บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาเรื่องสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความเป็นพิษของกระเจี๊ยบเขียวต่อเซลล์เพาะเลี้ยง ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาค้นคว้าวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องเพื่อเป็นพื้นฐานและแนวทางในการศึกษาดังนี้

1. ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของกระเจี๊ยบเขียว
2. การใช้ประโยชน์ของกระเจี๊ยบเขียว
3. ความหลากหลายของสายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
4. ลักษณะของผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว
5. สารสำคัญของกระเจี๊ยบเขียว
6. การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร
7. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของกระเจี๊ยบเขียว

1. ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของกระเจี๊ยบเขียว

กระเจี๊ยบเขียว (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) เป็นพืชในวงศ์ Malvaceae มีชื่อท้องถิ่น เช่น กระเจี๊ยบมอญ มะเขือมอญ กระเจี๊ยบ มะเขือทะวาย มะเขือพม่า มะเขือมื่น และมะเขือละโว้ เป็นต้น ลักษณะต้นกระเจี๊ยบเขียว เป็นไม้ล้มลุก สูง 0.5-2 เมตร และมีขนทั่วไป สีลำต้นเป็นสีเขียวหรือแดง ใบเดี่ยว เรียงสลับรูปไข่หรือค่อนข้างกลม กว้าง 10-30 เซนติเมตร ปลายหยักแหลม โคนเว้ารูปหัวใจ เส้นใบออกจากโคนใบ 3-7 เส้น ดอกมีลักษณะเป็นดอกเดี่ยว ออกตามซอกใบ มีริ้วประดับ (epicalyx) เป็นเส้นสีเขียว 8-10 เส้น เรียงเป็นวงรอบโคนกลีบเลี้ยง กลีบเลี้ยง 5 กลีบ กลีบดอก 5 กลีบ สีเหลือง โคนกลีบสีม่วงแดง รูปไข่กลับหรือค่อนข้างกลม เกสรเพศผู้มีจำนวนมาก ก้านชูอับเรณูติดกันเป็นหลอดยาว 2-3 เซนติเมตร หุ้มเกสรเพศเมียไว้ อับเรณูเล็กจำนวนมากติดรอบหลอด ก้านเกสรเพศเมียเรียวยาว ปลายแยกเป็น 5 แฉก ยอดเกสรเพศเมียเป็นแผ่นกลมขนาดเล็ก สีม่วงแดง ยื่นพ้นปากหลอดดอก ผลยาวเรียว ปลายเรียวแหลม ผลบางสายพันธุ์ไม่มีเหลี่ยม แต่บางสายพันธุ์มีเหลี่ยม ซึ่งจะมีจำนวนเหลี่ยมแตกต่างกัน ขนที่ผลก็เช่นกันบางสายพันธุ์ไม่มีขน แต่บางสายพันธุ์มีขน มีเมล็ดมาก เมล็ดรูปไตกลม ขนาด 3-6 มิลลิเมตร การขยายพันธุ์นิยมขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

2. การใช้ประโยชน์ของกระเจี๊ยบเขียว

2.1 ผล ผลอ่อนใช้แก้โรคกระเพาะอาหาร และขับพยาธิตัวจี๊ด โดยคุณค่าทางโภชนาการของกระเจี๊ยบเขียว ได้แก่ พลังงาน 26 Kcal น้ำ 90.8 กรัม โปรตีน 1.5 กรัม ไขมัน 0.2 กรัม คาร์โบไฮเดรต 4.5 กรัม เส้นใย 4.2 กรัม เถ้า 0.6 กรัม แคลเซียม 11 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 2 มิลลิกรัม เหล็ก 2 มิลลิกรัม วิตามินอี 0.55 มิลลิกรัม ไทอามีน 0.05 มิลลิกรัม ไรโบฟลาวิน 0.08 มิลลิกรัม ไนอาซีน 1.6 มิลลิกรัม วิตามินซี 14 มิลลิกรัม เบต้าแคโรทีน 335 ไมโครกรัม และวิตามินเอ 56 ไมโครกรัม สารเมือกหรือเส้นใยที่ละลายน้ำได้ของกระเจี๊ยบ

