บทที่ 2
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พืชสมุนไพร

พืชสมุนไพร หมายถึง พืชที่มีฤทธิ์ต่อระบบและส่วนต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งมีทั้งชนิดที่เป็นพิษและไม่เป็นพิษต่อร่างกาย พืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต่อระบบของร่างกาย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารสเตียรอยที่มีอยู่ในพืช (สมพร ภ.หิรัญรามเดช : 2535)

2.1.1 พืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง

2.1.1.1 ออกฤทธิ์กระตุ้นประสาท ได้แก่ เมล็ดแสลงใจ หัวกลอย หางไหลหรือโล่ติ๊น เป็นต้น

2.1.1.2 ออกฤทธิ์กดประสาท เช่น ยางฝิ่น

2.1.1.3 ออกฤทธิ์ทำให้ประสาทหลอน เช่น กัญชา ต้นลำโพง เป็นต้น

2.1.2 พืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ต่อระบบหัวใจและทางเดินโลหิตทำให้หัวใจเต้นไม่สม่ำเสมอ เช่น ยางรัก ยางต้นรำเพย เป็นต้น

2.1.3 พืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ระคายเคืองต่อผิวหนัง เช่น ยางพญาไร้ใบ ยางมะม่วงหิมพานต์ บอน อุตพิต

พืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติทางยา ส่วนใหญ่จะมีสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ แทนนิน สารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ปัจจุบันพบว่าสารเหล่านี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีการใช้ประโยชน์สืบต่อกันมาตั้งแต่บรรพบุรุษ

2.2 การปลูกและการบำรุงรักษาพืชสมุนไพร

หลักการทั่วไปของการปลูกและบำรุงรักษาพืชทั่วไปและพืชสมุนไพรมีหลักการคล้ายกัน อาจแตกต่างไปบ้างสำหรับพืชสมุนไพรบางชนิด ซึ่งเป็นส่วนที่จะต้องศึกษาค้นคว้าเฉพาะเรื่องไป สำหรับหลักการปลูกและการบำรุงรักษาพืชสมุนไพรทั่วไป พอสรุปได้ดังนี้

2.2.1 การปลูกพืชสมุนไพร จำแนกตามลักษณะของส่วนที่จะใช้ในการปลูก ได้ดังนี้

2.2.1.1 การปลูกด้วยเมล็ด ทำได้หลายวิธี

1) หว่านบางๆ และสม่ำเสมอให้ทั่วบนแปลงปลูกที่เตรียมไว้แล้ว หลังจากนั้นใช้ดินร่วนโรยทับบางๆ รดน้ำให้ชื้นตลอดแปลงทุกวัน เมื่อเมล็ดงอกเป็นต้นอ่อนโตพอประมาณก็ถอนแยกต้นที่อ่อนแอออกไปเพื่อให้ได้ระยะห่างระหว่างต้นตามต้องการ

2) การโรยเป็นแถวบนแปลงปลูกที่เตรียมไว้แล้ว โรยดินร่วนทับบางๆ รดน้ำให้ชื้นทุกวัน เมื่อเมล็ดงอกต้นโตพอประมาณก็ถอนแยกต้นที่อ่อนแอออกไปเพื่อให้ได้ระยะห่างระหว่างต้นตามที่ต้องการ

3) การหยอดเมล็ดในหลุม ซึ่งปกติจะใช้กับการปลูกพืชที่มีเมล็ดใหญ่ เช่น ฟักทอง กระเพรา ฟ้าทะลายโจร โดยหยอดเมล็ดในแต่ละหลุมให้มากกว่าจำนวนต้นที่ต้องการ เพื่อจะได้ถอนต้นที่อ่อนแอออกภายหลังให้ได้ระยะห่างระหว่างต้นตามต้องการ

2.2.1.2 การปลูกด้วยต้นกล้า เป็นการปลูกโดยนำเมล็ดเพาะให้งอกเป็นต้นกล้าแล้วย้ายใส่ภาชนะ เช่น กระถางหรืออนุบาลในถุงพลาสติก ดูแลรักษาให้ได้พอสมควรก่อนนำไปปลูกในพื้นที่ที่ต้องการปลูกต่อไป วิธีการปลูกด้วยต้นกล้านิยมใช้กับไม้ยืนต้น เช่น ชุมเห็ดบ้าน ทับทิม ขี้เหล็ก แคบ้าน เป็นต้น

2.2.1.3 การปลูกด้วยส่วนของกิ่งหรือลำต้นหรือการตอน เป็นการนำส่วนใดส่วนหนึ่งของลำต้นปลูกในพื้นที่ที่เตรียมไว้ซึ่งอาจทำโดยการตัดกิ่งปักชำ เช่น ทองพันชั่ง ขลู่ หรืออาจปลูกโดยการตอนกิ่งมาปลูก เช่น กานพลู ฝรั่ง ปลาไหลเผือก คูน เป็นต้น

2.2.1.4 การปลูกด้วยหัว ควรปลูกในที่ที่ไม่ชื้นแฉะ มีการระบายน้ำได้ดี วิธีการปลูกจะฝังหัวลงไปในดินให้ลึกพอประมาณ กลบและกดดินให้แน่นพอควร ใช้ฟางหรือหญ้าแห้งคลุมและหมั่นรดน้ำให้ชื้นพอประมาณ เช่น หอม กระเทียม กระชาย ไพล บุก เป็นต้น

2.2.1.5 การปลูกด้วยไหล นิยมเอาส่วนของไหลมาชำไว้ในแปลงเพาะชำก่อนจะย้ายไปปลูกในพื้นที่ที่เตรียมไว้ พืชสมุนไพรพวกนี้ ได้แก่ บัวบก บัว หญ้าแพรก เป็นต้น

2.2.1.6 การปลูกด้วยหน่อ ปลูกโดยการแยกหน่อจากต้นเดิมให้มีรากและใบติดมาด้วย นำใส่ลงในหลุมที่เตรียมไว้แล้วกลบดิน การกลบดินควรให้เหนือจุดงอกของรากประมาณ 1-2 นิ้ว คอยรดน้ำให้ชื้น (ไม่แฉะ) ได้แก่พวกกล้วยน้ำว้า กระวาน เป็นต้น

2.2.1.7 การปลูกด้วยเหง้า ทำโดยการฝังเหง้าลงในดินที่เตรียมไว้ โดยวางด้านที่มีตาตั้งขึ้น กลบดิน รดน้ำให้ชื้นจนงอกลำต้น ได้แก่พวก ขิง ข่า กระทือ

2.2.1.8 การปลูกด้วยจุกหรือตะเกียง คือการนำจุกหรือตะเกียงมาชำในดินที่เตรียมไว้ โดยให้ตะเกียงตั้งขึ้น กลบดินเฉพาะด้านล่าง (ใต้ตะเกียง) ได้แก่ สับปะรด

2.2.1.9 การปลูกด้วยใบ เป็นการปลูกที่คล้ายกับการปลูกด้วยกิ่งหรือลำต้น เป็นการตัดใบไปปักให้เกิดเป็นต้นใหม่ขึ้นมา เช่น ว่านลิ้นมังกร เป็นต้น

2.2.1.10 การปลูกด้วยราก เป็นการตัดส่วนของรากไปปลูกหรือปักชำไว้ให้เกิดเป็นต้นใหม่ขึ้นมา เช่น ดีปลี

2.2.2 การบำรุงรักษาพืชสมุนไพร

การบำรุงรักษาเป็นการทำให้พืชสมุนไพรที่ปลูกไว้เจริญงอกงามตามวัตถุประสงค์ โดยสามารถทำได้ดังนี้

2.2.2.1 การพรางแสง การพรางแสงจะช่วยให้พืชสมุนไพรที่ยังอ่อนแออยู่ เช่น ต้นอ่อนหรือต้นที่ย้ายมาปลูกใหม่ สามารถตั้งตัวเจริญงอกงามต่อไปได้ โดยปกติการพรางแสงจะทำไว้ชั่วระยะเวลาหนึ่งจนพืชสมุนไพรสามารถตั้งตัวและเจริญงอกงามได้ตามปกติ ก็จะเลิกการพรางแสง ยกเว้นพืชที่ต้องการแสงน้อยก็ต้องมีการพรางแสงไว้ตลอดเวลาหรือปลูกใต้ต้นไม้ที่มีร่มเงา

2.2.2.2 การให้น้ำ จะต้องพิจารณาลักษณะของพืชแต่ละชนิดประกอบด้วยว่าต้องการน้ำมากหรือน้อย แต่ตามหลักการแล้วเมื่อปลูกต้นไม้ใหม่ๆ ก็ควรจะรดน้ำให้มีความชุ่มชื้นอยู่เสมอ โดยปกติการให้น้ำจะให้อย่างน้อยวันละหนึ่งครั้งและต้องไม่แฉะจนเกินไป และมีการให้น้ำไปจนกว่าพืชสมุนไพรจะตั้งตัวเจริญงอกงามได้ สังเกตได้ว่าถ้าพืชมีลักษณะเหี่ยวเฉาก็แสดงว่ายังตั้งตัวไม่ได้

