนอาจจะเป็นพิษได้ หากมีการเติมออกซิเจนหรือการลดอิเล็กตรอนเดี่ยวออกจากธาตุและโมเลกุลบางชนิด เช่น กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว โปรตีน และดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาที่ขาดการควบคุม ขาดการรีดักชัน ทำให้ปฏิกิริยาจะเกิดไปเรื่อยๆ ออกซิเดชันจะกลับไปเป็นอันตรายต่อเซลล์ ถ้ามีการทำให้เกิด lipid peroxidation ที่ไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์จะฉีกขาด ทำให้เซลล์ตาย เนื้อเยื่อเสื่อมสภาพและเกิดความชราตามอายุขัย ถ้าเกิดที่โปรตีนใด โปรตีนนั้นจะเสื่อมสภาพตามธรรมชาติ(denaturation) เช่น ที่ lens collagen ก็จะเป็น lens cataract ได้ ถ้าเกิดที่ low-density lipoprotein molecule (LDL) จะทำให้มีปัญหา การพาโคเลสเตอรอลในเลือด ทำให้มีการตกตะกอนของโคเลสเตอรอลและเกิด artherosclerosis ตามมา ถ้าเกิดที่ดีเอ็นเอ จะมี DNA oxidative damage หรือ เกิด genetic mutation มะเร็ง โรคทางพันธุกรรม และอื่นๆ อีก ภาวะที่มีการทำลายด้วยออกซิเดชันมากๆ เรียกว่า oxidative stress ซึ่งเป็นผลร้ายต่อเนื้อเยื่อและชีวิต นอกจากพิษจากออกซิเจนโดยตรงแล้ว เซลล์อาจถูกปฏิกิริยาออกซิเดชัน เนื่องจากสารเคมีที่เป็นพิษอีกมากมาย เช่น สารพิษตกค้างในอาหารและน้ำ สารฆ่าหญ้า สารปราบศัตรูพืช ยาบางชนิด รังสี UV X-ray เชื้อโรค ไวรัส แบคทีเรียและพยาธิ สิ่งเหล่านี้จะส่งเสริมหรือเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้มากขึ้น ทำให้เกิดการเพิ่มการทำลายชีวโมเลกุลต่างๆ เช่น ไขมันที่ประกอบเป็นเยื่อหุ้มเซลล์ หากถูกออกซิไดซ์เซลล์จะแตก มีความผิดปกติและตายในที่สุด บางทีดีเอ็นเอในนิวเคลียสจะถูกออกซิไดซ์และทำให้รหัสพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม มีการกลายพันธุ์หรือแปรสภาพเซลล์ดีให้กลายเป็นเซลล์มะเร็ง

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องในทางชีววิทยา สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็น

องค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, NOS) และกลุ่มที่มีสารอื่นเป็นองค์ประกอบสำคัญ สารบางชนิดสามารถจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซีไนไตรท์

อนุมูลอิสระกับกระบวนการเกิดโรค

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นระหว่างการเกิดกระบวนการเผาผลาญในร่างกาย และหลุดลอดออกมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ก่อให้เกิดความเสียหาย มีผลกระทบต่อกระบวนการที่นำไปสู่การแสดงออกทางคลินิก ผลกระทบโดยตรงได้แก่ การเกิดเปอร์ออกซิเดชันที่เซลล์เมมเบรน และองค์ประกอบอื่นๆของเซลล์และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นที่โปรตีน และดีเอ็นเอ โดยปกติแล้วร่างกายจะมีการปกป้องโดยของเหลวภายในร่างกายที่มีส่วนประกอบเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ที่มีโลหะจับอยู่ได้แก่ เอนไซม์ และโปรตีน

เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซม์ดิสมิวเตส (SOD) กลูไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPX) และเอนไซม์คาตาเลส (CAT) ที่อยู่ภายในเซลล์จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลซุปเปอร์ออกไซมีอันเป็นอนุมูลเริ่มต้นและอนุมูลเปอร์ออกไซม์ ก่อนที่อนุมูลทั้งสองนี้ จะทำปฏิกิริยาต่อโดยมีโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดอนุมูล หรือสารที่มีฤทธิ์รุนแรงกว่าเดิม อย่างไรก็ตามจะยังมีอนุมูลหรือสารที่มีฤทธิ์รุนแรงจากปฏิกิริยาลูกโซ่เปอร์ออกซิเดชันที่เริ่มต้น โดยอนุมูลอิสระที่รอดพ้นจากการถูกทำลายโดยเอนไซม์ข้างต้น ซึ่งอนุมูลหรือสารที่มีฤทธิ์รุนแรงที่รอดพ้นจากการกำจัดโดยเอนไซม์ในขั้นแรกจะถูกกำจัดต่อโดยสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่หยุดลง สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ได้แก่ วิตามินซีที่ละลายน้ำ วิตามินอีที่ละลายในไขมัน และยูบิคควิโนน เป็นต้น

ความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระทำให้อนุมูลมากเกินสมดุล และเกิดภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดซ์ (oxidative stress) ภาวะดังกล่าวมีบทบาทในโรคต่างๆ มากกว่า 100 โรค เช่น ภาวะผนังเส้นเลือดแดงหนาและมีความยืดหยุ่นน้อยลง เนื่องจากจากการสะสมไขมันที่ผนังหลอดเลือดทำให้หลอดเลือดตีบตันเกิดภาวะขาดเลือดชั่วขณะที่สมอง และหัวใจ โรคซึ่งเกี่ยวกับเสื่อมของประสาทโรคภูมิแพ้และโรคมะเร็ง นอกจากนี้การมีปริมาณอนุมูลอิสระที่ไม่สมดุลยังสัมพันธ์ กับลักษณะโรค หรืออาการโดยปกติอื่นๆ ดังนี้ โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน อาการสมองและไขสันหลังอักเสบ อันเนื่องมาจากโรคภูมิแพ้ โรคเนื้องอกเรื้อรัง Down's syndrome โรคตับอักเสบ โรคไขข้ออักเสบ การติดเชื้อเอชไอวี โรคแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากเป็นโรคเบาหวาน โรคต้อกระจก แผลเปื่อย อนุมูลอิสระ มีส่วนร่วมในโรคที่เกี่ยวกับปอดหลายโรค เช่น โรคปอดที่เกิดจากการสูดใยหิน ไนโตรเจนไดออกไซม์ โอโซน ยากำจัดวัชพืช คาร์บอนเตตระคลอไรด์ หรือยารักษาโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังรวมถึงการมีออกซิเจนมากเกินไปในระบบร่างกาย เซลล์ที่มีหน้าที่คุ้มกันและกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมมีความเกี่ยวข้องในการเกิดอนุมูลอิสระเช่น ในกระบวนการอักเสบ และในภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปไม่สมดุลจะทำให้มีโอกาสเกิดโรคสูงขึ้น เช่น โรคเนื่องจากปอดติดเชื้อไวรัส และไข้หวัดใหญ่เป็นต้น

โดยหลักการแล้ว ภาวะ oxidative stress หรือภาวะร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินสมดุล เป็นผลมาจาก

1. การลดน้อยของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น การเกิดการกลายพันธุ์ซึ่งมีผลกระทบต่อเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ควบคุมป้องกันการเกิดออกซิเดชัน คือทำหน้าที่ขจัดกำจัดหรือต้านอนุมูลอิสระ เอนไซม์ดังกล่าวนี้ ได้แก่ เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซม์ดิสมิวเตส เป็นต้น การกลายพันธุ์ทำให้เอนไซม์เหล่านี้ ไม่ทำงานหรือทำงานบกพร่อง หรือสาเหตุจากโรคที่ทำให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดออกซิเดชัน น้อยลงหมดไป รวมทั้งสาเหตุทางโภชนาการ คือ ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชันจากอาหารไม่เพียงพอ ทั้งหมดนี้ทำให้ร่างกายอยู่ในภาวะถูกออกซิไดซ์เกิดอาการผิดปกติและตามด้วยโรคหรือการเจ็บป่วย

2. การเกิดอนุมูลอิสระและผลิตผลที่เกี่ยวข้องเพิ่มขึ้น อนุมูลอิสระและผลิตผลที่เกี่ยวข้องจะเกิดขึ้นในภาวะต่างๆ เช่น การได้รับออกซิเจนในปริมาณที่สูงหรือการที่เซลล์ได้รับออกซิเจนใหม่ภายหลังจากภาวะต่างๆ เช่น การได้รับออกซิเจนในปริมาณที่สูง หรือการที่เซลล์ได้รับออกซิเจนใหม่ภายหลังจากภาวะขาดเลือดชั่วขณะ แม้ว่าออกซิเจนที่ได้รับจะไม่สูงก็ตาม แต่การทำงานของเอนไซม์ในเซลล์ภายหลังภาวะขาดเลือด จะบกพร่องทำงานได้ลดลง ทำให้การเผาผลาญออกซิเจนผิดปกติ เกิดอนุมูลอิสระ และผลิตผลที่เกี่ยวข้องขึ้น การได้รับสารพิษซึ่งเป็นอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูล NO_2^* อนุมูล $L^{\bullet}$ และอนุมูล $LO^{\bullet}$ จากอาหาร หรือมลพิษ หรือในภาวะที่ระบบมีการผลิตอนุมูลอิสระถูกกระตุ้น เช่น ระบบภูมิคุ้มกันถูกกระตุ้น หรือในภาวะอักเสบ

ภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปไม่สมดุล ทำให้เกิดความเสียหายต่อชีวโมเลกุลที่สำคัญในการดำรงชีพ ชีวโมเลกุลที่เป็นเป้าหมาย คือ ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน การตายของเซลล์ เกิดโดยกลไกที่สำคัญ 2 กลไก คือ กลไกการตายของเนื้อเยื่อ หรือเซลล์จากสารพิษหรือจากเชื้อโรคต่างๆ (necrosis) และกลไกการตายตามอายุขัยตามธรรมชาติของเซลล์นั้นๆ โดยการทำลายตัวเองของเซลล์ (apoptosis) ซึ่งทั้งสองกลไกนี้ มีส่วนเกี่ยวข้องในการเกิดภาะที่เซลล์หรือร่างกายถูกออกซิไดซ์ หรือมีอนุมูลอิสระมาก ในการตายของเซลล์แบบแรก เซลล์จะบวมหรือพองตัวและแตกออก ทำให้องค์ประกอบและสิ่งที่อยู่ในเซลล์กระจายออกมา ยังบริเวณล้อมรอบ ทำให้มีผลกระทบต่อเซลล์อื่นๆ ที่อยู่ใกล้เคียงสิ่งที่อยู่ในเซลล์ที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์อื่น ได้แก่ เอนไซม์หรือสารที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์คาตาเลส กลูตาไทโอน รวมทั้งสารโปรออกซิแดนท์ (pro-oxidant) สารโปรออกซิแดนท์เป็นสารที่เร่งปฏิกิริยา การเกิดอนุมูลอิสระ หรือสารที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระ เช่น อิออนของคอปเปอร์และเหล็ก และโปรตีนฮีม ในกระบวนการตายแบบ apoptosis จะไม่ปลดปล่อยสิ่งที่บรรจุอยู่ในเซลล์ออกมาจึงไม่ทำให้เกิดการรบกวนแก่เซลล์แวดล้อม หรือเซลล์อื่นที่อยู่ใกล้เคียง การตายของเซลล์แบบ apoptosis อาจไปเร่งหรือก่อให้เกิดโรคบางโรค เช่น โรคที่เกี่ยวกับการเสื่อมของระบบประสาท