เขียว เมื่อเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ จะช่วยในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (พรีไบโอติกแบคทีเรีย) ซึ่งจะช่วยลดปริมาณพิษที่ผลิตจากแบคทีเรียที่ไม่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย กระเจี๊ยบเขียวจึงจัดเป็นผักสุขภาพสำหรับผู้ป่วยมะเร็งอีกชนิดหนึ่ง ส่วนเมล็ดแก่มีน้ำมันมาก กากเมล็ดมีโปรตีนเหมาะสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์ และเส้นใยจากต้นสามารถนำมาทำเชือกและกระดาษ นอกจากนี้โรงงานผลิตน้ำตาลบางแห่งในอินเดียยังนำเมือกจากต้นมาใช้ในกระบวนการทำให้น้ำอ้อยสะอาด

2.2 ใบ มีการใช้ใบกระเจี๊ยบเขียวในตุรกีเพื่อเตรียมยาเพื่อลดการอักเสบ (Oluyemisi Elizabeth Adelakun and Olusegun James Oyelade, 2011)

2.3 เมล็ด มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูง ซึ่งมีศักยภาพเป็นแหล่งโปรตีนและไขมันให้มนุษย์

3. ความหลากหลายของสายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว

การประเมินลักษณะประจำสายพันธุ์และการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวด้วยเครื่องหมายไอเอสเอสอาร์ โดยการรวบรวมสายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน 10 สายพันธุ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 3 สายพันธุ์ กรมวิชาการเกษตร 1 สายพันธุ์ ศูนย์ฝึกอบรมเยาวชนเกษตรวัดญาณสังวรารามวรมหาวิหาร อันเนื่องมาจากพระราชดำริ 1 สายพันธุ์ พันธุ์การค้า 10 สายพันธุ์ และพันธุ์จากต่างประเทศ 10 สายพันธุ์ รวมทั้งหมด 35 สายพันธุ์ เมื่อพิจารณาที่ค่าสัมประสิทธิ์ความคล้าย 0.69 พบว่าแผนภูมิความสัมพันธ์สามารถแบ่งกระเจี๊ยบเขียวออกได้เป็น 7 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ HE067, SR18-0044, แม่โจ้ 70 ปี, SR18-0066 Hill country heirloom red, SR18-0072 กระเจี๊ยบเขียวฝักแดงสามเอ, SR18-0074 Chin 1, HE 010 TVRC, HE 045 TVRC, HE 051 TVRC, HE 052 TVRC, HE 085 TVRC, SR18-0062 Philippine lady finger, SR18-0064 Albama red, HE 101 บังคลาเทศ, SR18-0073 ภูเขาทอง (OP), SR18-0059 PC 5707, SR18-0060 PC 5709, SR18-0076 ฮิซาโอะ ลูกผสม F1 , SR18-0061 พิจิตร 1, และHE 047 TVRC

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ HE 025 TVRC, SR18-0046 อินทรีย์ (กระเจี๊ยบเขียวแม่โจ้ 49) และ SR18-0075 ธราธิป

กลุ่มที่ 3 ได้แก่ HE 106 TVRC และ SR18-0067 Star of David

กลุ่มที่ 4 ได้แก่ HE 111 TVRC และ SR18-0055 กระเจี๊ยบเขียวเบล

กลุ่มที่ 5 ได้แก่ SR18-0047 มณีแม่โจ้ SR18-0056 กระเจี๊ยบเขียว 9062 Dynamic และ SR18-0075 Queen star ลูกผสม F1

กลุ่มที่ 6 ได้แก่ SR18-0063 Emerald, SR18-0065 Fife creek cowhorn, SR18-0068 Stubby และ SR18-00581PC5706

