

นิพนธ์ฉบับ

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของ สารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา

นุชนาฏ เลือเล็ก*, ดวงพร อมรเลิศพิศาล**, จิรดา สิงขรรัตน์***,
ปณิตดา โรจน์พิบูลสถิตย์*, สุปรานี กองคำ*, รัตนา เตียงทิพย์*

บทคัดย่อ

จากการที่พอลิฟีนอลในน้ำมันเมล็ดชามีความสามารถในการทำหน้าที่เป็นตัวต้านออกซิเดชัน ทำให้ปัจจุบันนิยมนำน้ำมันเมล็ดชามาเป็นน้ำมันในการปรุงอาหาร เพื่อช่วยป้องกันเซลล์จากภาวะออกซิเดชัน อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีรายงานทางวิทยาศาสตร์ถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา ดังนั้น การวิจัยครั้งนี้จึงออกแบบไม่เพียงแต่เพื่อศึกษาปริมาณพอลิฟีนอลและแคทเทชินในน้ำมันเมล็ดชา ยังรวมถึงความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยทำการสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันด้วยตัวทำละลาย ๓ ชนิดอย่างต่อเนื่อง (เมทานอล ปิโตรเลียมอีเทอร์ และเอทิลอะซิเตท) จากนั้น นำสารสกัดจากเอทิลอะซิเตทไปศึกษาการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีบีทีเอสโดยใช้โพลลอสเป็นสารมาตรฐาน ทำการวัดปริมาณพอลิฟีนอลในสารสกัดด้วยวิธีพอลิโนซิโอแคลตู โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และทำการวิเคราะห์ปริมาณแคทเทชินในสารสกัดพอลิฟีนอล โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผลการทดลองพบว่า สารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชามีความสามารถในการต้านออกซิเดชันเท่ากับ ๔.๒๑ มิลลิโมลาร์ของโพลลอสต่อกรัมของสารสกัด พบปริมาณพอลิฟีนอลในสารสกัด ๐.๗๔๘ มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด นอกจากนี้ พบปริมาณแคทเทชินในสารสกัดพอลิฟีนอลเท่ากับ ๘๕.๕๑ ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ดังนั้น ผลการวิจัยครั้งนี้ จึงสนับสนุนสมมติฐานที่ว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในน้ำมันเมล็ดชา อาจเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกโดยเฉพาะอย่างยิ่งแคทเทชิน

คำสำคัญ: น้ำมันเมล็ดชา, การต้านออกซิเดชัน, พอลิฟีนอล, แคทเทชิน

บทนำ

เป็นที่ทราบกันดีว่า อนุมูลอิสระ (free radical) เกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ในร่างกายของมนุษย์ และมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคร้ายแรงหลายชนิด อาทิ โรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease)^{๑,๒} โรคเบาหวาน (diabetes mellitus)^{๓,๔} โรคมะเร็ง (cancer)^๕ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารประกอบออกซิเจนที่เรียกว่า reactive oxygen species (ROS) ซึ่ง reactive oxygen species ที่สำคัญได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion, $O_2^{\cdot-}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) และอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $OH^{\cdot}$) สารเหล่านี้ล้วนมีผลกระทบต่อดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid,

DNA) โปรตีน (protein) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) และไขมัน (lipid) ในร่างกาย^๕ ส่งผลให้เกิดโรคต่างๆ ดังกล่าว อย่างไรก็ตาม วงการแพทย์มีการค้นพบว่า ตัวต้านออกซิเดชัน (antioxidant) เป็นสารที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระหรือต้านฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันและลดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ ดังนั้น ตัวต้านออกซิเดชันจึงช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่มีความสัมพันธ์กับอนุมูลอิสระได้^๖

ตัวต้านออกซิเดชัน มักพบในผัก ผลไม้ชนิดต่างๆ รวมไปถึงน้ำมันที่สกัดจากพืชชนิดต่างๆ ด้วย ได้แก่ วิตามินซี (vitamin C) ที่พบในฝรั่ง ส้ม และมะขามป้อม เป็นต้น หรือวิตามินอี

* สาขาเภสัชวิทยา สถาบันวิทยาศาสตร์พระคัลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

** คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

*** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

(vitamin E) ที่พบในน้ำมันพืชชนิดต่างๆ เป็นต้น วิตามินเหล่านี้ มีบทบาทเป็นตัวต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ ช่วยลดการเกิดโรคหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis)^{๒๔} ซึ่งเป็นโรคหัวใจร่วมหลอดเลือด ที่มีมูลเหตุจากอนุมูลอิสระที่พบบ่อย^{๒๕,๒๖-๒๗} นอกจากนี้ ยังมีสารอีกหลายชนิดที่ไม่ใช่วิตามิน แต่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (antioxidant activity) ได้แก่ พอลิฟีนอล (polyphenols) เป็นต้น

