



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านของไทย
Antioxidative Activities of Crude Extracts from Local Vegetables in Thailand

โดย

วิภาวดี ประสาททอง (หัวหน้าโครงการ)

กุสุมาลย์ น้อยผา และ อานูไร จิตต์สุรงค์* (ผู้ร่วมโครงการ)

ภาควิชาชีวเวชศาสตร์ และ ภาควิชาพยาธิวิทยา*
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2543
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

530

เลขหมู่	RD305.03 Bb1 2544 น.1
Bib Key	210622
	/ /

บทคัดย่อ

การบริโภคผักพื้นบ้านเป็นภูมิปัญญาไทยที่มีมานานแล้วโดยคำบอกเล่าสืบทอดกันมาว่าผักพื้นบ้านของไทยมีสรรพคุณดีหลายอย่าง แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาวิจัยหรือวิเคราะห์พิสูจน์จริงอย่างเป็นวิทยาศาสตร์ ปัจจุบันเริ่มเป็นที่ทราบกันบ้างแล้วว่าคุณค่าของพืชผักในแง่บำรุงสุขภาพและการป้องกันการเกิดโรค (เช่น โรคมะเร็ง หลอดเลือดแข็งตัว ต้อกระจก การเสื่อมของระบบประสาท) นั้นมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในส่วนต่างๆ ของพืช แต่ยังไม่มีการศึกษาในผักพื้นบ้านมาก่อน โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ทำการตรวจวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมของพืชผักพื้นบ้าน ทั้งในส่วนที่เกิดจากเอนไซม์และไม่เอนไซม์ และทำการศึกษานิตและสัดส่วนของเอนไซม์ Superoxide dismutases (SODs) รวมทั้งปริมาณวิตามินซีที่มีอยู่ในสารสกัดจากผักพื้นบ้านของไทยรวมจำนวน 30 ชนิด ประกอบด้วยผักพื้นบ้านภาคใต้ 12 ชนิด ผักสมุนไพรและเครื่องเทศ 11 ชนิด และผักพื้นบ้านทั่วไปอีก 7 ชนิด รวมทั้งสุ่มเลือกวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารฟลาโวนอยด์ในผักพื้นบ้าน 5 ชนิดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในระดับที่แตกต่างกัน ผลของการศึกษาแบ่งออกได้เป็น 4 ส่วนดังนี้