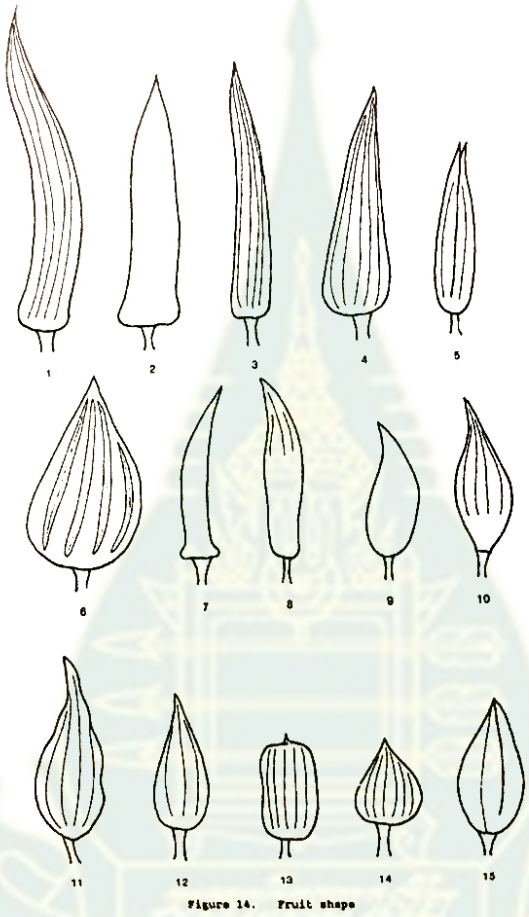
กลุ่มที่ 7 ได้แก่ SR18-0069 Japan #1 และSR18-0071 กระเจี๊ยบเขียวเจียไต๋

สกุลกานต์ สิมลา และ สรพงค์ เบญจศรี. (2558) รายงานว่า การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียว 15 สายพันธุ์ ในจังหวัดมหาสารคาม มีกระจี๊ยบเขียวสายพันธุ์ LG-304 เป็นสายพันธุ์ที่อายุการออกดอกสั้น (27 วันหลังย้ายปลูก) ต้นเตี้ย (39 เซนติเมตร) จำนวนกิ่งแขนงมาก (2-3 กิ่ง) และ

เป็นสายพันธุ์ที่มีจำนวนฝักดีและจำนวนฝักทั้งหมดมากที่สุด (174,293 และ 182,187 ฝักต่อไร่ ตามลำดับ) และน้ำหนักของฝักดีและฝักทั้งหมด เท่ากับ 1,710.3 และ 1,790.1 กิโลกรัมต่อไร่

4. ลักษณะของผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว

4.1 ผล มีลักษณะผลยาวเรียว ปลายเรียวแหลม ผลบางสายพันธุ์ไม่มีเหลี่ยม แต่บางสายพันธุ์มีเหลี่ยม ซึ่งจะมีจำนวนเหลี่ยมแตกต่างกัน ขนที่ผลก็เช่นกันบางสายพันธุ์ไม่มีขน แต่บางสายพันธุ์มีขน ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของผลกระเจี๊ยบเขียว

ที่มา : IBPGR (1984)

4.2 ลักษณะคุณภาพของกระเจี๊ยบเขียวที่ตลาดต่างประเทศต้องการ สามารถจำแนกได้ดังนี้

4.2.1 กระเจี๊ยบเขียวสดแช่เย็น ต้องมีลักษณะฝักอ่อนสด มีเส้นใยน้อย ปราศจากโรคแมลง หรือรอยตำหนิ รูปร่างฝัก 5 เหลี่ยม ตรงไม่คดงอ ฝักต้องมีสีเขียวสม่ำเสมอทั้งฝัก ความยาวฝัก 5-12 เซนติเมตร

4.2.2 กระเจี๊ยบเขียวสุกแช่แข็ง ต้องมีลักษณะฝักอ่อนสด มีเส้นใยน้อย ปราศจากโรคแมลง หรือรอยตำหนิ รูปร่างฝัก 5 เหลี่ยม ตรงไม่คดงอ ฝักต้องมีสีเขียวสม่ำเสมอทั้งฝัก ความยาวฝัก 5-9 เซนติเมตร

4.2.3 กระเจี๊ยบเขียวกระป๋อง ต้องมีลักษณะฝักอ่อนสดอายุ 2-3 วันหลังจากผสมเกสร ปราศจากโรคแมลงหรือรอยตำหนิ สีเขียว รูปร่างฝัก 8 เหลี่ยม ความยาวฝัก 2.5-5 เซนติเมตร (สุขสันต์ สุทธิผลไพบูลย์. มปป.)