พอลิฟีนอล เป็นสารที่มีวงแหวนฟีนอล (phenol ring) อยู่ในโครงสร้างโมเลกุลมากกว่าหนึ่งวงแหวนฟีนอล สารนี้พบได้ในพืชหลายชนิด อาทิ ผลบลูเบอร์รี่ (blueberry)^{๒๘} และน้ำมันมะกอก^{๒๙-๓๑} เป็นต้น มีรายงานพบว่า พอลิฟีนอลในผลบลูเบอร์รี่มีฤทธิ์ลดการเกิด reactive oxygen species ในเม็ดเลือดแดงของหนูขาว^{๓๒} นอกจากนี้ สาร hydroxytyrosol และ oleuropein ที่เป็นพอลิฟีนอลในน้ำมันมะกอก มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน^{๓๓,๓๔} และมีฤทธิ์ลดการเกิดหลอดเลือดแดงแข็ง โดยยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของแอลดีแอล (LDL oxidation)^{๓๕} และลดการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation)^{๓๖} จึงอาจช่วยลดการเกิดโรคหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดแดงแข็งได้ นอกจากนี้ น้ำมันมะกอกแล้ว ไม่นานมานี้ มีเอกสารในประเทศหลายฉบับ กล่าวอ้างถึงพอลิฟีนอลในน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดชาหรือที่เรียกกันแพร่หลายว่า “น้ำมันเมล็ดชา” หรือ “น้ำมันชา” ถึงฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน^{๓๗-๓๘} อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีรายงานทางวิทยาศาสตร์ที่กล่าวถึงคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพอลิฟีนอลในน้ำมันเมล็ดชา

น้ำมันเมล็ดชา (tea seed oil) ได้มาจากเมล็ดของต้นชาชาฉิ่น (*Camellia oleifera*) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Theaceae ในประเทศจีนมีการนำน้ำมันเมล็ดชามาใช้กันอย่างแพร่หลายเป็นระยะเวลาช้านานแล้ว จนกระทั่ง ในปี พ.ศ. ๒๕๔๗ สำนักพระราชพิธีการมีหนังสือแจ้งถึงมูลนิธิชัยพัฒนาว่า สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มีพระราชกระแสให้มูลนิธิชัยพัฒนา นำต้นชาชาฉิ่นจากประเทศจีน มาทดลองปลูกในประเทศไทย เพื่อเตรียมผลิตน้ำมันที่สกัดจากเมล็ดชา โดยมีหน่วยงานรับผิดชอบ ๓ หน่วยงานคือ กรมวิชาการเกษตร โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช ในสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และมหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยมีวัตถุประสงค์หลักคือ แก้ไขปัญหาป่าเสื่อมโทรม และสร้างรายได้เพื่อแก้ไขความยากจน^{๓๙} จึงเป็นไปได้ว่า ในอนาคตจะมีการใช้น้ำมันที่สกัดจากเมล็ดชาอย่างแพร่หลายในประเทศไทย มีรายงานพบว่าสารที่สกัดจากน้ำมันเมล็ดชาด้วยเมทานอล (methanol extract) สามารถกำจัดอนุมูลอิสระชนิด diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2'-azino-bis-(3-

ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) ได้ในระดับห้องปฏิบัติการนอกกาย (*in vitro*)^{๔๐} นอกจากนี้ รายงานจากการทดลองในกาย (*in vivo*) ในสัตว์ทดลอง พบว่า พอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา นอกจากจะสามารถลดไขมันในเลือดและในตับ ลดการหลั่ง thromboxane B₂ (TXB₂) แล้ว ยังเพิ่มฤทธิ์ของเอนไซม์ในร่างกายหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอีกด้วย^{๔๑} โดยสารประกอบพอลิฟีนอลที่พบในต้นชาชาฉิ่นที่เป็นส่วนสำคัญ และพบในปริมาณมาก ได้แก่ สารแคเทชิน (catechin)

แคเทชินเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ เมื่อศึกษาด้วยการตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC (Oxygen radical absorbance capacity assay)^{๒๖,๒๗} นอกจากนี้ He และคณะ ได้รายงาน ว่า ในต้นชาชาฉิ่นมีสารแคเทชินในปริมาณมากถึงร้อยละ ๘๐ ของพอลิฟีนอลทั้งหมด^{๔๒} แต่อย่างไรก็ดี ยังไม่มีงานวิจัยใดที่รายงานถึงการค้นพบสารแคเทชินในน้ำมันเมล็ดชา ดังนั้น งานวิจัยครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาปริมาณพอลิฟีนอลและสารแคเทชินในส่วนชอน้ำมันเมล็ดชา และความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา

วิธีการศึกษา

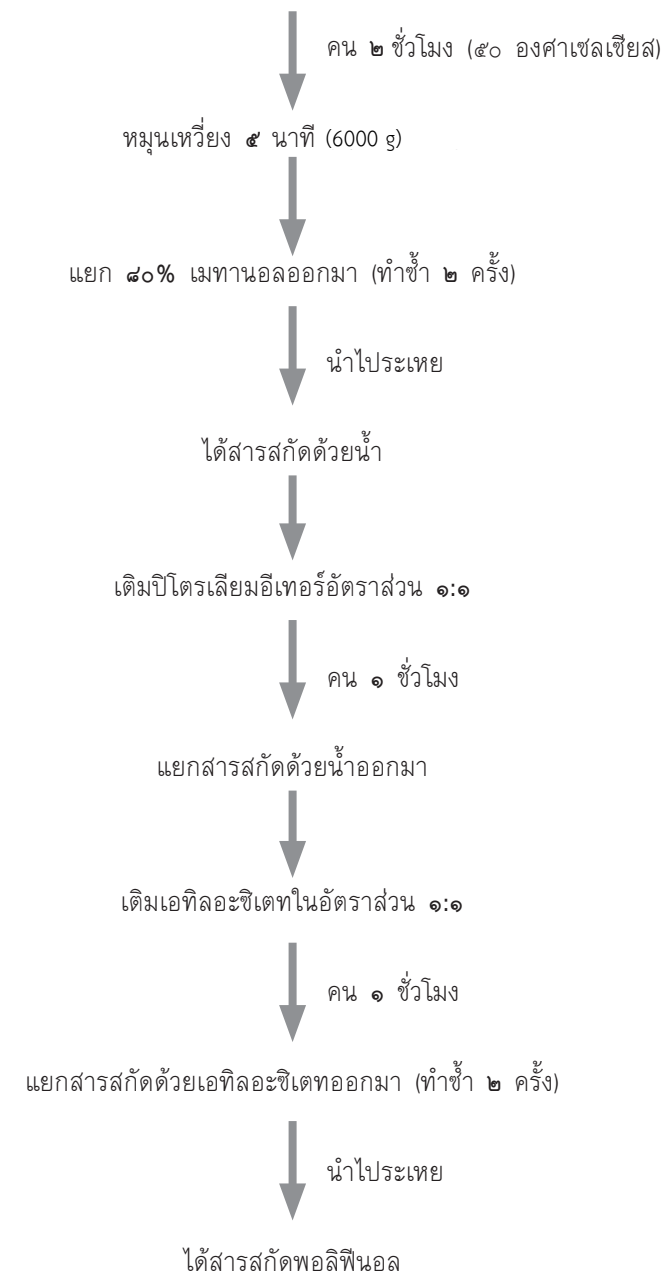
การสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา

นำน้ำมันเมล็ดชาที่มีจำหน่ายในห้างสรรพสินค้า (department store) มาสกัดพอลิฟีนอล ด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction หรือ liquid-liquid extraction) ๓ ขั้นตอนอย่างต่อเนื่อง โดยใช้เมทานอล (methanol) ปีโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) และเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) ตามลำดับ^{๔๓} ดังนี้ ผลผลิมน้ำมันเมล็ดชา กับ ๘๐% เมทานอล ในอัตราส่วน ๑:๑ แล้วทำการคน (stir) นาน ๒ ชั่วโมงที่อุณหภูมิ ๕๐ องศาเซลเซียส บนเครื่องกวนสารละลาย (hot plate sterler) [Barnstead รุ่น Thermolyne Sp13420-26, USA] จากนั้น หมุนเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยเครื่องปั่นตกตะกอนด้วยความเร็วสูง [Eppendorf รุ่น 5804 R, Germany] 6000 g นาน ๕ นาที แล้วแยก ๘๐% เมทานอล ออกมา (ทำซ้ำ ๒ ครั้ง) จากนั้นนำ ๘๐% เมทานอลที่แยกออกมาไประเหย (evaporate) โดยใช้เครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (rotatory evaporator) จนได้สารสกัดด้วยน้ำ (aqueous extract) แล้วทำการเติมปีโตรเลียมอีเทอร์ในอัตราส่วน ๑:๑ เพื่อกำจัดน้ำมันที่ปนออกมา จากนั้น ทำการคนอีก ๑ ชั่วโมง แล้วแยกสารสกัดด้วยน้ำออกมา แล้ว

เติมเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) ในอัตราส่วน ๑:๑ เพื่อแยกเอาเฉพาะพอลิฟีนอลออกมา ทำการคนอีก ๑ ชั่วโมง แล้วแยกสารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทออกมา (ทำซ้ำ ๒ ครั้ง) สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทที่ได้ถูกนำไประเหยโดยใช้เครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน แล้วได้สารสกัดพอลิฟีนอล

ออกมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -๒๐ องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยแสดงขั้นตอนการสกัดในรูปแบบที่ ๑

ผสมน้ำมันเมล็ดชา กับ ๘๐% เมทานอลในอัตราส่วน ๑:๑



รูปที่ ๑ ขั้นตอนการสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา

การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีเอบีทีเอส (ABTS)

การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant capacity) ของสารสกัดพอลิฟีนอลในงานวิจัยนี้ดัดแปลงจากวิธีการของ Re และคณะ^{๑๐} ดังนี้ เตรียม stock ABTS radical cation โดยผสมสารละลาย 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ความเข้มข้น ๗ มิลลิโมลาร์ (๕ มิลลิลิตร) กับสารละลาย $K_2S_2O_8$ ความเข้มข้น ๑๔๐ มิลลิโมลาร์ (๘๘ ไมโครลิตร) ในขวดสีชา ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา ๑๖ ชั่วโมง จากนั้น เจือจาง stock ABTS radical cation ด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ค่าการดูดกลืน