โรคบางโรคสามารถเกิดขึ้นจากภาวะ oxidative stress โดยตรง เช่น การฉายรังสีหรือการได้รับรังสีทำให้เกิดการแตกตัวเป็นอิออน $OH^{\cdot}$ โดยเฉพาะโมเลกุลของน้ำจะแตกตัวทำให้มีอนุมูล hydroxyl radical ($OH^{\cdot}$) เกิดขึ้น อนุมูล $OH^{\cdot}$ จะทำลายโปรตีน ดีเอ็นเอ และไขมัน โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในโรคส่วนใหญ่ภาวะการถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินสมดุลไม่ได้เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรค แต่เป็นผลที่เกิดขึ้นตามมาภายหลังและทำให้โรคมีการพัฒนาการกำเริบอย่างรวดเร็ว การที่เนื้อเยื่อเสียหายหรือถูกทำลายจากการติดเชื้อ การบาดเจ็บ การได้รับสารพิษ อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำผิดปกติ จะเป็นสาเหตุทำให้ปริมาณของสารสื่อต่างๆ ที่เกี่ยวกับการบาดเจ็บ ได้แก่ พรอสตาแกลนดิน ลิวโคไตรอีน อินเตอร์ลิวคิน และไซโคไคน์ต่างๆ เช่น tomor necrosis factors (TNFs) ทั้งหมดนี้พบว่า ทั้งหมดนี้มีบทบาท นำไปสู่การเกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

สารอนุมูลอิสระเป็นตัวกลางในขบวนการอักเสบ และเมื่อมีปฏิสัมพันธ์กับเกล็ดเลือด neutrophils, macrophage และเซลล์อื่นๆ สามารถเกี่ยวข้องกับขบวนการการสังเคราะห์ eicosanoids และการกระตุ้นการหลั่ง cytokines หลายชนิด ทำให้มีการลุกลามของขบวนการอักเสบจากอวัยวะหนึ่ง (เช่น ตับ) ไปสู่อีกอวัยวะ (เช่น ไต ปอด ฯลฯ) ทำให้เกิดภาวะ oxidative stress และการทำงานของอวัยวะต่างๆ ล้มเหลวสารอนุมูลอิสระไนตริกออกไซด์ เป็นอนุมูลที่ถูก สร้างขึ้นในร่างกายจาก L-arginine โดยเอนไซม์ Nitric oxide synthase (NOS) และนอกจากนี้ยังสร้างขึ้นโดย activated macrophage และ endothelial cellในการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบ ซึ่งออกฤทธิ์เป็น cytotoxic free radical แต่ NO ก็มีฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วย ได้แก่ ระงับการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดและยับยั้ง leukocyte adhesion NO จึงมีบทบาทเป็นสารสื่อกลางที่คอยควบคุมปฏิกิริยาการอักเสบไม่ให้มากเกินไป

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

ได้มีการศึกษาเรื่องการต้านอนุมูลอิสระไว้มากมาย และมีการให้คำจำกัดและอธิบายไว้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารใดๆ ที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของสารเริ่มต้นในกระบวนการ Lipid peroxidation

1. สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มดังนี้
   1.1 กลุ่มที่ร่างกายสร้างขึ้นเอง
      - เป็นพวกเอนไซม์และโคเอนไซม์มี 6 ตัวคือ Catalase (CAT) Glutathione Peroxidase (GPX) Glutathione S-Transferase (GST) Glutathione Reductase (GR) และ Superoxide Dismutase (SOD) เป็นต้น
      - เป็นโปรตีน ประมาณ 10 ตัวคือ Lipid acid, ceruloplasmin, Albumin, Transferrine, Haptoglobin, Uric acid, Bilirubin และ Hemopexin เป็นต้น

   1.2 กลุ่มที่ได้จากนอกร่างกาย
      - วิตามินเอ และเบต้าแคโรทีน

- วิตามินซี
- วิตามินอี
- กลูตามีน
- ฟลาโวนอยด์ (สารที่สีในผัก และผลไม้)
- ชา โดยเฉพาะชาใบขาว
- สมุนไพรบางชนิด
- เซเลเนี่ยม

สารต้านอนุมูลอิสระ พบมากในผักและผลไม้เช่น วิตามิน A, C, E และเบต้าคาโรทีนซึ่งสารดังกล่าวสามารถลดอัตราการเกิดมะเร็งได้หลายอย่าง เช่น มะเร็ง ปอด ปากมดลูก ลำไส้ใหญ่ กระเพาะ antioxidation สามารถป้องกันการทำลายเซลล์จาก oxygen free radical ซึ่งสามารถทำลายสารพันธุกรรมในเซลล์และก่อให้เกิดมะเร็งในภายหลัง