2.2.2.3 การระบายน้ำ เนื่องจากไม่ควรปล่อยให้น้ำขังท่วมโคนพืชสมุนไพรที่ปลูกหรือเกิดความชื้นแฉะ เพราะจะเป็นอันตรายต่อระบบของรากพืช วิธีการแก้ไขอาจทำโดยการยกร่องปลูกหรือพูนดินให้สูงขึ้น ก็จะช่วยแก้ปัญหาน้ำขังอันเนื่องมาจากฝนตกได้

2.2.2.4 การพรวนดิน เป็นการทำให้ดินร่วนซุยเก็บความชื้นได้ดี การระบายน้ำระบายอากาศได้ดี และยังเป็นการกำจัดวัชพืชไปด้วย จึงควรมีการพรวนดินเป็นระยะและพยายามอย่าให้กระทบกระเทือนต่อรากของพืชสมุนไพร

2.2.2.5 การใส่ปุ๋ย ควรใช้ปุ๋ยอินทรีย์รองก้นหลุมก่อนปลูกและใส่ปุ๋ยเพิ่มเติมหลังจากปลูกแล้วนานพอสมควร เช่นใส่เมื่อมีการพรวนดิน ใส่ก่อนฤดูฝน และหลังฤดูฝน วิธีการใส่ปุ๋ยอาจใช้การหว่าน ใส่ระหว่างแถว ใส่รอบๆ โคนต้นพืชหรือผสมน้ำฉีดให้ทั่ว ซึ่งวิธีนี้เป็นการให้ปุ๋ยทางใบ

2.3 วิธีการเก็บส่วนที่เป็นยาสมุนไพร

ยาสมุนไพรที่ได้จากพืชจะมีตัวยาอยู่มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง แต่ที่สำคัญคือช่วงเวลาที่เก็บพืชสมุนไพรสำหรับใช้ประโยชน์ทางยา การเก็บในช่วงเวลาที่ไม่เหมาะสมจะมีผลต่อฤทธิ์การรักษาโรคของยาจากพืชสมุนไพรได้ นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงด้วยว่าส่วนไหนของพืชที่ใช้เป็นยา เช่น ใบ ดอก เปลือก หรือผล เป็นต้น การเลือกเก็บส่วนที่ใช้เป็นยาอย่างถูกวิธี จะมีผลอย่างมากต่อคุณภาพของยาที่จะนำมารักษาโรค ซึ่งหลักทั่วไปของการเก็บส่วนที่ใช้เป็นยาแบ่งแยกได้ดังนี้

2.3.1 ประเภทรากหรือหัว ให้เก็บในช่วงที่พืชหยุดการเจริญเติบโต ใบ ดอกร่วงหมด หรือเก็บในช่วงต้นฤดูหนาวถึงปลายฤดูร้อน เพราะเหตุผลว่าในช่วงดังกล่าวรากหรือหัวมีการสะสมปริมาณของตัวยาไว้ค่อนข้างสูง วิธีการเก็บคือ การขุดเอาหัวหรือรากอย่างระมัดระวัง เช่น กระชาย กระทือ ข่า เป็นต้น

2.3.2 ประเภทใบหรือเก็บทั้งต้น ควรเก็บในช่วงที่พืชเจริญเติบโตมากที่สุด หรือในช่วงที่ดอกตูมเริ่มบาน หรืออาจเก็บในช่วงที่ดอกบาน วีการเก็บคือ เด็ดใบหรือตัดเป็นช่อ เช่น กระเพรา ฝรั่ง ฟ้าทะลายโจร เป็นต้น

2.3.3 ประเภทเปลือกต้นและเปลือกราก การเก็บเปลือกต้นโดยมากเก็บระหว่างช่วงฤดูร้อนต่อกับฤดูฝน เนื่องจากปริมาณยาในเปลือกพืชจะสูงและลอกเปลือกออกจากลำต้นได้ง่าย การลอกเปลือกไม่ควรลอกออกรอบลำต้น เพราะจะกระทบกระเทือนต่อท่อน้ำท่ออาหารของพืชอาจทำให้ตายได้ วิธีที่ดีที่สุด คือ การลอกจากส่วนกิ่งหรือแขนงย่อย ไม่ควรลอกออกจากลำต้นใหญ่ ส่วนการเก็บเปลือกราก ควรเก็บในช่วงต้นฤดูฝนจะเหมาะที่สุด เพราะการลอกเปลือกต้นและเปลือกราก จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชสมุนไพร

2.3.4 ประเภทดอก ควรเก็บในช่วงดอกเริ่มบาน หรือดอกตูม เช่น กานพลู

2.3.5 ประเภทผลและเมล็ด พืชสมุนไพรบางชนิดอาจเก็บในช่วงที่ผลยังไม่สุก เช่น ฝรั่ง เก็บผลอ่อนใช้แก้ท้องร่วง แต่พืชสมุนไพรส่วนใหญ่นิยมเก็บตอนผลแก่เต็มที่ เช่น มะแว้งต้น มะแว้งเครือ ดีปลี เมล็ดฟักทอง เมล็ดทานตะวัน เมล็ดชุมเห็ดไทย เป็นต้น

จากการถ่ายทอดประสบการณ์ของหมอไทยโบราณ ยังมีการเก็บพืชสมุนไพรตามฤดูกาล วัน โมงยามและทิศ เช่น ในควรเก็บในตอนเช้าวันอังคาร ฤดูฝนทิศตะวันออก เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่ควรคำนึงถึง ได้แก่ พื้นที่ปลูกก็มีผลต่อปริมาณตัวยาในพืชสมุนไพรด้วย ตัวอย่างเช่น ลำโพง ควรปลูกในพื้นดินที่เป็นด่างจะให้ปริมาณตัวยาสูง สะระแหน่ควรปลูกในที่ดินทรายจะให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสูง นอกจากพื้นที่ปลูกแล้ว สภาพแวดล้อมและภูมิอากาศก็มีผลต่อคุณภาพของพืชสมุนไพรด้วย

2.4 การเก็บรักษาพืชสมุนไพร

การเก็บรักษาพืชสมุนไพรไว้เป็นเวลานาน ต้องระวังเรื่องการขึ้นรา(เชื้อรา) มีหนอน การเปลี่ยนสี เปลี่ยนกลิ่น ทำให้ยาพืชสมุนไพรนั้นเสื่อมคุณภาพ การเก็บรักษาพืชสมุนไพรให้คงมีคุณภาพทางยาได้ดีตลอดไป ทำได้ดังนี้

2.4.1 การทำให้แห้ง เพื่อป้องกันเชื้อรา (การขึ้นรา) และการเปลี่ยนสีของพืชสมุนไพรอันเกิดจากภาวะออกซิเดชั่น คือการรวมตัวกับออกซิเจนในอากาศ จึงต้องหลีกเลี่ยงความชื้นและหมั่นตากแดดเป็นประจำ การทำให้พืชสมุนไพรแห้ง นอกจากวิธีตากแดดแล้ว ยังใช้วิธีอบในตู้อบลมร้อนด้วยอุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งสามารถปรับอุณหภูมิได้ตามความต้องการ นอกจากนี้การผึ่งในที่ร่มเช่น มัดรวมกันแขวนไว้ในที่ร่ม ซึ่งวิธีนี้เหมาะสำหรับพืชสมุนไพรที่มีสารระเหยง่าย เช่น ดอกไม้ที่มีกลิ่นหอม เป็นต้น วิธีการอบสมุนไพรที่ถูกต้องคือ ควรเกลี่ยสมุนไพรให้แผ่บางๆ บนภาชนะ เช่น ถาดสแตนเลส ถ้าซ้อนทับกันหนาจะทำให้เกิดความร้อน ส่งผลให้สมุนไพรมีสีดำ คุณภาพของสมุนไพรจะลดลง

2.4.2 สถานที่เก็บรักษา ต้องแห้ง เย็น และมีการถ่ายเทของอากาศได้ดี มีความมิดชิดที่หลีกเลี่ยงการรบกวนของหนู แมลงสาบ หนอน แมลงต่างๆ

2.5 การคัดเลือกสิ่งแปลกปลอมและการทำความสะอาดพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรที่เก็บมาเพื่อใช้เป็นยา ควรคัดเลือกสิ่งแปลกปลอมออกให้หมดก่อนนำไปทำความสะอาด สิ่งแปลกปลอมที่ควรคำนึงถึงและกำจัดออกไป ได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย สารพิษตกค้างจำพวกโลหะหนัก ยาฆ่าแมลงและสารอัลฟลาท๊อกซิน พืชสมุนไพรที่มักพบการปนเปื้อนของสิ่งดังกล่าวได้แก่ ชะเอมไทย ใบเหงือกปลาหมอ พริกไทย กระเทียมแห้ง ใบพิมเสน เป็นต้น