แสง (absorbance) ในช่วง 0.700 ± 0.05 ที่ความยาวคลื่น ๗๓๔ นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ศึกษาสารสกัดพอลิฟีนอลที่ความเข้มข้น ๑, ๒๐, ๔๐, ๖๐ และ ๘๐ มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยใส่สารทดสอบในปริมาตร ๐.๒ มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง (ใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม) ต่อมาเติมสารละลาย ABTS ปริมาตร ๑.๘ มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน ๖ นาที จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๗๓๔ นาโนเมตร ทำซ้ำ ๓ ครั้ง (triplicate) หลังจากนั้น นำค่าที่ได้ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ (% inhibition) ดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[Abs_{\text{control}} - Abs_{\text{test sample}}] / Abs_{\text{control}}}{1} \times 100$$

Abs_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

$Abs_{\text{test sample}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบ

คำนวณความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพอลิฟีนอลโดยเทียบกับสารมาตรฐาน คือโทรลอคซ์ (Trolox) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี ในหน่วยมิลลิโมลาร์ของ

โทรลอคซ์ (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC) ต่อกรัมของสารสกัด ค่าที่ได้รายงานเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD)

การวิเคราะห์ปริมาณพอลิฟีนอลในสารสกัดที่ได้จากน้ำมันเมล็ดชา

การวิเคราะห์ปริมาณพอลิฟีนอลในสารสกัดโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation-reduction) ด้วยวิธีฟอลินซีโอคัลเตอู (Folin-Ciocalteu) ดัดแปลงจากวิธีการของ Sachindra และคณะ^{๑๑} โดยศึกษาสารสกัดพอลิฟีนอลที่ความเข้มข้น ๕๐, ๑๐๐, ๑๕๐ และ ๒๐๐ มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังนี้ ผสมสารทดสอบในปริมาตร ๐.๒ มิลลิลิตรกับสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu (๑ มิลลิลิตร) และสารละลาย 7.5% sodium carbonate (๐.๘ มิลลิลิตร) แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน ๑ ชั่วโมง จากนั้น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๗๖๕ นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำซ้ำ ๓ ครั้ง คำนวณปริมาณพอลิฟีนอลโดยเทียบกับกรดแกลลิก (gallic acid) ในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิก (gallic acid equivalent, GAE) ต่อกรัมของสารสกัด ค่าที่ได้รายงานเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

HPLC) (บริษัท Shimadzu, ประเทศญี่ปุ่น) ที่ประกอบด้วย ACE-HPLC Column (C 18 with 150 mm x 4.6 mm) และ LC-20AT pump โดยมีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ methanol-water (11:89, v/v) ที่มี 2% acetic acid และใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานเทียบภายใน (internal standard) อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ (flow rate) เท่ากับ ๑ มิลลิลิตรต่อนาที ใช้สารตัวอย่าง (สารสกัดพอลิฟีนอลความเข้มข้น ๕๐๐๐๐ พีพีเอ็ม; กรดแกลลิกความเข้มข้น ๔๐ พีพีเอ็ม; สารแคพเทซินความเข้มข้น ๒๐, ๔๐, ๖๐, ๘๐, ๑๐๐ พีพีเอ็ม) ฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยใช้ปริมาตร ๒๐ ไมโครลิตร และใช้ SPD-20A/20AV UV-VIS detector ที่ความยาวคลื่น ๒๘๐ นาโนเมตร เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์สารแคพเทซิน (retention time) เท่ากับ ๑๒.๕ นาที คำนวณปริมาณสารแคพเทซินในสารสกัดพอลิฟีนอลโดยใช้กราฟเทียบมาตรฐาน (calibration curve) ของพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารแคพเทซิน ค่าที่ได้รายงานเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การวิเคราะห์ปริมาณสารแคพเทซินในสารสกัดพอลิฟีนอล

การวิเคราะห์ปริมาณสารแคพเทซินในสารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชาด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography,

ผลการศึกษา

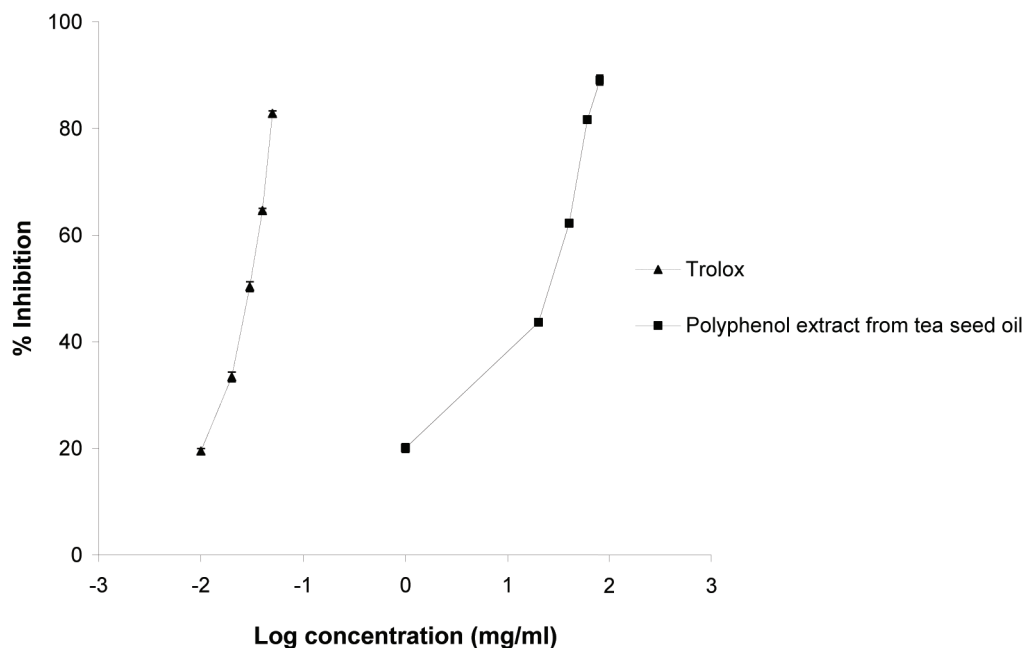
การสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา

สารสกัดพอลิฟีนอลที่ได้จากน้ำมันเมล็ดชา เป็นลักษณะเหนียวข้นสีน้ำตาล มีปริมาณเท่ากับ 50.00 ± 5.52 มิลลิกรัมต่อน้ำมันหนึ่งลิตร (n=4)

การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี
เอบีทีเอส

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย

วิธีเอบีทีเอส พบว่าสารสกัดโพลีฟีนอลมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
เท่ากับ 4.21 ± 0.10 มิลลิโมลาร์ TEAC ต่อกรัมของสาร
สกัด (รูปที่ ๒)

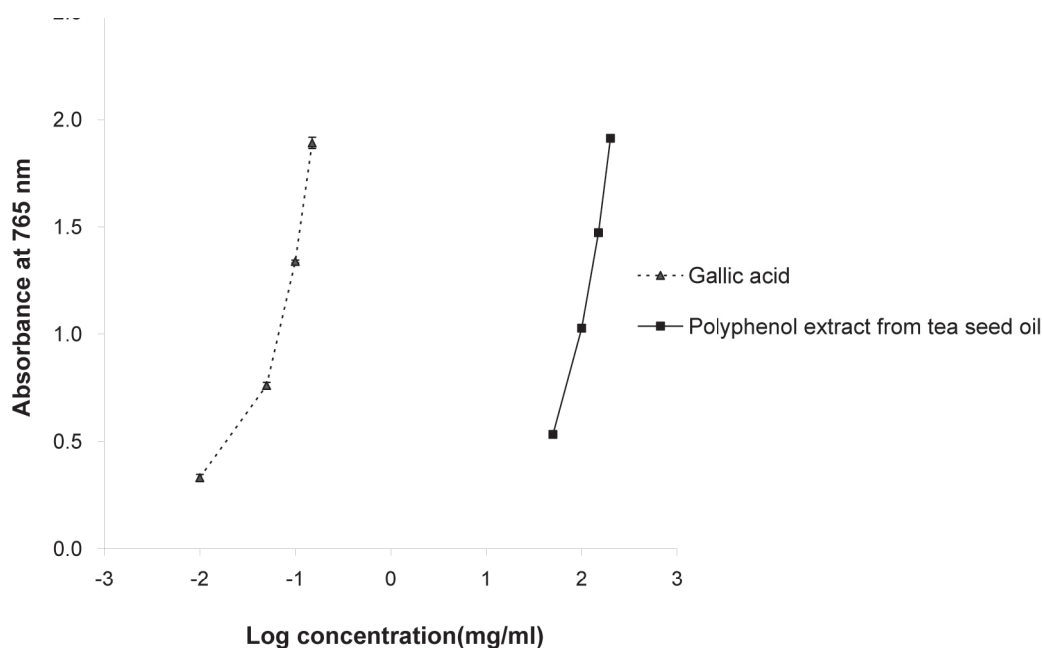


รูปที่ ๒ ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโทรลอกซ์ และสารสกัดโพลีฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา กับเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูล ABTS^{••}

การวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอลในสารสกัดที่ได้จากน้ำมัน
เมล็ดชา

การวิเคราะห์ปริมาณโพลีฟีนอล ใช้วิธีการวิเคราะห์
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ในสารสกัดที่ได้

จากน้ำมันเมล็ดชา พบว่าสารสกัดโพลีฟีนอลจากน้ำมันเมล็ด
ชามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 0.744 ± 0.004
มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมของสารสกัด (รูปที่ ๓)



รูปที่ ๓ ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิก และสารสกัดโพลีฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา กับปริมาณการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ๗๖๕ นาโนเมตร จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

การวิเคราะห์ปริมาณสารแคเทชินในสารสกัดพอลิฟีนอล

การวิเคราะห์หาปริมาณสารแคเทชินในสารสกัดพอลิฟีนอล ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่า สารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา มีปริมาณสารแคเทชินเท่ากับ ๘๕.๕๑ ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากผลการวิจัยพบว่า สารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชาที่ได้จากการใช้ตัวทำละลาย ๓ ชนิดอย่างต่อเนื่องนี้ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยสามารถกำจัดอนุมูล ABTS^{••} ได้ โดยประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูล ABTS^{••} นี้ เท่ากับ 4.26 ± 0.10 มิลลิโมลาร์ TEAC ต่อกรัมของสารสกัด และขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัดพอลิฟีนอลที่ใช้ในการวิจัย โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) ในความเข้มข้นระหว่าง ๑-๖๐ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ ๐.๙๙๗๗ ผลการทดลองนี้สนับสนุนรายงานของ Lee และ Yen ที่พบว่าสารที่สกัดจากน้ำมันเมล็ดชาด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน จากการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิด ABTS และ DPPH^{••}