2. หน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระ

2.1 ป้องกันการก่อตัวของอนุมูลอิสระทำให้ออกซิเจนที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยนรูปที่ไม่สามารถทำปฏิกิริยาได้ นอกจากนี้ สารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่ยับยั้ง พวกโลหะหนัก เหล็กซึ่งเป็นตัวเริ่มต้นในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

2.2 ยับยั้งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระโดยทำให้อนุมูลอิสระนั้นคงตัว และเป็นการหยุดก่อตัวใหม่

2.3 ช่วยซ่อมแซมความเสียหายโดยการทำให้อนุมูลอิสระนั้นคงตัว และเป็นการหยุดการก่อตัวใหม่

2.4 ช่วยกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลายเพราะสารเหล่านี้เป็นพิษต่อร่างกาย

3. Lipid peroxidation

คือ ปฏิกิริยาที่เกิดเมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เนื่องจากไขมันเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ Lipid peroxidation เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต

อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้างหรือผลิตขึ้น เรียกขั้นตอนนี้ว่าขั้นตอนอินนิทิเอชัน (initiation step) ขั้นที่สองเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อๆกันไป เรียกว่าขั้นพรอพาเกชัน (propagation step) และขั้นสุดท้าย เรียกว่า ขั้นเทอร์มิเนชัน (termination step) เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้เป็นสารที่มีความเสถียร โดยทั่วไปการที่โมเลกุลหรืออะตอมของสารที่มีอิเล็กตรอนเข้าคู่กันครบเสียอิเล็กตรอนไปกลายเป็น

อนุมูลอิสระได้นั้น ต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่ก็มีโมเลกุลอีกหลายชนิดที่กลายเป็นอนุมูลอิสระได้เมื่ออยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งรวมถึงสารชีวโมเลกุลต่างๆที่พบในสิ่งมีชีวิตด้วย ซึ่งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระที่มักพบในสภาวะปกติของสิ่งมีชีวิตมีขั้นตอนการเกิด Lipid peroxidation ดังนี้

3.1 Initiation เป็นกระบวนการที่อนุมูลอิสระ($R^{\bullet}$)ดึงอิเล็กตรอนจากกรดไขมันไม่อิ่มตัว (-RH) ที่บริเวณปลายสายโซ่ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของกรดไขมันไม่อิ่มตัว($-R^{\bullet}$)

$$-RH + R^{\bullet} \longrightarrow -R^{\bullet} + RH$$

$$-R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow -ROO^{\bullet} \text{ (Peroxy Radical)}$$

3.2 Propagation เป็นขบวนการการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่อนุมูลอิสระของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งเป็น peroxy radical ($-ROO^{\bullet}$)จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัว ตัวอื่นบริเวณสายโซ่

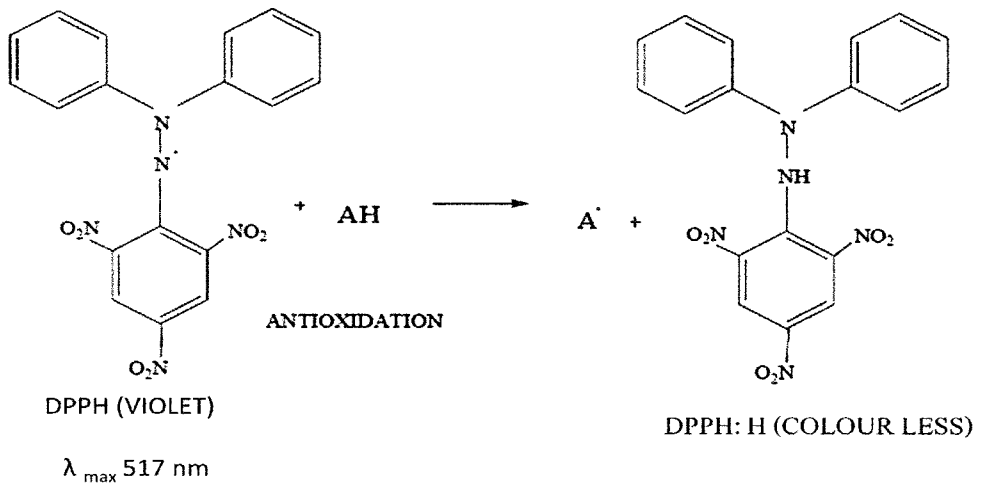
$$-ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow -ROOH + -R^{\bullet}$$

3.3 Termination เป็นขบวนการที่อนุมูลอิสระ 2 ตัวเกิดการรวมตัวกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียรดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$-ROO^{\bullet} + -ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR^{\bullet} + O$$

8. การทดสอบฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยวิธี DPPH

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างด้วยสารละลาย 2, 2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Pourmorad et al., 2006) ซึ่งเป็น free radical มีลักษณะสีม่วง เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสง โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลให้ความยาวคลื่นสูงสุดประมาณ 517 นาโนเมตร เมื่อผสมสารตัวอย่างกับ DPPH (free radical) สารตั้งต้นจะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ DPPH สีของสารละลาย DPPH เปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสีเหลือง ดังปฏิกิริยาในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 สมการการเกิดปฏิกิริยา หลังจากการเติมสารต้านอนุมูล

โดย DPPH (free radical) และAH เป็นตัวให้ไฮโดรเจนอะตอม โดยโมเลกุล DPPH (free radical) ถูกยับยั้งด้วย AH ได้โมเลกุล DPPH เมื่อสังเกตสีสารละลาย DPPH เปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสีเหลือง ถ้ามีสีเหลืองมาก แสดงว่าสารตัวอย่างสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดี

วิธีนี้มีข้อดีคือ เป็นวิธีง่าย ใช้เครื่องมือที่มีทั่วไป นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรตินอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในย่านเดียวกัน

สำหรับข้อด้อยของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH• มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้ โครงสร้างทางเคมีของ DPPH• ที่แสดงจะเห็นว่าอิเลคตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนโตร ทำให้สารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางสารไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลหรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริง ทั้งๆที่ สารต้านอนุมูลนั้นมีฤทธิ์ดีในการขจัดอนุมูลเปอร์ออกซี นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สี DPPH• จางลงได้อีกด้วย

9. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Basic Assay Techniques for Anti Microbial Activity)

ฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Jorgensen *et.al.*,1999) สามารถทำการทดสอบได้ 2 วิธี ดังนี้

9.1 Dilution Method

โดยการเจือจางสารเคมีหรือสารสกัดในอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ให้มีความเข้มข้นในระดับต่างๆ เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่ผสมสารเคมี วัดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ การเจือจางสามารถเจือจางในอาหารแข็ง (Agar Dilution Method) ซึ่งเหมาะกับเชื้อราที่มีการเจริญแผ่ไปบนผิวหน้าอาหาร และการเจือจางในอาหารเหลว (Broth Dilution Method) ซึ่งเหมาะกับเชื้อแบคทีเรียหรือยีสต์ หรือเชื้อราที่ส่วนขยายพันธุ์มีการเจริญคล้ายยีสต์

9.2 Diffusion Method

โดยการทำให้ตัวยาหรือสารสกัดจากจุดใดจุดหนึ่งซึมไปในอาหารที่ผสมเชื้อจุลินทรีย์จำนวนที่เหมาะสม แล้วสารสกัดไปมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวัดผลจากบริเวณที่เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Zone of Inhibition, Clear Zone) Diffusion Method ยังสามารถแบ่งได้เป็นอีก 2 วิธี คือ

9.2.1 Paper Disc Methods ใช้กระดาษกรองเป็นแผ่น disc สำหรับหยดสารสกัดเพื่อให้สารสกัดซึมจากกระดาษกรองลงไปในจานเลี้ยงเชื้อ

9.2.2 TLC Disc Methods ใช้ TLC เป็นแผ่น disc สำหรับวางแผ่น silica gel บนแผ่นกระจก TLC บริเวณที่ตรวจพบ fraction และนำแผ่น TLC disc วางในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อทดสอบต่อไป

10. จุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ

10.1 แบคทีเรีย (Bacteria)

10.1.1 *Bacillus subtilis* จัดอยู่ในวงศ์ Bacillaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่ง ส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.7 –0.8 x 2 –3 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นสาย สร้างเอ็นโดสปอร์ (endospore) 1 อันต่อเซลล์ ขนาด 0.5 x 1.5 –1.8 ไมโครเมตร หายใจโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลกตรอนตัวสุดท้าย มีความหลากหลาย ในทางชีวเคมีที่ทำให้สามารถปรับตัวให้อยู่ได้ในสภาวะแวดล้อมที่รุนแรง หรือ extreme condition ต่างๆ ได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสามารถในการทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิสูง และสภาพเป็นด่าง ได้อย่างดี มีหลายชนิดสามารถเจริญเติบโตได้แม้ในที่อุณหภูมิสูงถึง 60°C ชอบอุณหภูมิปานกลาง อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้คือ 45-55 องศาเซลเซียส เชื้อสร้างเอกโซเอนไซม์ใช้แป้ง แพคติน และเคซินได้ พบเชื้ออยู่อาศัยได้ทั่วไปในดินโดยทั่วไปเชื้อนี้จะไม่ก่อโรคในคนปกติ แต่อาจก่อโรคได้โดยการปนเปื้อนไปกับอาหารแล้วทำให้เกิดอาหารเป็นพิษขึ้น และอาจทำให้แป้งขนมปังเน่าเสียได้ หรือบางครั้งทำให้เกิดโรคได้ถ้ามีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย

10.1.2 *Staphylococcus aureus* จัดอยู่ในวงศ์ Micrococaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 – 1.2 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นกลุ่ม ไม่เคลื่อนที่ เจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน บนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดด่างที่ 4.8-7.4 โคโลนีมีลักษณะนูนทึบแสง เป็นมัน ขนาด 1-2 มิลลิเมตร มีสีเหลืองทอง สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ดี ปะปนอยู่ในอากาศ ฝุ่นละออง น้ำ อาหาร มนุษย์และสัตว์เป็นแหล่งของเชื้อพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ และผิวหนังถึง 50% มักพบบริเวณผิวมันและเยื่อบุเมือก หรือบริเวณลำคอส่วน Oropharynx และ Nasopharynx *S.aureus* ทำให้เกิดโรคในอวัยวะต่างๆและเนื้อเยื่อเกือบทุกส่วนของร่างกาย ที่พบบ่อยคือทำให้เกิดโรคฝีหนอง เช่น ฝีตามรูขุมขน ฝีฝักบัว กล้ามเนื้ออักเสบ และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เป็นต้น บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ ที่เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน ซึ่งทนความร้อนได้ดี ทำให้อาหารเป็นพิษเป็นสาเหตุให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ การรับประทานอาหารที่ปนเปื้อน สารพิษ enterotoxin ของเชื้อ *S. aureus* เข้าไป ประมาณร้อยละ 30-50 ของ *S. aureus* สร้างสารพิษชนิดนี้ ซึ่งแบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ ชนิด A , B , C1 , C2 , C3 , D , E, และ H สารพิษนี้มีคุณสมบัติพิเศษ คือ ทนต่อความร้อนได้ดีมาก ต้มเดือดนานครึ่งชั่วโมงก็ยังไม่ถูกทำลาย อาหารที่มีเชื้อและสารพิษปนเปื้อนอยู่จะไม่มีกลิ่น สี หรือ รสผิดปกติไป ผู้ป่วยจะเกิดอาการของอาหารเป็นพิษขึ้น หลังจากรับประทาน

อาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง เนื่องจากสารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อบุลำไส้เล็ก ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และ ท้องเดิน ส่วนมากไม่มีไข้ ในรายรุนแรงอาจช็อคได้ แต่ส่วนใหญ่อาการจะดีขึ้นใน 8-24 ชั่วโมง อาการรุนแรงของโรคขึ้นกับจำนวนสารพิษในอาหารที่รับประทานเข้าไป

10.1.3 *Escherichia coli* จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง มีขนาด 0.3 –1.0 x 1.0 –6.1 ไมโครเมตร ถ้าเลี้ยงไว้ใหม่ ๆ จะมีลักษณะ coccobacilli ซึ่งเป็นแท่งที่มีลักษณะสั้นและอ้วนแต่เมื่อเลี้ยงไว้นานจะเป็นแท่งที่ยาวขึ้นทั้งนี้ลักษณะรูปร่างจะขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ ย้อมติดสีแกรมลบ ไม่มีแคปซูล ไม่สร้างสปอร์ *E. coli* สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้ เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา พบในอุจจาระของคนเนื่องจาก E.coli เป็นแบคทีเรียที่ ปกติเป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ของคนและสัตว์ บางครั้งพบในน้ำใช้ อาหาร น้ำแข็ง เครื่องดื่ม ซึ่งก็แสดงว่าในน้ำ อาหาร หรือเครื่องดื่มนั้นๆ มีการปนเปื้อนของ อุจจาระของคนและสัตว์ ดังนั้นจึงใช้ *E.coli* เป็นดรรชนีบ่งชี้การปนเปื้อนอุจจาระ โดยไม่ทำให้เกิดโรค แต่มีบางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค ได้แก่

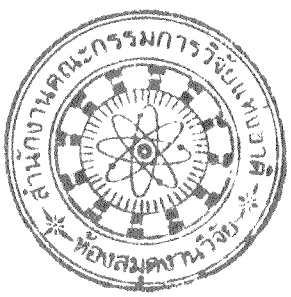
- Enterovasive *E. coli* สามารถบุกรุกเซลล์เยื่อบุของลำไส้ใหญ่ทำให้เกิดอาการคล้ายโรคบิด คือท้องร่วง ถ่ายเป็นมูกเลือดและมีไข้

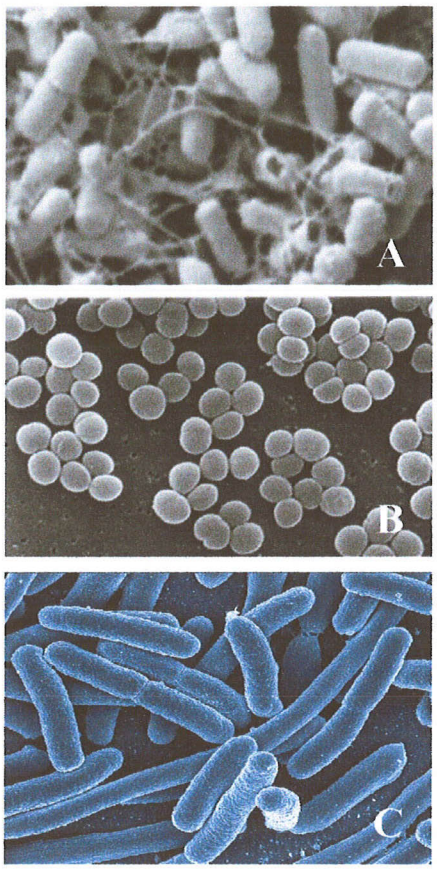
- Enterotoxigenic *E. coli* ทำให้เกิดอาการท้องร่วงในเด็กทารกตามสถานรับเลี้ยงเด็ก ส่วนในผู้ใหญ่ทำให้เกิดอาการอาเจียน

- Enteropathogenic *E. coli* ทำให้เกิดอาการท้องร่วงในทารกแรกคลอด

- Enterohemorrhagic *E. coli* ทำให้เกิดการตกเลือดในลำไส้ใหญ่

- Enteroautoagglutinae *E. coli* ทำให้เกิดท้องร่วงในเด็กอายุต่ำกว่า 6 เดือน





ภาพที่ 7 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ A. *Bacillus subtilis*, B. *Staphylococcus aureus* และ **C.** *Escherichia coli*