การทำความสะอาดพืชสมุนไพร ควรคำนึงถึงการสูญเสียคุณสมบัติทางยาที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรไปพร้อมๆ กับการทำความสะอาดด้วย ดังนั้น จึงต้องมีการศึกษาคุณสมบัติของพืชสมุนไพร แต่ละชนิด และศึกษาวิธีทำความสะอาดที่เหมาะสมเพื่อลดการสูญเสียสมบัติทางยาดังกล่าว

2.6 การบดแร่งพืชสมุนไพร

พืชสมุนไพรที่จะเก็บไว้ใช้ เช่น ทำเป็นแคบซูลอัดเป็นเม็ด หรือผสมน้ำผึ้งทำเป็นลูกกลอน จะต้องอบให้แห้งกรอบแล้วบดให้ละเอียด การบดสมุนไพรที่ถูกต้อง ควรบดให้ทั้งหมดโดยไม่ทิ้งส่วนที่ร่อนไม่ผ่านตะแกรงร่อน (แร่ง) เนื่องจากส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพรมีองค์ประกอบทางยาในแต่ละส่วนไม่เท่ากัน บางชนิดมีมากในใบ บางชนิดมีมากในก้านใบ บางชนิดมีมากในราก เป็นต้น การบดแร่งผสมจึงควรบดให้หมดทุกส่วนโดยไม่เหลือทิ้ง และเมื่อบดแร่งแล้วจะนำไปทำเป็นยาสมุนไพรในรูปแบบใดขึ้นอยู่กับวิธีการใช้ เช่น ทำเป็นลูกกลอน อัดเป็นเม็ด ทำเป็นแคปซูล ทำเป็นผงใช้ชงดื่ม หรือทำเป็นชาสมุนไพร เป็นต้น

2.7 การเก็บตัวอย่างพรรณไม้

การเก็บตัวอย่างพรรณไม้ นับได้ว่าเป็นหัวใจของการศึกษาด้านพฤกษศาสตร์ เพราะตัวอย่างพรรณไม้ที่ได้มาจะเป็นตัวแทนของการศึกษาพืชทั้งหมดที่ปรากฏในแต่ละบริเวณแต่ละสถานที่ พืชแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน เช่น บางชนิดเป็นไม้ต้นที่มีขนาดใหญ่ บางชนิดต้นเตี้ยติดดิน นอกจากนี้อายุของพืชแต่ละชนิดจะสั้นยาวต่างกันอีกด้วย จึงเป็นไปได้ยากที่จะนำพืชทั้งหมด มาปลูกไว้ในพื้นที่ใดพื้นที่หนึ่งให้เจริญเติบโตได้ดีเหมือนในสภาพธรรมชาติ เพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างถึงชนิดพันธุ์ นักพฤกษาศาสตร์จึงต้องหาวิธีการเก็บส่วนที่สำคัญของพืชแต่ละชนิด เช่น ใบ ดอก ผล เป็นต้น มาเป็นตัวแทนใช้ในการเปรียบเทียบความแตกต่างถึงชนิดพันธุ์ นอกจากนี้ยังได้หาวิธีการที่จะรักษาสภาพของตัวอย่างพืชให้คงทนยาวนานที่สุดเท่าที่จะทำได้ เมื่อได้ตัวอย่างพรรณไม้แต่ละชนิดแล้ว จะนำตัวอย่างมาใส่ชื่อไทย ชื่อวิทยาศาสตร์ พร้อมด้วยรายละเอียดต่างๆ และจัดเป็นหมวดหมู่ ตามหลักอนุกรมวิธานพืช เข้ารวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์พืช ซึ่งจะเปรียบเสมือนแหล่งค้นความรู้ทางด้านพฤกษศาสตร์ อันจะนำไปใช้ประโยชน์และสามารถประยุกต์ใช้ในงานวิจัยขั้นสูงต่อไป

ในการออกปฏิบัติงานภาคสนามเพื่อสำรวจและเก็บพรรณไม้ จะต้องเดินทางไปในท้องที่ซึ่งมีภูมิประเทศต่างกัน ในฤดูกาลที่ต่างกัน และมีความยากลำบากในการปฏิบัติภารกิจต่างกัน ดังนั้นผู้ที่จะเก็บพรรณไม้ในภาคสนาม จะต้องมีการวางแผนการปฏิบัติงาน หรือเตรียมรับสภาพที่ตรากตรำ ในการปฏิบัติงานให้พร้อม เพื่อการระวังรักษาตัวเองจากอุบัติเหตุ และความขัดข้องที่จะเกิดขึ้น ตลอดจนการแก้ปัญหาเฉพาะหน้า เพื่อให้งานสำเร็จลุล่วงตามเป้าหมายที่กำหนด การสอบถามจากชาวบ้าน หรือผู้รู้จะช่วยให้ได้ทราบชื่อโดยเฉพาะชื่อที่เรียกกันในท้องถิ่นหรือชื่อพื้นเมืองและประโยชน์ของพืชสมุนไพรในท้องถิ่นอันจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวิจัยขั้นสูงต่อไป

ในการเก็บพรรณไม้ในภาคสนาม บางครั้งเราไม่สามารถที่จะเก็บทุกส่วนของพืช เช่น ถ้าเป็นไม้ยืนต้นที่มีขนาดใหญ่ ดังนั้นการเก็บเพียงแต่ตัวอย่างพืชที่เป็นใบ ดอก ผล จะไม่เพียงพอ จึงจะต้องทำการบันทึกข้อมูลลักษณะที่สำคัญของพืช เช่น ความสูงของต้น ลักษณะของเปลือก เป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องถ่ายรูปบันทึกภาพลักษณะภายนอกเก็บไว้ด้วย

สิ่งที่ควรจะคำนึงถึงในการเก็บตัวอย่างพรรณไม้ คือ ไม่เป็นการทำลายให้พรรณไม้นั้นสูญพันธุ์ไปจากธรรมชาติ ควรคำนึงถึงการอนุรักษ์ธรรมชาติ เช่น ไม่โค่นต้นไม้ทั้งต้นลงมา และการเก็บพรรณไม้ควรเก็บไปพอประมาณไม่ควรเก็บมากเกินไปแล้วไม่ได้ใช้ประโยชน์

2.8 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง

2.8.1. แผงอัดไม้ซึ่งทำด้วยไม้เนื้อแข็ง หรือไม้ไผ่ สานกันเป็นตาข่ายใช้ตะปูตอกให้แน่น ขนาดกว้างประมาณ 13 นิ้ว ยาว 19 นิ้ว ประกบกันเป็นคู่ พร้อมเชือกรัด

2.8.2. กระดาษฟาง พับ 2 ขนาดเท่ากับแผงอัดพรรณไม้หรืออาจจะใช้กระดาษหนังสือพิมพ์พับ 2 ก็ได้

2.8.3. กระดาษลูกฟูก ขนาดเท่ากับแผงอัดพรรณไม้ เพื่อใช้คั่นระหว่างพรรณไม้แต่ละชนิด และยังช่วยระบายอากาศอีกด้วย

2.8.4. กรรไกรตัดแต่งกิ่งไม้ และเสียมมือ สำหรับขุดหัวหรือราก

2.8.5. ถุงพลาสติกขนาดใหญ่ พร้อมยางรัดถุง

2.8.6. ป้ายกระดาษแข็งขนาดกว้าง 1 นิ้ว ยาว 2 นิ้ว ที่มุมเจาะรูใส่เชือกใช้มัดติดกับพรรณไม้เพื่อใส่หมายเลข

2.8.7. สมุดบันทึกพร้อมดินสอดำ

2.8.8. สมุดบันทึกรายละเอียดพรรณไม้แต่ละชนิด

2.8.9. เครื่องวัดระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล (GPS)

2.8.10. เทปวัดระยะ

2.8.11. แว่นขยายและกล้องส่องทางไกล

2.8.12. กล้องถ่ายรูป

2.9 อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจเอกลักษณ์พืชพรรณไม้

2.9.1. กล้องจุลทรรศน์

2.9.2. มีดโกน

2.9.3. เข็มเขี่ย

2.9.4. ตัวอย่างพืชโดยเฉพาะส่วนของดอก ผล เมล็ด ใบ

2.9.5. ข้อมูลลักษณะทั่วไปของพืชที่บันทึกขณะออกสำรวจ

2.9.6. หนังสือรูปวิธานต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจเอกลักษณ์พืช

2.10 วิธีการเก็บตัวอย่างในภาคสนาม

ในการเก็บตัวอย่างพรรณไม้เพื่อให้ตัวอย่างมีความสมบูรณ์จะต้องมีวิธีการดังต่อไปนี้

2.10.1 ขนาดตัวอย่างที่เก็บจะต้องมีขนาดพอเหมาะกับกระดาษขาวที่เย็บตัวอย่างติดลงไปที่มีขนาดกว้าง 12 นิ้ว ยาว 18 นิ้ว ดังนั้น เมื่อได้ตัวอย่างมาควรใช้กรรไกรตัดแต่งกิ่งให้สวยงาม