ส่วนที่ 1 การตรวจวัดความสามารถของสารสกัดผักฟอสเฟตบัพเฟอร์ในการต้านอนุมูลอิสระชนิดซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide anion radical) โดยอาศัยปฏิกิริยา Photochemical reduction ของสารละลาย riboflavin-methionine ผสมกับ nitro blue tetrazolium (NBT) และชนิดอนุมูลเสถียรของสาร Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH radical) หรือความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอิออน (H-donating activity) ในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดผักนั่นเอง ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดผักพื้นบ้านหลายชนิดมีความสามารถสูงในการต้านอนุมูลอิสระทั้งชนิด Superoxide และอนุมูลเสถียร (Superoxide scavenging และ H-donating activities) และเมื่อเทียบเคียงหน่วยเป็นมิลลิโมลาร์ (mM) ของสารมาตรฐาน Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Concentration) ที่เรียกว่า TEAC ต่อน้ำหนักในส่วนที่รับประทานได้ (edible parts) 1 กรัม พบว่ากลุ่มผักพื้นบ้านภาคใต้ 5 ใน 12 ชนิด มีค่า TEAC ในการกำจัดอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ สูง ≥ 450 mM/gm ได้แก่ ยอดจิก ยอดมะม่วงหิมพานต์ ยอดหมุยหอม ยอดมันปู และลูกเนียง โดยมีค่า TEAC = 816.9, 736.6, 698.1, 698.0, และ 493.3 mM/gm ตามลำดับ ส่วนอีก 7 ชนิดมีค่า TEAC อยู่ระหว่าง 52 – 230 mM/gm ได้แก่ ยอดเหมียง ลูกเหรียง ผักกรีน ลูกเนียงนก ยอดทำมึง ยอดชะชะ ลูกสะตอ เรียงลำดับจากน้อยไปหามาก กลุ่มผักสมุนไพรทั่วไปมี 4 ใน 8 ชนิดที่มีค่า TEAC อยู่ระหว่าง 300 – 413 mM/gm เรียงลำดับจากน้อยไปมาก ได้แก่ ต้นหอม ใบโหระพา ใบสะระแหน่ ใบกระเพราแดง ส่วนอีก 4 ชนิดมีค่าอยู่ระหว่าง 103 – 136 mM/gm เรียงลำดับจากน้อยไปมาก ได้แก่ ผักชี ขึ้นฉ่าย ผักชีฝรั่ง และใบแมงลัก กลุ่มผักพื้นบ้านทั่วไป สารสกัดจากผักกระถินมีค่า TEAC สูงสุด = 555.6 mM/gm ส่วนอีก 6 ชนิด มีค่า TEAC อยู่ระหว่าง 33 – 151 mM/gm ได้แก่ มะระจีน มะรุม ชะมวง มะระขี้นก ชะอม และ ตำลึง เรียงลำดับจากน้อยไปหามาก กลุ่มผักเครื่องเทศ ได้แก่ หอมแดง หอมหัวใหญ่ และกระเทียม มีค่า TEAC ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ คือมีค่าอยู่ระหว่าง 40 – 80 mM/gm ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบเสถียร (H-donating activity) ของสารสกัดผักด้วยฟอสเฟตบัพเฟอร์ทั้ง 30 ชนิดมีค่าต่ำกว่า Superoxide scavenging activity อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ส่วนที่ 2 ผลจากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ (สัดส่วน) ของสารสกัดผัก พบว่าผักส่วนใหญ่มีสัดส่วนของ MnSOD มากที่สุด (~40-98%) รองลงมาคือ Cu,ZnSOD และ FeSOD ยกเว้นในกระเทียมจะมีปริมาณของ Cu,ZnSOD มากกว่า MnSOD (64.2% vs 35.4%) ส่วนมะระจีนเป็นผักชนิดเดียวที่มีสัดส่วนของ FeSOD สูงสุดถึง 55% และมี สัดส่วนของ Cu,ZnSOD และ MnSOD ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน โดยภาพรวมสรุปได้ว่า Superoxide scavenging activity

ของสารสกัดผักส่วนใหญ่เกิดจากเอนไซม์ MnSOD ยกเว้นเฉพาะกระเทียม และมะระจีนซึ่งมีสัดส่วนของ Cu,ZnSOD และ FeSOD สูงกว่า isozymes ตัวอื่นตามลำดับ

ส่วนที่ 3 ปริมาณวิตามินซีในสารสกัดผักด้วยกรดฟอสฟอริกและตรวจวัดความเข้มของสีจากปฏิกิริยา CuSO_4 /Thiourea/Dinitrophenyl hydrazine แล้วเปรียบเทียบกับปริมาณวิตามินซีในผลส้มเปลือกบาง 1 ผล ซึ่งมีค่าเท่ากับ 40 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักส่วนที่กินได้ 100 กรัม พบว่า กลุ่มผักพื้นบ้านภาคใต้ 12 ชนิด ผักใบทั้ง 8 ชนิดมีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าส้มในน้ำหนักที่เท่ากัน คือมีค่าอยู่ระหว่าง 61.2 – 169 mg/100gm เรียงลำดับจากน้อยไปมากได้แก่ ผักขึ้น ผักเหมียง หมุยหอม แซะ มันปู จิก ทำมั่ง และมะม่วงหิมพานต์ ส่วนพวกเมล็ดได้แก่ ลูกเนียงนก ลูกเหริยง เมล็ดสะตอ และ ลูกเนียงมีปริมาณวิตามินซีอยู่ระหว่าง 29.7 – 38.1 mg/100gm กลุ่มผักสมุนไพรทั่วไป มีอยู่ 4 ชนิดที่มีปริมาณวิตามินซีสูงกว่าส้มโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 66.2 – 181 mg/100gm ได้แก่ โหระพา สะระแหน่ กระเพราแดง และผักชี ส่วนอีก 4 ชนิดคือ ต้นหอม ขึ้นฉ่าย ใบแมงลัก และผักชีฝรั่ง มีปริมาณวิตามินซีอยู่ระหว่าง 17.1 – 33.6 mg/100gm กลุ่มผักพื้นบ้านทั่วไป 7 ชนิดมีอยู่ 3 ชนิดที่มีปริมาณวิตามินซี \geq ส้ม ได้แก่ ชะมวง ตำลึง และมะระจีน (93.2, 47.7, 40.5 mg/100gm) ส่วนผักกระถิน มะระขี้นก ชะอม และมะรุม มีค่าอยู่ระหว่าง 12.6 – 25.2 mg/100gm ในกลุ่มผักเครื่องเทศ ได้แก่ หอมหัวใหญ่ หอมแดง กระเทียม มีปริมาณวิตามินซีน้อยกว่า 50% ของส้มที่มีน้ำหนักเท่ากัน