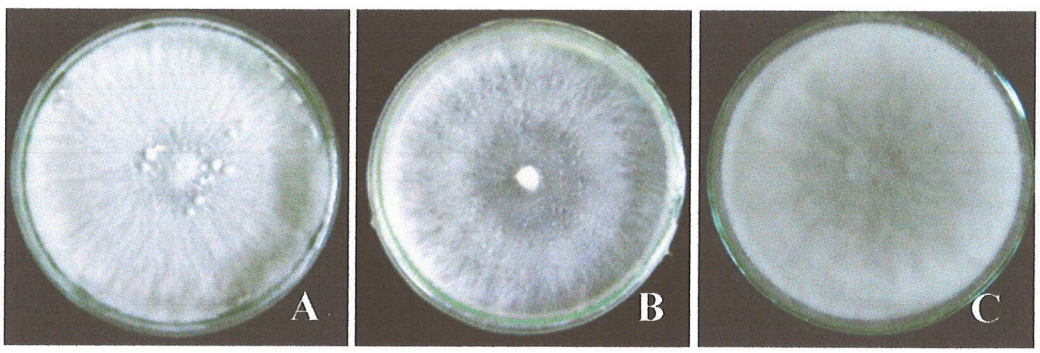
10.2 เชื้อราสาเหตุโรคพืช (Plant Pathogenic Fungi)

10.2.1 และ 10.2.2 *Sclerotium* spp.

เป็นเชื้อราอยู่ใน Division Eumycota Subdivision Deuteromycotina Form-class Hyphomycetes Form-order Agonomycetales Form-family Agonomycetaceae เป็นราที่ไม่สร้าง conidium หรือสปอร์ชนิดใดๆ โดย *Sclerotium rolfsii* เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของพืช *S. rolfsii* สร้างเส้นใยสีขาวหรือสีอ่อน มี clamp connection เจริญเติบโตได้รวดเร็ว และสร้าง sclerotium สีน้ำตาล ลักษณะเป็นเม็ดกลมประกอบด้วยเส้นใยอัดตัวกันเป็นชั้นหลายชั้น และเป็นเนื้อเยื่อแบบ pseudoparenchyma เป็นสาเหตุโรค damping off ของกล้าพืช โรครากเน่าและโคนเน่าของพืชหลายชนิด ปัจจุบันพบ perfect stage จัดอยู่ใน subdivision Basidiomycotina คือ รา *Athelia rolfsii* (วิจัย, 2546)

10.2.3 *Lasiodiplodia* sp.

เป็นเชื้อราอยู่ใน Division Eumycota Subdivision Deuteromycotina Form-class Coelomycetes Form-order Sphaeropsidales Form-family Sphaeropsidaceae (วิจัย, 2546) เชื้อรา *L.theobromae* เป็นเชื้อราที่พบอย่างแพร่หลายทั้งในเขตร้อนและกึ่งร้อน เป็นเชื้อราก่อโรคในพืชและผลไม้ที่สำคัญหลายชนิด เช่น โรค crown rot ของกล้วย โรคเน่าของมะม่วง พืชตระกูลส้ม เงาะ ทุเรียน ลิ้นจี่ ลำไย และโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของเงาะพันธุ์โรงเรียนเป็นต้น (กาญจนาและเอกชัย, 2552) เชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon&Maubl.(synonyms: *Botryodiplodia theobromae* Lat., *Diplodia natalensis* Pole Evans.) เจริญได้ดีบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เส้นใยเมื่อยังอายุน้อยมีสีขาวละเอียดและค่อนข้างฟูซึ่งจะเจริญเต็มจานเพาะเลี้ยงเชื้อหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน เมื่อโคโลนีแก่เส้นใยจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีเทาดำ เส้นใยมีผนังกั้นมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เมื่อเชื้อราอายุมากขึ้นเส้นใยจะสร้าง fruiting body ที่เรียกว่า conidiomata แบบ pycnidia ซึ่งอาจมีช่องเดียวหรือหลายช่องก็ได้ ภายในประกอบด้วยเส้นใย paraphyses ใสไม่มีสี รูปร่างทรงกระบอก มีผนังกั้นบางครั้งอาจพบว่ามีการแตกกิ่งก้านสาขา มี conidiogenous cells ใสไม่มีสีเช่นกัน โดย conidiogenous cells มีหน้าที่ในการสร้างconidia ซึ่งเป็น asexual spores โดยสร้างอยู่บนปลายของconidiophores ลักษณะของ conidia เมื่ออ่อนจะมีเพียงเซลล์เดียว ใสไม่มีสี รูปร่างค่อนข้างรีจนถึงค่อนข้างกลม (subovoid to ellipsoid-ovoid) ปลายด้านหนึ่งกลมมน อีกด้านสอบลงคล้ายกรวย บริเวณที่กว้างที่สุดของตัวเซลล์คือช่วงกลาง ไม่มีผนังกั้น ผนังเซลล์หนา ประกอบไปด้วย granular และผนังเซลล์จะยังคงไม่มีสีไปจนกว่าจะถูกปล่อยออกมาจาก pycnidia จากนั้น conidia จะเริ่มสร้างเม็ดสีน้ำตาลเข้ม และสร้างผนังกั้น (septum) 1 ชั้นตรงกลาง ทำให้แบ่งออกเป็น 2 เซลล์ มีรูปร่างรีคล้ายไข่ มีขนาดประมาณ 26.2 –27 x 14 –14.4 ไมโครเมตร ผนังด้านนอกหนา 2 ชั้น และมีการสร้างเม็ดสีเมลานินบนผิวเซลล์ด้านในเรียงตัวเห็นเป็นริ้วในแนวยาว