5. สารสำคัญของกระเจี๊ยบเขียว

5.1 สารเมือกของกระเจี๊ยบเขียว เป็นสารที่พืชสร้างขึ้นตามธรรมชาติและบรรจุอยู่ในเซลล์พิเศษที่พืชสร้างขึ้น และไม่ละลายน้ำ แต่สามารถพองตัวได้ในน้ำ มีลักษณะเป็นคอลลอยด์ (colloid) เหนียวข้น แต่ไม่มีสมบัติเป็นกาว (non-adhesive) เป็นกากใยอาหารประเภทละลายน้ำ (soluble dietary fiber) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งเกิดจากการเชื่อมต่อกันของดี-กาแลคโตส (D-galactose) (ร้อยละ 40) แอล-แรมโนส (L-rhamnose) (ร้อยละ 27) ดี-กรดกาแลคตูโรนิก (D-galacturonic acid) (ร้อยละ 24) และโปรตีน (น้อยกว่าร้อยละ 4) เมื่อถูกย่อยสลายแล้วจะได้เฮกโซส เพนโตส และกรดยูโรนิก โดยมีการนำสารเมือกกระเจี๊ยบเขียวมาใช้เป็นสารให้ความคงตัวแก่ผลิตภัณฑ์บะหมี่และไอศกรีม (ปิยนุสร์ น้อยด้วง และ พัชรี โพธิ์ชัย, 2554)

5.2 เพคติน กระเจี๊ยบเขียวจัดเป็นพืชที่มีสารประกอบเพคตินสูง มีสมบัติเป็นสารที่ให้ความหนืด และนิยมนำมาใช้ประโยชน์ทั้งทางด้านอาหาร และทางการแพทย์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากกระเจี๊ยบเขียว ด้วยน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 60 80 และ 95 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 60 90 และ 120 นาที จากผลการวิจัยพบว่า การสกัดเพคตินที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เวลา 90 นาที มีปริมาณเพคตินที่สกัดได้ เท่ากับ 16.15 % นอกจากนี้ยังพบว่าเพคตินที่สกัดได้มีค่าเมธอกซิล และปริมาณน้ำหนักสมมูลสูงกว่า เพคตินทางการค้า ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.70 % และ 5555.56 มิลลิกรัม ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบค่าความชื้น พบว่าเพคตินที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบเขียวมีแนวโน้มของความชื้นที่ใกล้เคียงกับ เพคตินทางการค้า มีความชื้นอยู่ในช่วงระหว่างความชื้นที่ 3.50– 6.09 % ส่วนค่าสีและค่าความหนืดมีความแตกต่างกันตามสภาวะในการสกัด โดยเพคตินที่สกัดได้จัดเป็นเพคตินชนิดที่มีเมธอกซิลสูง ซึ่งสามารถเกิดเจลได้อย่างรวดเร็ว (เพ็ญวรัตน์ พันธ์ภัทรชัย อัจฉรา ไชยยา และโบว์ ถิ่นโพธิ์วงศ์, 2560)

5.3 สารพอลิแซ็กคาไรด์ในผลกระเจี๊ยบเขียว พอลิแซ็กคาไรด์จากกระเจี๊ยบเขียวมีโครงสร้างหลักเป็นแรมโนกาแลคตูโรแนน (rhamnogalacturonan) คล้ายเพคติน มีสมบัติเป็นสารให้ความหนืด และมีความหนืดสูงสุดในภาวะที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่เป็นกลาง และการใช้สารสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากผลกระเจี๊ยบเขียวในรูปแบบน้ำและผงพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการให้ความชุ่มชื้น พบว่า สามารถรักษาความชุ่มชื้นได้นาน 240 นาที โดยเจลที่มีสารสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากผลกระเจี๊ยบเขียวในรูปแบบน้ำมีประสิทธิภาพให้ความชุ่มชื้นดีที่สุด และมีความคงตัวใต้สภาวะร้อนเย็น และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองกับผิว (ปิยวรรณ จิตเจริญรุ่งเรือง และ นิสากร แซ่วัน, 2560) โดยโดยปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดในเมล็ดเท่ากับ 14.8 % และเนื้อผล 43.1 % (Fangbo Xia et al., 2015)