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.744 ± 0.004 มิลลิกรัม GAE ต่อกรัมของสารสกัด แสดงว่า ในน้ำมันเมล็ดชา มีพอลิฟีนอลเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสนับสนุนคำกล่าวของ He และคณะที่กล่าวว่า น้ำมันเมล็ดชา มีพอลิฟีนอล^{๒๔} มีงานวิจัยหลายฉบับที่กล่าวถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของพอลิฟีนอล^{๑๓,๒๒,๒๓} ดังนั้น จึงเป็นไปได้ว่า ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันที่สามารถกำจัดอนุมูล ABTS^{••} นี้ เกิดจากการทำงานของพอลิฟีนอลที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเมล็ดชา อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาวิจัยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยการศึกษาจากความสามารถในการกำจัดอนุมูล ABTS^{••} เพียงวิธีเดียว ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาวินิจฉัยฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธีต่างๆ เพิ่มเติม เพื่อให้เกิดความชัดเจนในสรรพคุณการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา

งานวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการวิเคราะห์สารแคเทชินซึ่งเป็นพอลิฟีนอลชนิดหนึ่ง ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าสารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา มีสารแคเทชินในปริมาณ ๘๕.๕๑ ไมโครกรัมต่อสารสกัด ๑ มิลลิกรัม นั่นคือ ในน้ำมันเมล็ดชา ๑ ลิตร มีสารแคเทชินเท่ากับ ๔.๒๘ มิลลิกรัม ซึ่งการพบสารแคเทชินในน้ำมันเมล็ดชา นี้ สอดคล้องกับบทความที่กล่าวว่าในน้ำมันเมล็ดชา มีสารแค-

เทชิน^{๒๐-๒๒} ผลจากงานวิจัยครั้งนี้ จึงเป็นการสนับสนุนข้อมูลที่ว่า มีสารแคเทชินในน้ำมันเมล็ดชาจริง

มีรายงานหลายฉบับพบว่า สารแคเทชินมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เมื่อศึกษาด้วยการตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH การตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธี ORAC^{๒๖,๒๗} และความสามารถในการกำจัดอนุมูล ABTS^{••} ^{๓๔} งานวิจัยนี้ จึงเป็นการสนับสนุนข้อสมมติฐานที่ว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันเมล็ดชาโดยการกำจัดอนุมูล ABTS^{••} นี้ ส่วนหนึ่งเกิดจากสารแคเทชินด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้พบสารแคเทชินเพียงร้อยละ ๘.๕๕ ของปริมาณสารสกัดพอลิฟีนอลจากน้ำมันเมล็ดชา ซึ่งน้อยกว่ารายงานของ He และคณะที่พบว่า สารแคเทชินในต้นชา น้ำมันมีมากถึงร้อยละ ๘๐ ของพอลิฟีนอลทั้งหมด^{๒๔} จึงเป็นไปได้ว่า ในต้นชา น้ำมันมีปริมาณสารแคเทชินมากเมื่อเทียบกับปริมาณสารแคเทชินในเมล็ดชา นอกจากนี้ น้ำมันเมล็ดชาที่ใช้ในการวิจัยเป็นน้ำมันที่มีจำหน่ายตามห้างสรรพสินค้าทั่วไป จึงอาจมีกระบวนการผลิตน้ำมันจากเมล็ดชาที่อาจส่งผลต่อปริมาณสารแคเทชินในน้ำมันได้ ดังนั้น ในอนาคต หากมีการผลิตน้ำมันที่ได้จากเมล็ดชาในประเทศ ก็น่าที่จะมีการศึกษาถึงปริมาณสารแคเทชินในน้ำมันที่ผลิตจากเมล็ดชาโดยตรง อนึ่ง งานวิจัยนี้เป็นการสรุปวิเคราะห์สารแคเทชินจากสารสกัดจากน้ำมันเมล็ดชาเพียง ๑ ตัวอย่าง ดังนั้น ในอนาคตจึงควรมีการวิเคราะห์สารแคเทชินในตัวอย่างสารสกัดเพิ่มเติม เพื่อเป็นการสนับสนุนการค้นพบสารแคเทชินในน้ำมันเมล็ดชา และหากมีการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารแคเทชินในสารสกัดด้วยแล้ว ก็ยังจะเป็นการยืนยันข้อมูลดังกล่าวให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ มีรายงานวิจัยพบว่า น้ำมันหลายชนิด อาทิ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันจากเมล็ดทานตะวันและน้ำมันมะกอก มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน เมื่อศึกษาด้วยการตรวจสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูล ABTS^{••} ^{๓๕} และยังพบว่าน้ำมันเหล่านี้มีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบด้วย^{๑๔-๑๖,๒๖} ดังนั้น ในอนาคต จึงควรมีการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่พบในน้ำมันเมล็ดชา กับน้ำมันชนิดต่างๆ ที่นิยมและมีขายในประเทศไทยด้วย เพื่อให้เกิดข้อมูลที่เป็นประโยชน์สูงสุดต่อผู้บริโภคชาวไทย