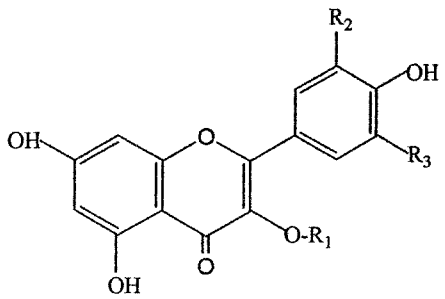


ภาพที่ 8 เชื้อราที่ใช้ทดสอบ A. *Sclerotium* sp.7,

B. *Sclerotium* sp.8 และ **C.** *Lasiodiplodia* sp.

11. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Jung *et al.* (2003) ประเมินการต้านอนุมูลอิสระของเกสรเพศผู้บัวหลวงด้วย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) พบว่าสารสกัดเกสรเพศผู้บัวหลวงในชั้นเมทานอลแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในระบบ Peroxynitrite และจากการแยกสารสกัดในตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด เช่น dichloromethane (CH_2Cl_2), ethyl acetate (EtOAc) และ n-butanol(n-BuOH) สารสกัดในชั้นเอทิลอาซิเตท แสดงการต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง เมื่อทำให้บริสุทธิ์ด้วยซิลิกาเจลและ SephadexLH-20 ด้วยคอลัมภ์โครมาโตรกราฟฟี ได้มีการพบกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งส่วนมากให้ผลการต้านอนุมูลอิสระ 7 ชนิด คือ kaempferol, kaempferol-3-O-β-D-glucuronopyranosyl methylester และอื่นๆ ดังนี้



Kaempferol (1): R_1 = H, R_2 = H, R_3= H

Kaempferol-3-O-β-D-glucuronopyranosyl methyl ester(2): R_1= Glu-Me, R_2=R_3=H

Kaempferol -3-O-β-D-glucuronopyranoside(3): R_1= Glu, R_2=R_3=H

Kaempferol -3-O-β-D-glucuronopyranoside(4): R_1= Gal, R_2=R_3=H

Myricetin-3',5'-dimethylether-3-O-β-D-glucuronopyranoside(5): R_1= Glu, R_2=R_3=OCH_3

Kaempferol -3-O-α-l-rhamnopyranosyl-(1 → 6)-β-D-glucopyranoside (6):

R_1=Rha-(1 → 6)-Glu,R_2=R_3=H

Kaempferol -3-O-β-D-glucuronopyranoside (7):R_1=Gln,R_2=R_3=H

จากงานวิจัยของ Agnihotri *et al.* (2008) พบสารประกอบใหม่จากใบบัวหลวงคือ 24 (R)-ethylcholest-6-ene-5α-β-D-glucopyranoside และสารเมตาโบไลท์อีก 11 ชนิด โดยใช้วิธีสเปคโตรสโคปีและ D1,D2 NMR ในการจำแนก พบว่า (R)-roemerin (IC_{50} = 0.2 และ 4.8 μg/ml) มีฤทธิ์ต้านทานเชื้อรา *Candida albicans* และฤทธิ์ต้านทานเชื้อมาลาเรีย

การสกัดใบบัวหลวง *(Nelumbo nucifera* Gaertn.) ด้วยวิธี high-speed counter-current chromatography (HSCCC) จากการนำสารสกัดรวมจากใบบัวหลวงมาวิเคราะห์แยกได้เป็นอัลคาลอยด์ 5 ชนิด คือ anonaine, pronuciferine, N-nornuciferine, nuciferine และ armepavine (Hu *et al.*, 2010)

Yang *et al.* (2007) สกัดผงจากเหง้าบัวด้วยตัวทำละลายหลายชนิดที่มีขั้วแตกต่างกัน ประเมินการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเหง้าบัวด้วย 2,2'-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)และ β-carotene bleaching assay พบว่าเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ได้สารสกัดสูงสุด สารสกัดในอะซิโตนให้ค่า total Phenolics content สูงสุด สารสกัดในเมทานอลและอะซิโตนให้ค่าต้านอนุมูลอิสระจาก DPPH สูงสุดที่ 66.7 mg/L และ 133.3 mg/L สารสกัดทั้งหมดแสดงสัมประสิทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity coefficient, ACC) สูงกว่า ascorbic acid คุณสมบัติของตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณสารที่สกัดได้ Phenolics content และปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเหง้าบัว

Phonkot *et al.* (2008) ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของเกสรตัวผู้บัวหลวงปทุม สัตตบงกช บุณฑริก และสัตตบุตย์ ด้วย 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) ของสารสกัดในเมทานอลจากบัว 4 ชนิด มีค่า 68.3 6.30, 62.22 4.00, 31.60 3.40 และ 40.90 1.50 g/mL ตามลำดับ ซึ่งสัตตบงกชมีปฏิกริยาการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด

ในประเทศจีนได้มีการนำส่วนสกัดต่างๆของบัวมาใช้ให้เป็นประโยชน์ทางด้านยาสมุนไพร รักษาโรคตามขั้นตอนการรักษาตามแพทย์แผนจีน และมีการพัฒนาปรับปรุงสมุนไพรไปใช้ทางด้านสุขภาพโดยการกิน จากงานวิจัยของ Li and Xu (2008) ที่นำเอาสาร Quercetin ที่มีอยู่ในสารสกัดจากใบบัวมีฤทธิ์สามารถต้านทานแบคทีเรีย

Liao *et al.* (2010) ยอดอ่อนในเมล็ดบัวมักใช้เป็นสารต้านการอักเสบ มีการศึกษาแป้งในยอดอ่อน (lotus plumule polysaccharide, LPPS) จากการศึกษานี้ อาจใช้ LPPS ในการรักษาโรคเบาหวาน อันเนื่องมาจากศักยภาพในการต้านการอักเสบ