5.4 น้ำมันเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว น้ำมันกระเจ๊ยบเขียวของสายพันธุ์ AB, M1 และ R1 มีปริมาณน้ำมันสูงที่สุด (23.62 – 24.70 %) จากการศึกษาสายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว 8 สายพันธุ์ คือ A030411, A030412, A030418, A030422, A03497, AB, M1 และ R1 และน้ำมันกระเจี๊ยบเขียวทั้งสามสายพันธุ์ มีค่าไอโอดี

เท่ากับ 110.26, 76.98, และ 91.63 ตามลำดับ ค่าสปอนนิฟิเคชัน เท่ากับ 207.20, 199.50 และ 196.00 ตามลำดับ และค่าเปอร์ออกไซด์ เท่ากับ 0.863, 1.028 และ 0.879 ตามลำดับ ส่วนกรดไขมันที่พบคือ กรดไลโนเลอิคและกรดปาล์มิติก และองค์ประกอบอื่นๆ ใกล้เคียงกับน้ำมันพืชที่ใช้บริโภค โดยเฉพาะสายพันธุ์ M1 มีสมบัติต่างๆ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของน้ำมันและไขมันบริโภค

5.5 กลูตาไทโอน ผลกระเจี๊ยบเขียวมีกลูตาไทโอนประมาณ 12 - 14 มิลลิกรัม/ 100 กรัม (Jones et al., 2009) กลูตาไทโอน มีบทบาทสำคัญในการควบคุมสารอนุมูลอิสระในร่างกาย การสร้างสารซ่อมแซมเซลล์และทำปฏิกิริยาขจัดสารพิษที่เกิดในร่างกาย ช่วยต้านมะเร็ง ป้องกันการติดเชื้อจากไวรัส ได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันนิยมใช้สารนี้เพื่อให้ผิวขาวขึ้น เพราะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ผลิตเม็ดสี (melanogenesis) ได้ชั่วคราว โดยผ่านกลไกหลายอย่าง เช่น กระตุ้นการสังเคราะห์ pheomelanin ให้มีมากกว่า eumelanin เนื่องจาก eumelanin มีผลทำให้ผิวสีเข้ม และการเข้าไปขัดขวางการทำงานของเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการผลิต melanogenic enzyme เป็นต้น นอกจากนี้ กลูตาไทโอนยังมีคุณสมบัติเป็นสารชะลอวัย (anti-aging) อีกด้วย (Weschawalit, et al., 2017)

5.6 แอนติออกซิแดนท์ สารสกัดจากกระเจี๊ยบเขียวอุดมไปด้วยแอนติออกซิแดนท์สามารถยับยั้งสภาพเครียดจากการเกิดออกซิเดชันและต้านทานต่ออินซูลินซึ่งจะช่วยรักษาระดับน้ำตาลในเลือด (Zhao-Hua Tian et al., 2015) และช่วยยับยั้งการเกิดภาวะที่ร่างกายมีอนุมูลอิสระมากเกินกว่าที่ร่างกายจะสามารถจัดการได้ จึงเป็นการลดการเกิดความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อที่ทำผิวร่วงโรย อ่อนแอลง และมีการผลิตเม็ดสีที่มากขึ้น ซึ่งกระเจี๊ยบเขียว 25 พันธุ์ จากประเทศกานา มีปริมาณแอนติออกซิแดนท์แตกต่างกันโดยการสกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณแอนติออกซิแดนท์ของพันธุ์ Asontem-GAR น้อยที่สุด เท่ากับ 506.49 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และพันธุ์ Debo' มากที่สุด เท่ากับ 3,812.16 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนการสกัดด้วยน้ำมีปริมาณแอนติออกซิแดนท์ของพันธุ์ Mamolega น้อยที่สุด เท่ากับ 415.51 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และพันธุ์ Debo' มากที่สุด เท่ากับ 3,791.25 mg/ml (Ahiakpa J.K. et al., 2013)