2.10.2 ถ้าต้นไม้ขนาดเล็กให้อัดลงในแผงทั้งต้น

2.10.3 ควรเลือกกิ่งที่มีใบ ดอก ผล ที่สมบูรณ์เป็นตัวแทน อัดลงในแผง เพื่อจะได้ดูลักษณะสำคัญในการจำแนกชนิดได้ง่ายและ ต้องไม่เลือกใบที่เป็นโรค หรือแมลงกัดกิน

2.10.4 พรรณไม้บางชนิดมีใบที่มีรูปร่างหลายแบบ จึงควรเลือกเก็บให้หมด ส่วนพืชที่มีขนาดใหญ่ เมื่อเก็บกิ่งที่มีใบ ดอก ผลแล้ว ควรที่จะถ่ายรูป และทำการบันทึกความสูงของต้น และสภาพป่าเก็บไว้เป็นข้อมูลด้วย

2.10.5 พยายามทำความสะอาดตัวอย่างก่อนอัดลงแผง โดยเฉพาะเมื่อขุดมาทั้งต้น ต้องนำมาเคาะเบาๆ หรือล้างน้ำ ระวังไม่ให้ชิ้นส่วนของพืชหลุดล่วงไป

2.10.6 ถ้าไม่สามารถทำการอัดลงแผงได้ทัน ควรเก็บใส่ถุงพลาสติก ใช้ป้ายกระดาษแข็งผูกติดกับตัวอย่าง เขียนสถานที่เก็บ ความสูงจากระดับน้ำทะเลที่อ่านได้จากเครื่อง GPS สภาพป่า ความสูงของต้นอย่างคร่าวๆ ป้องกันการสับสน แต่ไม่ควรนำพรรณไม้ใส่ถุงอัดกันแน่นจนเกินไป เพราะจะทำให้ตัวอย่างพืชช้ำและเหี่ยวง่าย และเมื่อถึงที่พักต้องทำการอัดลงแผงทันที

2.10.7 ตัวอย่างพรรณไม้ที่เก็บในแต่ละท้องที่ ควรจะผูกป้ายกระดาษแข็ง ซึ่งเขียนหมายเลขพรรณไม้ให้ตรงกับหมายเลขที่บันทึกในสมุดบันทึกรายละเอียดพรรณไม้ และควรเขียนด้วยดินสอดำ

2.10.8 ทุกครั้งที่ทำการเก็บพรรณไม้ต้องทำการบันทึกข้อมูลที่สังเกตได้ลงในสมุดทุกครั้ง โดยเฉพาะลักษณะที่เปลี่ยนแปลงได้ง่าย เช่น สี ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นส่วนประกอบให้พรรณไม้แห้งสมบูรณ์ยิ่งขึ้น เมื่อมีผู้อื่นมาใช้ศึกษาต่อ

2.11 การบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูลจะทำระหว่างการเดินทางเก็บพรรณไม้ โดยทำการบันทึกอย่างสั้นๆ เข้าใจง่าย แต่ถ้าบันทึกไม่ทัน สามารถนำมาบันทึกข้อมูลในที่พักได้ แต่จะต้องระวังการสับสน รายละเอียดต่างๆ ที่จะบันทึกมีดังนี้

2.11.1 วันที่เก็บพรรณไม้ เพื่อที่จะเป็นหลักฐานอ้างอิงถึงช่วงระยะเวลาที่พันธุ์ไม้แต่ละชนิดออกดอก ออกผล

2.11.2 สถานที่เก็บ บอกถึง ตำบล อำเภอ จังหวัดที่เก็บ เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงถึงการกระจายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด

2.11.3 ชื่อพื้นเมือง ที่จะได้จากชาวบ้านที่นำทาง หรือชาวบ้านในท้องถิ่นนั้นๆ ซึ่งพืชแต่ละชนิดจะมีชื่อท้องถิ่นที่แตกต่างกันออกไป แต่ชื่อที่จะเป็นกลางทางวิทยาศาสตร์จะมีเพียงชื่อเดียว

2.11.4 ลักษณะของถิ่นอาศัย โดยพิจารณาว่าพืชชนิดนั้น อยู่ในสภาพป่าอย่างไร เช่น ป่าดงดิบ ป่าผลัดใบ เป็นต้น หรืออาจอยู่ในที่โล่งกลางแจ้ง ในร่ม ริมน้ำ นอกจากนี้ควรบันทึกลักษณะของดินว่าเป็นดินชนิดใด มีลักษณะอย่างไร

2.11.5 ประโยชน์ของพืชแต่ละชนิดที่ชาวบ้านใช้ในชีวิตประจำวัน เช่น ใช้เป็นอาหาร ยา ใช้ปลูกสร้างอาคาร เป็นต้น

2.11.6 ลักษณะโครงร่าง สี กลิ่น รส และโครงสร้างของใบ ดอก ผล การมียาง ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของพืช ที่อาจจะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเป็นตัวอย่างแห้ง

2.12 การเก็บรักษาพืชพรรณไม้

การเก็บรักษาพืชพรรณไม้ มี 2 วิธี คือ

2.12.1 การเก็บแห้ง โดยการอัดพันธุ์ไม้แล้วรีบนำเข้าอบหรือผึ่งให้แห้ง กลางแดด จากนั้นนำไปอาบน้ำยากันเชื้อรา ก่อนที่จะนำไปรวบรวมไว้ในตู้พรรณไม้ต่อไป

2.12.1.1 วิธีการอัดพรรณไม้จะมีความแตกต่างกันไปตามลักษณะพืช ดังนี้

1.) พืชที่มีลักษณะบางแบน เช่น หญ้า กก สามารถทำการพับเป็นรูปตัว V W หรือ N เพื่อใช้พอดีกับแผงอัดพรรณไม้

2.) ใบที่มีขนาดใหญ่สามารถตัดออกได้ครึ่งหนึ่งตามยาว ถ้าแผ่นใบทั้ง 2 ด้าน มีรูปร่างและขนาดเท่ากัน

3.) ผลที่มีขนาดใหญ่ ฝานเป็นแว่น ทั้งตามยาวและตามขวาง และใช้กระดาษไขรอง ป้องกันการติดกระดาษ

4.) พืชอวบน้ำหรือชุ่มน้ำ จะต้องการเปลี่ยนกระดาษบ่อยครั้ง เพื่อป้องกันเชื้อหา

5.) พืชที่หนามแข็ง ควรใช้ฟองน้ำ หรือกระดาษลูกฟูก อัดทับบริเวณหนามก่อน 1 ชั้น แล้วค่อยใช้กระดาษตามปกติ

6.) พรรณไม้บางชนิดจะร่วงง่าย ให้จุ่มในน้ำเดือด หรือในแอลกอฮอล์ 70 – 95 % เพื่อฆ่าเชื้อ จะทำให้ไม่ร่วงง่าย

7.) พรรณไม้ที่มีขนาดเล็ก หลุดล่วงง่าย ควรนำไปใส่ซอง อัดรวมกันในแผง และเมื่อเวลาจะเย็บติดกับกระดาษให้รวมเข้าไว้ด้วยกัน ระวังการสับสน

8.) เมื่ออัดตัวอย่างในกระดาษแล้ว ใช้กระดาษลูกฟูกรองพรรณไม้แต่ละชิ้น หรือทีละ 2 – 3 ชิ้น นำไปใส่แผงอัดพรรณไม้ใช้เชือกรัดให้แน่น รอทำให้แห้งต่อไป

2.12.1.2 การอบพรรณไม้ จะมีวิธีง่ายๆ คือ การนำไปตากแดด และควรนำไปตากแดดทันที ถ้าเก็บไว้นานจะทำให้เป็นราได้ง่าย ระหว่างทำการตากแดดจะต้องทำการเปลี่ยนกระดาษบ่อยๆ ครั้ง ถ้าตัวอย่างชื้นมาก

บางครั้งการตากแดดจะไม่สามารถทำได้ เนื่องจากสภาพภูมิอากาศไม่อำนวย เราสามารถดัดแปลงตู้อบความร้อนแบบง่ายๆ โดยใช้ความร้อนจากหลอดไฟ

เมื่อตัวอย่างแห้งสนิทแล้ว จะนำออกมาชุบน้ำยาป้องกันราและแมลงต่อไป

2.12.1.3 การชุบน้ำยา

น้ำยาที่ใช้มีส่วนผสมดังนี้

เมอร์คูริค คลอไรด์	50	กรัม (สารพิษร้ายแรงควรระวัง)
แอลกอฮอล์	2	ลิตร
ฟีนอล	40	มิลลิลิตร

วิธีการอาบน้ำยา เมื่อผสมอัตราส่วนดีแล้ว ใส่ลงในถาดพลาสติก ใช้คีมคีบพรรณไม้ลงในถาดแช่ไว้ประมาณ 1 นาที นำออกมาผึ่งให้แห้ง รอเข้าตู้อบอีกครั้ง