ส่วนที่ 4 luteolin ซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ flavone ที่พบในสารสกัดผักทุกชนิดยกเว้น ลูกเหริยง และพบมากที่สุด ในยอดมันปู (674 mg/kg dry weight) เช่นเดียวกับ apigenin ซึ่งเป็นอนุพันธ์ประเภท flavone อีกชนิดหนึ่งที่พบมากที่สุด ในยอดมันปู (307 mg/kg dry weight) แต่กลับไม่พบในยอดทำมั่งและหมุยหอม ส่วนอนุพันธ์ flavonol 2 ตัวคือ quercetin และ kaempferol พบได้เฉพาะในผักใบเท่านั้นและตรวจไม่พบในเมล็ดสะตอ และลูกเหริยง ส่วน flavonol อีกตัวหนึ่งคือ myricetin นั้นตรวจไม่พบในสารสกัดผักชนิดใดเลย

ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าผักพื้นบ้านของไทยโดยเฉพาะผักใบพื้นบ้านภาคใต้ที่นิยมรับประทานสดมีคุณค่าในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งชนิดซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide scavenging activity) นอกจากนี้ยังมีปริมาณวิตามินซีสูงเมื่อเทียบกับปริมาณวิตามินซีที่มีอยู่ในส้ม 1 ผล จึงควรส่งเสริมให้มีการรับประทาน ปลุกและจำหน่ายผักพื้นบ้านให้เกิดประโยชน์ในแง่ส่งเสริมสุขภาพและสร้างรายได้แก่ชุมชนอีกด้วย

Abstract

The high consumption of local vegetables in the daily classical Thai diet is part of the ancient wisdom which has been practiced over a long period of time. However, the healthy effects of these local vegetables in term of free radical scavengers have not been fully investigated. In this study, we have aimed to measure the antioxidative activities contributed by both the enzyme and non-enzyme components that presence in the crude extracts of 30 varieties of vegetables and herbs commonly grow and consume in the South of Thailand. The superoxide scavenging activities of the enzyme superoxide dismutases (SODs) and its' isozymes, were measured in aqueous (phosphate buffer) extract using the photochemical reduction of riboflavin/methionine/nitro blue tetrazolium (NBT) assay with and without the SOD enzyme inhibitors. The H-donating activities of vegetables/herbs from both buffer and methanol extracts were determined by the Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radicals reduction method. The antioxidative activities were expressed in mM concentration of Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Concentration = TEAC) per gram of vegetable (edible parts). In addition, the total vitamin C content in the crude extracts was also quantified and expressed in mg/100 gram of wet weight. The qualitative and quantitative measurement of flavonoids and its derivatives were selectively measured only in 5 varieties of vegetables.