สรุป

จากผลการวิจัย จึงสรุปได้ว่า การสกัดสารจากน้ำมันเมล็ดชาในครั้งนี้ ได้พอลิฟีนอลที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชัน จากประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูล ABTS^{••}

และมีความเป็นไปได้ว่า ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันเมล็ดชา นั้น ส่วนหนึ่งเกิดจากสารแคเทชิน ซึ่งงานวิจัยครั้งนี้ ช่วยยืนยันถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน อันเป็นคุณสมบัติของน้ำมันเมล็ดชา ที่จะให้ผู้บริโภคได้นำไปประกอบการพิจารณาน้ำมันเมล็ดชา มาเป็นน้ำมันในการปรุงอาหาร นอกจากนี้ ข้อมูลดังกล่าวยังอำนวยความสะดวกต่อการแพทย์ในการศึกษาค้นคว้าคุณสมบัติของน้ำมันเมล็ดชาต่อการป้องกันโรคต่างๆ อาทิ โรคหัวใจรวมหลอดเลือด โรคเบาหวาน และโรคมะเร็งได้ในอนาคต และข้อมูลต่างๆ จากงานวิจัยนี้จะ เป็นข้อมูลที่ช่วยสนับสนุนให้หน่วยงานต่างๆ นำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาค้นคว้าวิจัยที่เกี่ยวข้องกับต้นชา น้ำมัน เพื่อให้ต้นชา น้ำมันสามารถสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจ อันจะเป็นประโยชน์แก่ประชาชนและเศรษฐกิจของชาติ อย่างไรก็ตาม การวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการนอกกาย ดังนั้น ควรมีการศึกษาต่อไประดับในกาย โดยเฉพาะในมนุษย์ เพื่อสนับสนุนการนำน้ำมันเมล็ดชาไปใช้ประโยชน์ในเชิงสุขภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย จากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

๑. Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part II: animal and human studies. *Circulation* 2003;108:2034-40.
๒. Aviram M. Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases. *Free Radic Res* 2000;33l:S85-97.
๓. Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. *Br Med Bull* 1993;49:642-52.
๔. Trueba GP, Sanchez GM, Giuliani A. Oxygen free radical and antioxidant defense mechanism in cancer. *Front Biosci* 2004;9:2029-44.
๕. Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Alfarez MJ, Vazquez C. The potential role of antioxidant vitamins in preventing cardiovascular diseases and cancers. *Nutrition* 1998;14:513-20.
๖. Elejalde Guerra JI. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. *An Med Interna* 2001;18:326-35.
๗. Antoniadis C, Tousoulis D, Tentolouris C, Toutouzas P, Stefanadis C. Oxidative stress, antioxidant vitamins, and atherosclerosis. From basic research to clinical practice. *Herz* 2003;28:628-38.
๘. Mazor D, Golan E, Philip V, Katz M, Jafe A, Ben-Zvi Z, et al. Red blood cell permeability to thiol compounds following oxidative stress. *Eur J Haematol* 1996;57:241-6.
๙. Thomson MJ, Puntmann V, Kaski JC. Atherosclerosis and oxidant stress: the end of the road for antioxidant vitamin treatment? *Cardiovasc Drugs Ther* 2007;21:195-210.
๑๐. Czernichow S, Hercberg S. Interventional studies concerning the role of antioxidant vitamins in cardiovascular diseases: a review. *J Nutr Health Aging* 2001;5:188-95.
๑๑. Riccioni G, Bucciarelli T, Mancini B, Di Ilio C, Capra V, D'Orazio N. The role of the antioxidant vitamin supplementation in the prevention of cardiovascular diseases. *Expert Opin Investig Drugs* 2007;16:25-32.
๑๒. Tepel M, van der Giet M, Zidek W. Antioxidant therapy in vascular and renal diseases. *Med Klin (Munich)* 2002;97:144-51.
๑๓. Youdim KA, Shukitt-Hale B, MacKinnon S, Kalt W, Joseph JA. Polyphenolics enhance red blood cell resistance to oxidative stress: in vitro and in vivo. *Biochim Biophys Acta* 2000;1523:117-22.
๑๔. Manna C, Galletti P, Cucciolla V, Moliterno O, Leone A, Zappia V. The protective effect of the olive oil polyphenol (3,4-dihydroxyphenyl)-ethanol counteracts reactive oxygen metabolite-induced cytotoxicity in Caco-2 cells. *J Nutr* 1997;127:286-92.
๑๕. Manna C, Galletti P, Cucciolla V, Montedoro G, Zappia V. Olive oil hydroxytyrosol protects human erythrocytes against oxidative damages. *J Nutr Biochem* 1999;10:159-65.