ในขณะที่ชุบน้ำยา ต้องระวังไม่ให้ถูกอวัยวะส่วนใดของร่างกาย ควรใส่ถุงมือและหน้ากากป้องกัน เนื่องจากส่วนผสมของน้ำยาที่ใช้มีความเป็นพิษร้ายแรงต่อร่างกาย

เมื่อออกจากตู้อบแล้ว นำไปเย็บติดกับกระดาษแข็งสีขาว ขนาดกว้าง 12 นิ้ว ยาว 16 นิ้ว นำมาติดป้าย บันทึกข้อมูลที่ได้จากสมุดบันทึก และเขียนรายละเอียดเพิ่มไปให้ครบ คือ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อผู้เก็บ ลำดับที่เก็บ และชื่อผู้ตรวจสอบ

2.12.2 การเก็บโดยวิธีการดอง มักใช้กับพืชที่บอบบาง เช่น ดอกขิง เป็นต้น

2.12.2.1 สูตรน้ำยาดอง

สูตรที่ 1 5 % สารละลายฟอร์มัลดีไฮด์

สูตรที่ 2 สารละลายที่มีส่วนผสมของ

น้ำ	2,000 มิลลิลิตร
40 % ฟอร์มัลดีไฮด์	50 มิลลิลิตร
95 % เอธิลแอลกอฮอล์	300 มิลลิลิตร

2.12.2.2 วิธีการดอง

การดอง จะต้องเลือกตัวอย่างที่สมบูรณ์ ไม่ถูกแมลงกัดกิน นำมาทำความสะอาดบรรจุลงในภาชนะที่มีขนาดพอเหมาะ ใส่น้ำยาดองลงไป ให้ท่วมตัวอย่างประมาณ 3 ซม. ปิดฝาภาชนะให้แน่น ติดป้ายบันทึกข้อมูลแบบเดียวกับพรรณไม้แห้ง

2.13 การจัดหมวดหมู่พืชสมุนไพร

การจัดหมวดหมู่ หมายถึง การจัดสิ่งที่เหมือนกัน หรือคล้ายคลึงกันรวมไว้เป็นหมวดหมู่เดียวกัน การจัดหมวดหมู่พืช ก็หมายถึง การจัดจำแนกพืชที่เหมือนกัน หรือคล้ายคลึงกันรวมไว้เป็นหมวดหมู่เดียวกัน พันธุ์พืชในโลกมีมากมายหลายชนิดแต่ละชนิดย่อมมีลักษณะเด่นซึ่งไม่พบในพืชอื่น นักพฤกษศาสตร์เรียกพันธุ์พืชแต่ละชนิดว่า ชนิด (Species) และจัดพันธุ์พืชหลายๆ Species ที่มีลักษณะร่วมกันรวมกันไว้เป็นหมู่เดียวกัน เรียกว่า Genus ในทำนองเดียวกันหลายๆ Genus ที่มีลักษณะร่วมกันจัดไว้ในวงศ์ (Family) เดียวกัน และหลายๆ Family ที่มีลักษณะร่วมกัน จัดอยู่ใน Order เดียวกัน และเรียงลำดับต่อๆ กัน ไปเป็น Class, Division, Kingdom (สมพร ภูติยานันท์ : 2542) พืชที่มีสมบัติเป็นยา เรียกว่า สมุนไพร พืชสมุนไพรหลายชนิดมีสารต้านฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ (Free redical) สามารถป้องกันการเสื่อมสภาพของร่างกาย การแก่ชรา การเกิดโรคมะเร็ง สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกแดนท์ ที่พบในพืชสมุนไพร ได้แก่ วิตามินซี, วิตามินอี, เบต้าแคโรทีน, ไบโอฟลาโวนอยด์ และแร่ธาตุบางชนิด เช่น สังกะสี เซเลเนียม (ไมตรี สุทธจิตต์ : 2546) พืชสมุนไพรชนิดเดียวกัน อาจมีสรรพคุณได้หลายอย่าง เช่น แก้โรคผิวหนัง แก้ไตพิการ แก้แผลอักเสบ เป็นต้น สรรพคุณดังกล่าวเกิดจากสาระสำคัญที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรเหล่านั้น ซึ่งสารที่ให้อนุมูลอิสระมักเป็นสารพิษที่ทำปฏิกิริยาเคมี และทำลายสารชีวภาพ เช่น โปรตีน ไลโพโปรตีน กรดนิวคลีอิก ทำให้เซลล์ถูกทำลาย ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) หลายชนิดในพืชสมุนไพรที่มีความสามารถในการป้องกันความเสียหายดังกล่าว ดังนั้น จึงเป็นที่น่าสนใจว่า พืชสมุนไพรชนิดใดบ้าง ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ จึงมีการศึกษาตรวจวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ Trolox (Trolox equivalent antioxidative capacity : TEAC) โดยวิธีวัดสีในหลอดทดลองด้วยเทคนิค Colorimetry จากการตรวจสอบพืชสมุนไพรกว่า 155 ชนิด พบว่าพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (TEAC > 0.5) ได้แก่ สีเสียดเทศ ใบพลู เปลือกต้นสะเดา เป็นต้น (ไมตรี สุทธจิตต์ และ คนอื่น : 2542)

2.14 อนุมูลอิสระ (Free radicals)

คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดียว หรืออิเล็กตรอนขาดหายไปหนึ่งตัว และเพื่อให้ประจุไฟฟ้าเกิดความสมดุล อนุมูลอิสระจะดึงอิเล็กตรอนจากสารประกอบอื่นในร่างกาย ซึ่งตามปกติเป็นส่วนสำคัญของเซลล์เนื้อเยื่อ หรือเลือด เมื่ออะตอมหรือโมเลกุลสูญเสียอิเล็กตรอนไปจะกลายเป็นอนุมูลอิสระเสียเอง ทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่เช่นนี้ไม่รู้จบ

อนุมูลอิสระมีอยู่ในร่างกายของเราได้อย่างไร เป็นที่ทราบกันดีว่า สิ่งมีชีวิตจะดำรงอยู่ได้ต้องได้รับพลังงาน ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโดยกลไกภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต เรียกกระบวนการนี้ว่า เมตะบอลิซึม (Metabolism) เมตะบอลิซึมที่เกิดในเซลล์ จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการเผาผลาญอาหารเพื่อให้เกิดพลังงาน เรียกกระบวนการนี้ว่า ออกซิเดชัน การส่งผ่านอิเล็กตรอนของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ก่อให้เกิดพลังงานและอนุมูลอิสระ บริเวณที่เกิดออกซิเดชันแรกสุด คือ ชั้นไมโตคอนเดรีย จะมีการขนส่งอิเล็กตรอนไปยังตัวรับ เช่น ระบบไซโตโครม ซึ่งมีเหล็กเป็นองค์ประกอบ โดยอยู่ในรูป Fe^{3+} เมื่อรับอิเล็กตรอนจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป Fe^{2+} จากนั้นจึงส่งต่ออิเล็กตรอนให้ออกซิเจนซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ออกซิเจนสามารถรับอิเล็กตรอนได้ 2 ตัว คือ 2อิเล็กตรอน ซึ่งการที่ออกซิเจนจะรับอิเล็กตรอนทีละ 2 ตัวนั้น เกิดได้ยากมาก ส่วนใหญ่จะรับได้เพียง 1 ตัวเท่านั้น จึงทำให้เกิดอนุพันธ์ออกซิเจน ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{-\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซิล($OH^{\bullet}$)และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และอนุมูลไฮดรอกซิล เป็นอนุมูลที่เข้าทำปฏิกิริยาได้อย่างว่องไว บรูซ เอเมซ นักวิทยาศาสตร์ด้านการวิจัยแห่งมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย ประมาณการว่าเซลล์แต่ละเซลล์ในร่างกายมนุษย์จะถูกอนุมูลอิสระโจมตีประมาณ 10,000 ครั้งต่อวัน อนุมูลอิสระเมื่อเข้าทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะทำให้เซลล์เกิดความเครียด หรือเกิดความกดดันอันเนื่องมาจากการถูกเติมออกซิเจนจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยมีโมเลกุลเป้าหมายคือ ดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ลิปิด เยื่อบุผนังเซลล์และโครงสร้างของเซลล์ ตลอดจนเปลี่ยนแปลงวิธีที่เซลล์กำหนดรหัสทางพันธุกรรม มีหลักฐานมากมายแสดงให้เห็นว่าอนุมูลออกซิเจน และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นไปออกซิไดส์โมเลกุลของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณผนังเซลล์ และเนื้อเยื่อก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่างๆ ได้แก่ อาการบวม โรคมะเร็ง ความแก่ และโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด โรคหัวใจ อัมพาต ข้อเสื่อม ต้อกระจกเป็นต้น จะเห็นได้ว่าอนุมูลอิสระที่มากเกินไปก่อให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์ อันเป็นสาเหตุให้เกิดความชราหรือแก่ก่อนวัย ผิวหนังเหี่ยวย่น และเกิดโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ ได้ง่ายขึ้น