Our study indicated that most of the local vegetables in the South have very high TEAC values for superoxide scavenging activity (SSA). The young leaves of Jig (*Barringtonia acutangula* Linn.), Cashew nut (*Anacardium occidentale* Linn.), Mui-hom (*Micromelum combodiana*), Mun-pu (*Glochidion wallichianum* Muell.) and the seed of Nieng (*Archidendron jiringa* Nielson.) possess the average TEAC values of 816.9, 736.6, 698.1, 698.0 and 493.3 mM/gm of wet weight respectively. The other 7 varieties of vegetable in the South, Pak-Meung, Rieng, Pak-Rin, Nieng-nok, Tum-mung, Sae, and Sator have the average TEAC values between 52 – 230 mM/gm. Four out of 8 varieties of common herbs also contained high TEAC values for SSA with the average values of 413.8, 360.4, 318.3 and 299.8 mM/gm for Holy basil (*Ocimum sanctum* Linn.), Mint (*Mentha cordifolia* Opiz.), Basil (*Ocimum basilicum* Linn.), and Spring onion (*Allium ascalonicum* Linn.) respectively. The other 4 herbs; Coriander (*Coriandrum sativum* Linn.), Chinese celery (*Apium graveolens* Linn.), Pak-chee-farang (*Eryngium foetidum* Linn.) and Bai-mang-lak (*Ocimum americanum* Linn.) have the activities between 103–136 mM/gm. The common vegetables group: both types of bitter gourds; Ma-ra-jeen and Ma-ra-kee-nok (*Momordica charantia* Linn), Ma-rum (*Moringa oleifera* Lamk), Cha-muang (*Garcinia cowa* Roxb.), Cha-om (*Acasia pennata* Linn), and Tum-lueng (*Coccinia grandis* Voigt.) have the TEAC values varies from 32.4–150.6 mM/gm except Kra-tin's pod (*Leucaena glauca* Benth.) possessed a very high TEAC value of 555.6 mM/gm. The three spices included in this study; garlic (*Allium sativum* Linn.), white-onion (*Allium cepa* Linn.), and red-onion (*Allium ascalonicum*) also have the TEAC values for superoxide scavenging activities of 80.7, 50.3 and 42.6 mM/gm, respectively. The isozyme inhibitor studies have indicated that the MnSOD is the most abundant SOD isozyme detected in all varieties of vegetables with the exception of Ma-ra-jeen and Garlic which have a higher proportion of FeSOD (55.3%) and CuZnSOD (64.2%), respectively.

The measurable H-donating activity from both aqueous and methanol extracts, though not much of difference but are not always correlated. The TEAC values in general were much less than the TEAC values for SSA and non-measurable in Pak-meung, Spring onion and all methanol extracts from the non-leaf vegetable except Sator and Nieng which have TEAC values of 95.0 and 13.8 mM/gm, respectively. Interestingly, all leaf-vegetable from the South also contain large amount of vitamin C i.e. greater than vitamin C content (40mg) in one fruit of tangerine (~100 gm of edible part) ranging from 61.2-169 mg/100gm of vegetable. Similarly, Coriander, Holy basil, Mint and Basil leaves also contain high amount of vitamin C ranging from 66.2-181 mg/100gm of vegetable. The other four herbs; Pak-chee-farang, Bai-mang-lak, Chinese celery, and Spring onion as well as the three spices; garlic, red and white onions are also contain vitamin C ranging from 8.1-33.6 mg/100gm. For the flavonoid derivatives analysis, luteolin and apigenin are the two common flavone found in 4 and 3 out of 5 selected vegetables in this study with the highest level in the extract of Mun-pu, 674 and 307 mg of luteolin and apigenin per kg of dry wt. respectively. Varying amount of quercetin and kaempferol, the two flavonol derivatives, are found only in the leaf vegetables and is not detected in the seeds of Sator and Reing. Finally, myricetin is not detected in all 5 selected vegetables. In conclusion, majority of herbs and vegetables particularly local vegetables which are freshly consumed in the South contain high values of free radicals (particularly superoxide) scavenging activity and vitamin C content. The data from this study could be used for the application of diet which may have beneficial enhancement effect for patients under the condition of oxidative stress.