๑๖. Edgecombe SC, Stretch GL, Hayball PJ. Oleuropein, an antioxidant polyphenol from olive oil, is poorly absorbed from isolated perfused rat intestine. *J Nutr* 2000;130:2996-3002.
๑๗. D'Angelo S, Ingrosso D, Migliardi V, Sorrentino A, Donnarumma G, Baroni A, et al. Hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, prevents protein damage induced by long-wave ultraviolet radiation in melanoma cells. *Free Radic Biol Med* 2005;38:908-19.
๑๘. Visioli F, Bellomo G, Montedoro G, Galli C. Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis* 1995;117:25-32.
๑๙. Petroni A, Blasevich M, Salami M, Papini N, Montedoro GF, Galli C. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb Res* 1995;78:151-60.
๒๐. กัญชวลี ทิมมารณ. บริโภคถูกหลัก ลดความเสี่ยงโรคภัย. *สยามรัฐ*. ๒๕๕๑ มี.ค. ๒๒ :๑๐.
๒๑. คัลยา คงสมบูรณ์เวช. น้ำมันเมล็ดชาส่งเสริมสุขภาพ. *มติชนสุดสัปดาห์*. ๒๕๕๑ ก.พ. - มี.ค. ๒๕,๖ :๓๓.
๒๒. คัลยา คงสมบูรณ์เวช. น้ำมันเมล็ดชาลดเสี่ยงสารพัดโรค. *โลกวันนี้*. ๒๕๕๑ มี.ค. ๗ :๐๗.
๒๓. ขวัญจิรา ชีวานนท์. "ชาน้ำมัน" โครงการใหม่ของมูลนิธิชัยพัฒนา. *วารสารมูลนิธิชัยพัฒนา* ๒๕๔๘ เมษายน:๒๓-๘.
๒๔. Lee CP, Yen GC. Antioxidant activity and bioactive compounds of tea seed (*Camellia oleifera* Abel.) oil. *J Agric Food Chem* 2006;54:779-84.
๒๕. Wilhelm C, Selmar D. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. *J Plant Physiol* 2011;168:79-87.
๒๖. Roy MK, Koide M, Rao TP, Okubo T, Ogasawara Y, Juneja LR. ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: relationship between total polyphenol and individual catechin content. *Int J Food Sci Nutr* 2010;61:109-24.
๒๗. Ivanov SA, Nomura K, Malfanov IL, Sklyar IV, Ptit-syn LR. Isolation of a novel catechin from *Bergenia* rhizomes that has pronounced lipase-inhibiting and antioxidative properties. *Fitoterapia* 2011;82:212-8.
๒๘. He L, Guo-ying Z, Huai-yun Z, Jun-ang L. Research progress on the health function of tea oil. *Journal of Medicinal Plants Research* 2011;5:485-9.
๒๙. Cui T, Nakamura K, Tian S, Kayahara H, Tian YL. Polyphenolic content and physiological activities of Chinese hawthorn extracts. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006;70:2948-56.
๓๐. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999;26:1231-7.
๓๑. Sachindra NM, Airanthi MKWA, Hosokawa M, Miyashita K. Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of extracts from Indian seaweeds. *J Food Sci Technol* 2010;47:94-9.
๓๒. Fazel M, Sahari MA, Barzegar M. Comparison of tea and sesame seed oils as two natural antioxidants in a fish oil model system by radical scavenging activity. *Int J Food Sci Nutr* 2009;31:1-10.
๓๓. Anesini C, Ferraro GE, Filip R. Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *J Agric Food Chem* 2008;56:9225-9.
๓๔. Duenas M, Gonzalez-Manzano S, Gonzalez-Paramas A, Santos-Buelga C. Antioxidant evaluation of O-methylated metabolites of catechin, epicatechin and quercetin. *J Pharm Biomed Anal* 2010;51:443-9.
๓๕. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Del Rio D, Salvatore S, Bianchi M, et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr* 2003;133:2812-9.
๓๖. Siger A, Nogala-Kalucka M, Lampart-Szczapa E. The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *J Food Lipids* 2008;15:137-49.

Abstract

The Antioxidant Capacity of Polyphenol Extract from Tea Seed Oil

Nuchanart Suealek*, Doungporn Amornlerdpison**, Jirada Singkhonrat***, Panadda Rojibulstit*, Supranee Kongkham*, Rattana Tiengtip*

* Division of Pharmacology, Department of Preclinical Science, Faculty of Medicine, Thammasat University

** Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources Maejo University

*** Faculty of Science and Technology, Thammasat University

Tea seed oil polyphenols are the one particular class of antioxidants and nowadays have been attracted as the popular cooking oils to help protect cells from oxidative damage. However, it has never been a scientific report to clarify their polyphenol antioxidative activity. Thus, this research was designed to study not only polyphenols and catechin contents in tea seed oil but also its antioxidant capacity. Absolutes polyphenol compounds were obtained by sequential solvent-extraction (methanol, petroleum ether and ethyl acetate). An ethyl acetate-extracted product was further investigated on its antioxidant capacity by ABTS assay using Trolox as the standard. Its polyphenol content was measured by an oxidation-reduction (Folin-Ciocalteu) method using gallic acid as the standard. Catechin in the polyphenol extract was analyzed by using HPLC method. The results showed that an antioxidant capacity of the polyphenol extract was 4.21 mM Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per gram of extract. Polyphenol content in the extract was 0.748 mg gallic acid equivalent (GAE) per gram of extract. In addition, catechin content in the polyphenol extract was 85.51 µg/mg. Thus, this results support our hypothesis that an antioxidant activity in tea seed oil might be come from phenolic compounds especially catechin.

Key words: Tea seed oil, Antioxidant, Polyphenols, Catechin