5.7 ฟลาโวนอยด์ ปริมาณฟลาโวนอยด์ในเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว เท่ากับ 5.35 % (Fangbo Xia, et al., 2015)

5.8 โพลีฟีนอล ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ในเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว เท่ากับ 29.5 % และในเนื้อผล เท่ากับ 1.25 % (Fangbo Xia, et al., 2015)

6. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากกระเจี๊ยบเขียว

6.1 ความหมายของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) คือ สารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติมีหลายชนิด มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่น คลอโรฟิลล์เป็นสารที่พบในส่วนที่มีสีเขียวของพืช มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย ช่วยล้างสารพิษและขจัดของเสียในร่างกายกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดง เสริมสร้างภูมิคุมกัน สารที่มีฤทธิ์จำเพาะต่อเซลล์มะเร็ง และสารที่มีฤทธิ์จำเพาะต่อเชื้อวัณโรค เป็นต้น สารนั้นจะต้องไม่มีผลในทางลบต่อร่างกาย หรือมีผลข้างเคียงน้อย (ปัทมา พิทยขจรวุฒิ, 2551; ภาคภูมิ พระประเสริฐ , 2550)

6.2 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเจี๊ยบเขียว การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเจี๊ยบเขียวสามารถใช้ตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวสดหรือแห้ง ดังนี้

6.2.1 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเจี๊ยบเขียวสด สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล และอะซิโตน ดัดแปลงจากวิธีการของ Jung et al. (2011) โดยล้างทำความสะอาดผลกระเจี๊ยบเขียว 50 กรัม แล้วนำมาบดให้ละเอียด จากนั้นสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล และอะซิโตน 80 มิลลิลิตร และเก็บไว้ในที่มืด 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำไปกรองโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์1 นำส่วนที่กรองได้ไป เจือจางด้วยน้ำ เอทานอล และอะซิโตนให้เป็น 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายตัวอย่างในขวดสีชาไว้ที่อุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป (Jung K.J. et al., 2011)

6.2.2 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเจี๊ยบเขียวแห้ง สกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) โดยนำตัวอย่างผึ่งลมให้แห้ง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น ชั่งน้ำหนักด้วยทศนิยม 2 ตำแหน่ง จำนวน 100 กรัม ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตดและเมทานอลอย่างละ 300 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นทำการกรองสารละลายของแต่ละตัวอย่างโดยใช้กรวยแก้ว และกระดาษกรองสาร นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน (Rotary evaporator) จะได้เป็นส่วนสกัดหยาบ แล้วชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบแต่ละตัวอย่างที่ได้ และเก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์ต่อไป (จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร, 2559)

6.3 ตัวอย่างงานวิจัยที่สกัดสารออกฤทธิทางชีวภาพ

แก่นตะวันมีสารออกฤทธิทางชีวภาพ ได้แก่ สารฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบอยู่ในช่วง 2.49 ถึง 4.44 mg GAE/g ตัวอย่างสด และปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่ในช่วง 21.06 ถึง 195.30 mg QE/g ตัวอย่างสด เมื่อเปรียบเทียบการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล และอะซิโตน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยแก่นตะวันที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด ตามมาด้วยการสกัดด้วยเอทานอล และอะซิโตน ตามลำดับ (สุริยา ทุดปอ และจิตรา สิงห์ทอง, 2560)