การเปลี่ยนแปลงสภาพอิออนของโลหะ สามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้เช่นกัน เพราะการเปลี่ยนแปลงสภาพอิออนเหล่านี้ ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนอันเป็นต้นเหตุให้เกิดปฏิกิริยาการสังเคราะห์อนุมูลอิสระที่เป็นพิษตามมา ตัวอย่างเช่น ซูเปอร์ออกไซด์แอนอิออน

($O_2^{-\bullet}$) ถ้าอยู่ในน้ำจะไม่เกิดปฏิกิริยา แต่ถ้ามีไอออนของโลหะเช่น ธาตุเหล็ก (Fe) และ H_2O_2 อยู่ด้วย จะเกิดปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว ให้ผลผลิตคือ อนุมูลไฮดรอกซิล ได้ดังสมการ

$$Fe^{3+} + (O_2^{-\bullet}) \longrightarrow Fe^{2+} + O_2$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + Fe^{3+}$$

แม้ผลของปฏิกิริยาจะทำให้การเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเห็นได้ไม่ชัดเจน แต่จากการวัดปริมาณอิออนของเหล็กในเซลล์พบว่ามีปริมาณลดต่ำลง เป็นการแสดงให้เห็นถึงความเสียหายต่อระบบชีววิทยาของเซลล์ จากการทดลองของ O' Brien (1985) พบว่าอิออนของ Fe^{2+} จะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่า Fe^{3+} และ Fe^{3+} เร่งปฏิกิริยาได้ดีกว่า Cu^{2+} การควบคุมปฏิกิริยาที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย สามารถใช้สารต้านอนุมูลอิสระ (แอนติออกซิแดนท์ ; antioxidants) ไปกำจัดสารออกซิแดนท์ และอนุมูลอิสระโดยการยับยั้ง หรือทำให้การทำปฏิกิริยาออกซิเดชันของชีวโมเลกุลเกิดช้าลง จึงเป็นการป้องกันไม่ให้ชีวโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์ถูกทำลายไป

อย่างไรก็ตามร่างกายก็ยังจำเป็นต้องต้องใช้อนุมูลอิสระเพื่อเป็นตัวนำสารเคมีที่จำเป็นในการผลิตฮอร์โมน และกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ดังนั้นอนุมูลอิสระในปริมาณน้อยและพอเหมาะก็เป็นประโยชน์ต่อร่างกายเหมือนกัน

2.15 อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้อย่างไร

อนุมูลอิสระเกิดได้จากสองสาเหตุ คือ

2.15.1 สาเหตุจากภายนอกร่างกาย เช่น รังสีเอ็กซ์ รังสีอัลตร้าไวโอเลต ควันพิษต่างๆ ควันบุหรี่ โลหะบางชนิด เช่น แคดเมียม ตะกั่ว ปรอท และยาฆ่าแมลง เป็นต้น สิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้ทั้งสิ้น

2.15.2 สาเหตุจากภายในร่างกาย สาเหตุหลัก คือ การเผาผลาญอาหารในร่างกาย ซึ่งต้องใช้ออกวิเจนเข้าไปช่วยในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น แต่ร่างกายก็ผลิตสารขึ้นมาทำลายอนุมูลอิสระได้ด้วย ตัวอย่างเช่น ร่างกายผลิตอนุมูลอิสระชื่อ ซุปเปอร์ออกไซด์ขึ้นมา ร่างกายก็จะผลิตสารทำลายชื่อ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสขึ้นมาด้วย ถ้าร่างกายผลิตอนุมูลอิสระชื่อ กลูตาไธโอนเปอร์ออกไซด์ขึ้นมา ร่างกายก็จะผลิตชื่อกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสขึ้นมาทำลาย แต่ร่างกายคนเราเมื่อมีอายุมากขึ้น การผลิตสารทำลายอนุมูลอิสระก็น้อยลงเรื่อยๆ ดังนั้นยิ่งอายุมากอนุมูลอิสระก็ยิ่งโจมตีคนเรามากขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลให้ร่างกายเหี่ยวย่น และมีความเสี่ยงสูงต่อโรคต่างๆ

2.16 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

คือ สารที่สามารถทำให้อนุมูลอิสระหมดฤทธิ์โดยการให้อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปหรือทำให้อนุมูลอิสระเป็นกลางนั่นเอง สารต้านอนุมูลอิสระบางตัวร่างกายสร้างขึ้นมาได้ แต่ส่วนมากเราได้จากแหล่งอาหารจากธรรมชาติ โดยเฉพาะในพวกพืชผักและผลไม้สด ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี บีตาแคโรทีน และแร่ธาตุต่างๆ เช่น ซิลิเนียม (Se) แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zu) และสารไบโอฟลาโวนอยด์ เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่ป้องกันมิให้ชีวโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์ถูกออกซิไดส์ โดยตัวมันเองจะถูกออกซิไดส์ก่อน

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์มีโครงสร้างได้หลายแบบ และยับยั้งการเกิดออกซิเดชันด้วยกลไกที่แตกต่างกัน สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ชนิด proper antioxidants คือ สารที่มีสมบัติเป็นตัวยับยั้งที่มีการรับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นหลังจากสารอินทรีย์เสียไฮโดรเจนไปแล้วเพื่อให้เกิดเป็นสารใหม่ที่เสถียร ตัวอย่างเช่น BHT (2 – tert – butyl – 4 - methoxyphenol ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของฟีนอล

สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่พบมากที่สุดในธรรมชาติได้แก่ กลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) พบได้ในแทบทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นราก ลำต้น ใบ ดอกและผล เป็นสารที่ให้สีในพืช เป็นสารอินทรีย์ประเภทโพลีฟีนอล พบมากในส่วนที่เป็นเส้นสีขาวใต้เปลือกส้ม พริกไทย ถั่วลิสง ฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีสมบัติยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดีมากในอาหารประเภทไขมัน

2.17 สมบัติและประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (นวลศรี รักอริยะธรรมและอัญชนา เจนวิถีสุข 2545 : 5)

2.17.1 สารต้านอนุมูลอิสระช่วยไม่ให้พวกอนุมูลอิสระก่อตัวขึ้น โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะนำออกวิเจนซึ่งเป็นตัวที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไปอยู่ในที่ที่ควรจะอยู่ นอกจากนี้ สารต้านอนุมูลอิสระยังยับยั้งพวกโลหะ เช่น เหล็ก ซึ่งเป็นตัวเริ่มต้นในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้อนุมูลอิสระไม่มีโอกาสเกิดมาทำความเดือดร้อนให้ร่างกายได้

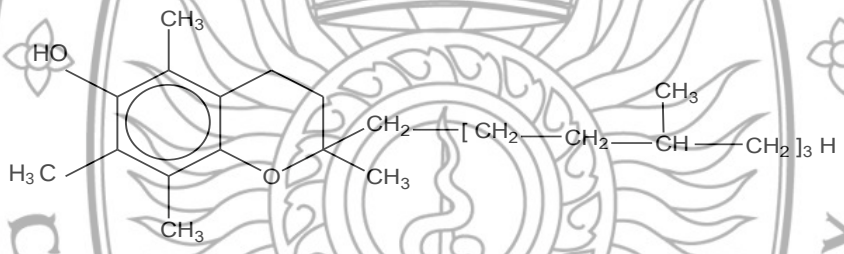
2.17.2 สารต้านอนุมูลอิสระจะหยุดยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระโดยทำให้อนุมูลอิสระคงตัวและเป็นการหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระ

2.17.3 สารต้านอนุมูลอิสระช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย

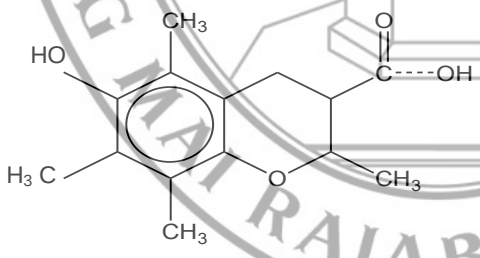
2.17.4 สารต้านอนุมูลอิสระช่วยกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลายเพราะสิ่งเหล่านี้อาจเป็นพิษต่อร่างกาย

สารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากในอาหารมี 4 กลุ่มใหญ่ คือ วิตามินอี (Tocopherol) วิตามินซี (Ascorbic acid) แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) เช่น ฟลาโวนซ์ (Flavones) ฟลาโวนอลส์ (Flavonols) เป็นต้น

Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) เป็น water – soluble ของวิตามิน E โดยจะอยู่ในรูปอัลฟ่าโทโคฟีรอล (α - tocopherol) โดยเป็นตัวที่มีฤทธิ์ของวิตามินอีมากที่สุด โดยทำหน้าที่ทางชีวเคมีในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะทำหน้าที่ในการออกวิไดส์อนุมูลอิสระโดยจะเกิดการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนจาก Trolox อย่างรวดเร็ว โดยใช้ hydrogen – transfer processes แล้วจะได้ trolox phenoxyl radical ซึ่งมีความเสถียรสูง วิตามินซีและ thiol จะช่วยให้ Trolox กลับสู่สภาพเดิม และทำหน้าที่ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่อไป แหล่งของวิตามินอี ได้แก่ น้ำมันจากเมล็ดพืชต่างๆ เช่น ดอกคำฝอย ถั่วเหลือง พบในถั่วต่างๆ เยน ปลา และเนื้อสัตว์ (โดยเฉพาะในตับ) ผักที่มีสีเขียวปนเหลือง วิตามินอีไม่ทนต่อแสงและออกซิเจน



Vitamin E



Trolox

ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของวิตามินอี (α - tocopherol) (5,7,8 – Trimethy tocol) และ Trolox

ที่มา : Davies M.J., Forni L.G. and Willson R.L., 1988 : 513

2.18 การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (กฤติกา อิ่มมาก และคณะ : 2540)

ปัจจุบันทำได้หลายวิธี ได้แก่

2.18.1 Thiobarbituric acid assay (TBA)

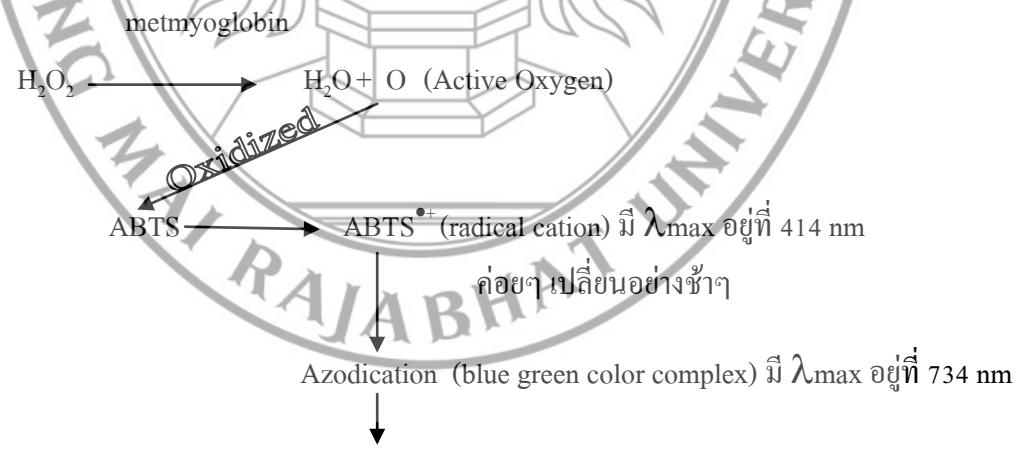
หลักการ เป็นการทำให้ Long chain fatty acid ใน red blood cell ถูก oxidised ได้เป็น Malondialdehyde (MDA) ด้วย tertiary butyl hydroperoxidase และ hemin ที่อุณหภูมิ 37 ˚C เป็นเวลา 120 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย trichloroacetic acid จากนั้นให้ทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid (TBA) ที่ 100 ˚C เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารเชิงซ้อนสีชมพูของ MDA-TBA นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 mm เพื่อหาปริมาณของสารเชิงซ้อน MDA-TBA ถ้ามีปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระมากจะเกิดสารเชิงซ้อน MDA-TBA น้อยลง

2.18.2 Thiocyanate method

หลักการ ทำการ incubate สารตัวอย่างที่คาดว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มี Linoleic acid ร่วมอยู่ด้วยที่อุณหภูมิ 40 ˚C ในที่มืด จากนั้นทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ด้วย ammonium thiocyanate (NH_4SCN) และ ferrous chloride นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm

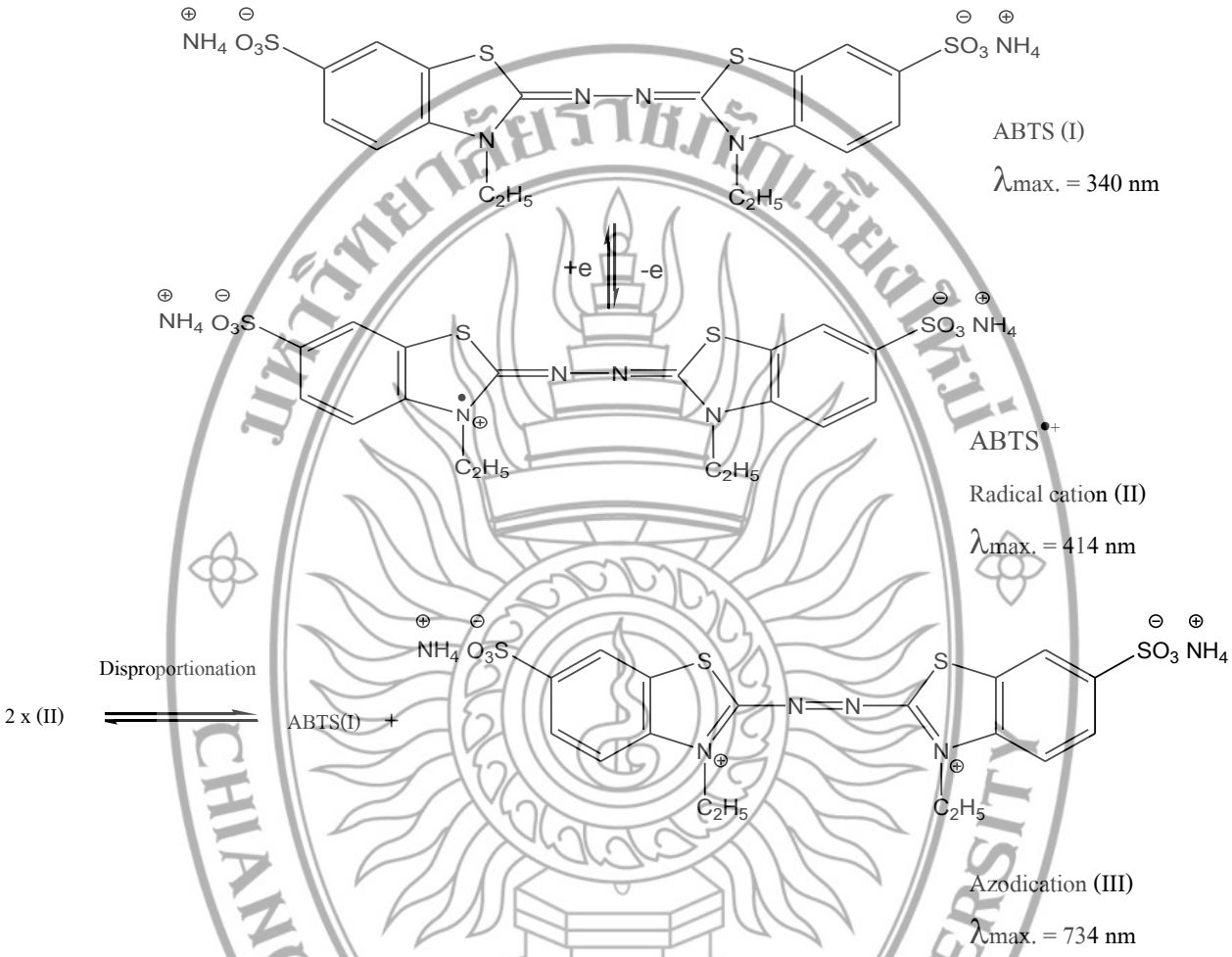
2.18.3 ABST method

หลักการ ใช้ metmyoglobin เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน H_2O_2 ได้เป็น H_2O และ active oxygen ($\hat{O}$) และ($\hat{O}$) ที่เกิดขึ้นจะไป oxidized สาร ABTS [2,2' – azino – bis (3 – ethylbenzothiazoline – 6 – sufonic acid) diammonium salt] ให้เป็น $ABTS^{\bullet+}$ (radical cation) ซึ่งมี λmax อยู่ที่ 414 nm และจะค่อยๆ เปลี่ยนไปเป็น ABTS และ Azodication อย่างช้าๆ ดังสมการ



ภาพที่ 2.2 ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยเทคนิค ABST method

ถ้ามีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่จะไปทำให้การเกิดปฏิกิริยา oxidation ช้าลง การเกิดสีก็จะช้าตามปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีกลไกการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้