การสกัดสารแอนโธไซยานินของข้าวหอมมะลิสีนิลด้วยตัวทำละลายเอทานอลในอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อน้ำ คือ 100:0 (v/v) มีร้อยละผลผลิตสูงกว่าใช้ตัวทำละลายเมทานอล และการสกัดโดยวิธีการแช่ยุ่ยมีร้อยละผลผลิตที่สกัดได้สูงกว่าการสกัดโดยวิธีซอกห์เลตและแบบคลื่นเสียง (วิภาดา ศิริอนุสรณ์ศักดิ์, กฤตยา เพชรผึ้ง และศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. 2562)

7. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของกระเจี๊ยบเขียว

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านความปลอดภัยของสารสกัดพืชด้วยการเลือกใช้เซลล์เพาะเลี้ยงที่เหมาะสมสอดคล้องกับการได้รับสัมผัสสารทดสอบนั้น การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์นี้ สามารถออกแบบการทดสอบอ้างอิงตามวิธีมาตรฐาน ISO 10993-5 โดยประเมินผลจากค่า cell viability ด้วยวิธี MTT assay หรือวิธีอื่นที่เหมาะสม การหาค่า Inhibitory concentration (IC50) ทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ความเข้มข้นอย่างน้อย 5 ความเข้มข้น เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ 50%

กระเจี๊ยบเขียวมีสารพอลิแซ็กคาไรด์ ถ้ารับประทานในปริมาณที่สูงอาจจะส่งผลให้เกิดความเป็นพิษคล้ายกับกลูโคส (Li-jing M., 2014) โดยกลูโคสอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานได้ (Kawahito S., H. Kitahata, and S. Oshita, 2009) ส่วนความเป็นพิษต่อเซลล์ของกระเจี๊ยบเขียวในด้านอื่นๆ ยังไม่มีรายงาน โดยปกติแล้วกระเจี๊ยบเขียวเป็นผักที่รับประทานกันโดยทั่วไป เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการและแอนติออกซิแดนท์สูง ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ทั้งนี้การนำกระเจี๊ยบเขียวมาสกัดเป็นสารสกัดที่มีความเข้มข้นสูง เพื่อนำใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่างๆ นั้น จำเป็นที่จะต้องทราบระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดที่ไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อผู้บริโภค ซึ่งการทดสอบความความเป็นพิษของสารสกัดสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ และการทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์ทดลอง ในปัจจุบันเน้นวิธีการทดสอบในการปฏิบัติตามหลักการ 3Rs ได้แก่ 1) การลดจำนวนสัตว์ (Reduction) พยายามลดจำนวนสัตว์ทดลองที่จำเป็นต้องใช้ในการทดสอบเพื่อให้ได้ข้อมูลด้านพิษวิทยาที่เพียงพอและเที่ยงตรง 2) การกลั่นกรอง (Refinement) ต้องมีการปรับปรุงเทคนิคในการปฏิบัติและวิธีการทดสอบเพื่อลดการบาดเจ็บรุนแรง ความเครียด หรือทุกข์ทรมานของสัตว์ทดลอง รวมทั้งคำนึงถึงสวัสดิภาพสัตว์ พัฒนาสภาพแวดล้อมให้สัตว์มีความเป็นอยู่ที่ดี และ 3) การทดแทน (Replacement) การทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีชีวิตมีความรู้สึก ให้ทดแทนด้วยสิ่งที่ไม่มีความรู้สึก (non-sentient materials) เช่น เซลล์เพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อสังเคราะห์ การสร้างแบบจำลองด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (computer simulation) เป็นต้น (สุวรรณา เธียรอังกูร, 2558) ทางผู้วิจัยเล็งเห็นว่ากระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชที่มีความปลอดภัยสูง เนื่องจากยังไม่มีรายงานความเป็นพิษในด้านอื่นๆ นอกจากถ้ารับประทานมากอาจมีผลต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ จึงเลือกวิธีการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงในการทดสอบ ทั้งนี้ถ้าหากพบว่ากระเจี๊ยบเขียวมีความเป็นพิษ จะทำการทดสอบเพิ่มเติมในสัตว์ทดลองต่อไป