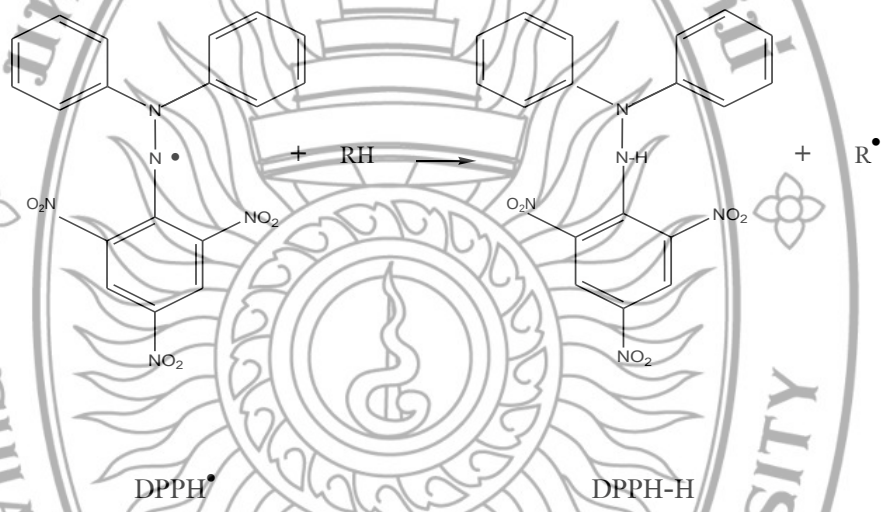
ภาพที่ 2.3 แสดงปฏิบัติการต้านอนุมูลอิสระของสาร ABTS

2.18.4 Deoxyribose assay method

หลักการ เป็นการทำให้เกิดไฮดรอกซิลแรดิคอล (Hydroxyl radical, $OH^{\bullet}$) โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่าง Fe^{3+} ที่รวมตัวกับ EDTA โดยมี Ascobic acid เป็นตัวรีดิวซ์ Fe^{3+} ให้อยู่ในรูปของ Fe^{2+} โดยที่ Fe^{2+} จะทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 เกิดเป็น $OH^{\bullet}$ และ $OH^{\bullet}$ ที่ได้จะทำปฏิกิริยากับ Deoxyribose เกิดเป็น Molondialdehyde (MDA) เมื่อนำไปต้มในสภาวะที่เป็นกรดจะเกิด chromogen ที่มีสีชมพู วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm

2.18.5 The DPPH method

หลักการ DPPH เมื่อละลายด้วยเอทานอล 99.9% โดยปริมาตรจะได้สารละลายสีม่วงเข้มของ DPPH$^{\bullet}$ (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 nm เมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น Trolox (ใช้ตัวย่อ RH) ซึ่งให้ไฮโดรเจน แก่ DPPH$^{\bullet}$ แล้วสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน ของ DPPH-H ซึ่งปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน เกิดได้ดีในที่มืด ที่อุณหภูมิประมาณ 37 $^{\circ}$C ตั้งทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 นาที ผลลัพธ์คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm จะลดต่ำลง หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระได้โดยเทียบกับ Trolox ซึ่งใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน แสดงการเกิดปฏิกิริยาได้ ดังนี้



ภาพที่ 2.4 แสดงปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของสารละลาย DPPH$^{\bullet}$

2.18.6 การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

สำหรับงานวิจัยครั้งนี้ เลือกใช้วิธี DPPH method ในการวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรตัวอย่าง เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (6-hydroxyl-2,5,7,8-tetramethylchromane – 2 – carboxylic acid)

การคำนวณหา % Inhibition คำนวณได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance ; A. หรือ Abs. ที่วัดได้มาคำนวณดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_{DPPH\bullet} - A_{sample}) \times 100}{A_{DPPH\bullet}}$$

$$\text{หรือ } \% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Inhibition} \times 100}{A_{DPPH\bullet}}$$

เมื่อ Inhibition = ค่าการดูดกลืนแสงของ $DPPH^{\bullet}$ ที่ลดลงเนื่องจากการเติมสารที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (ในที่นี้หมายถึง การเติมสารละลาย Trolox หรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรตัวอย่าง)

ซึ่งคำนวณได้จาก $A_{DPPH\bullet} - A_{sample}$

% Inhibition = ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ

$A_{DPPH\bullet}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ ($DPPH^{\bullet}$)

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระหลังจากการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ (Trolox) หรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรแล้ว ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์

2.19 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี พ.ศ.2540 กฤติยา อิ่มมาก และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพรที่ใช้ในผู้ติดเชื้อ HIV 43 ชนิด โดยใช้ ABTS method โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสารมารตรฐานที่ใช้ Trolox วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm เมื่อทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา (การเกิดสี) นาน 10 นาที พบว่า สารสกัดพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้สูงสุด ได้แก่ เนื้อสมอไทย ใบฝรั่ง ยอดมะขาม หญ้าหวาน เสลดพังพอนตัวเมีย ต่อมา **กิ่งแก้ว พรมแสง (2541)** ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัด Total antioxidant capacity (TAC) ในซีรั่ม โดยวิธี H_2O_2 – metmyoglobin – ABTS technigue เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (6 – hydroxy – 2,5,7,8 – tetramethylchlorman – 2 – carboxylic acid) ปฏิกิริยาที่ได้เป็นเส้นตรง สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 5 นาที โดยปฏิกิริยาเกิดที่ 37 °C พบว่าระดับ TAC ในซีรั่มหลังจากปั่นแยกที่ 1 ชม. และ 3 ชม. และทำการวิเคราะห์ทันที ไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อเก็บซีรั่มไว้ที่ 4 °C และ -30 °C พบว่าระดับ TAC ลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ และ**ในปี 2542 ทิวาพร ถนอมอนันกุล** ได้ทดลองปรับวิธีการหาค่า TAC เพื่อใช้กับเครื่องเทียบสีธรรมดา ทำโดยวิธี 2, 2' – azino – bis – (3 – ethylbenzothiazinline – 6 – sulphonic acid diammonium) (ABTS) techigue และใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน ปฏิกิริยาเกิดขึ้นที่ 37 °C วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ที่เวลาเกิดปฏิกิริยา 5 นาที ค่า TAC มี Precision ดี สามารถ

ทำโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer แบบธรรมดาได้ ต่อมา **ในปี 2543 วาริน แสงกิติโกมล** ได้วิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระโดยสกัดจากสมุนไพร 16 ชนิด ผลไม้ 15 ชนิด ผักพื้นบ้านไทยและผักเศรษฐกิจ ที่หาซื้อได้ในตลาดของกรุงเทพฯ รวม 50 ชนิด โดยวิธี Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay พบว่าผักพื้นบ้านของไทยเช่นผักติ้ว ขี้เหล็ก ใบมะกอก ใบทำมัง ผักบุ้งนา ใบย่านาง ยอดกระถิน ใบสะระแหน่ มีปริมาณ Total antioxidants ในหน่วย m mol / 100g น้ำหนักสด มีค่า 24.8, 17.6, 15.2, 13.4, 11.4, 10.1 และ 8.9 ตามลำดับ ผลไม้ไทยเช่น กระท้อน มะขาม มีปริมาณ Total antioxidants 6.5 และ 3.7 m mol/ 100g น.น. สด สมุนไพรแห้ง เช่น ชาเขียว ชาจีน ชาใบหม่อน ดอกคำฝอย ใบมะขามแขก มีปริมาณ Total antioxidant สูงมาก คือ 69.4, 68.0, 22.0, 20.3 และ 16.7 m mol/100g น.น. แห้ง ตามลำดับ สมุนไพรสด เช่น ต้นลูกใต้ใบ และใบชุมเห็ด มีปริมาณ Total antioxidant 11.7 และ 6.1 m mol/100g น.น. สด ตามลำดับ และ **ในปี 2544 พรทิพย์ สิทธิศักดิ์** ได้ทำการวิจัยเรื่อง ผลของสารสกัดเพชรสังฆาตต่อการเกิดภาวะ oxidative stress ในหนูขาวที่ออกกำลังกาย โดยใช้วิธี TEAC โดยการสกัด เพชรสังฆาตผงแห้งด้วยน้ำร้อนที่ 80°C แล้วนำไประเหยน้ำออกจนได้ผงแห้ง นำไปป้อนให้หนูพันธุ์ Sprague – Dowley น้ำหนักตัว 130 – 170 กรัม ในขนาด 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ของน้ำหนักหนู/วัน เป็นเวลา 10 วัน ในวันที่ 11 ให้หนูวิ่งด้วยเครื่อง Treadmill จนอ่อนล้าแล้วตรวจสอบภาวะ Oxidative Stress พบว่าเพชรสังฆาตที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดภาวะ Oxidative stress ในหนูที่ออกกำลังกายได้ และช่วยเพิ่มความทนทานในการออกกำลังกายได้ **ในปี 2545 พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล** ได้ศึกษาผลของเวลาที่มีต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในใบติ้ว ใบกระโดนบกและใบผักหวานบ้าน และหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Method พบว่าเวลามีผลต่อปริมาณสารที่สกัดได้ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของใบติ้ว ใบกระโดน และใบผักหวานบ้านอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นในช่วง 6, 5 และ 4.5 ชั่วโมงแรกของสารสกัดตามลำดับ หลังจากนั้นเริ่มคงที่ ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นในช่วง 6 ชั่วโมงแรกของการสกัดสำหรับใบติ้ว และ 4.5 ชั่วโมง สำหรับใบกระโดนและใบผักหวาน โดยจะมีค่าลดลงเมื่อทำการสกัดนานขึ้น