

ชาสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 Herbs Tea for Diabetes (type 2) Treatment

แดนชัย เครื่องเงิน¹ เอนก หาลี² และบุญยกฤต รัตนพันธุ์²

บทคัดย่อ

กรดโอเลอิกและกรดยูซิลิกเป็นสารที่มีประโยชน์ในการรักษาโรคเบาหวานสามารถฟื้นฟูการทำงานของตับอ่อน กระตุ้นการหลั่งอินซูลิน ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด จากการวิเคราะห์กรดทั้งสองชนิดในพืชสมุนไพรที่ใช้เป็นยารักษาโรคเบาหวาน 21 ชนิด พบว่าในกระเพราแดงกระเพราขาว หญ้าหนวดแมว และชะพลู เป็นสมุนไพรที่มีปริมาณกรดทั้งสองมากเป็น 4 อันดับแรก โดยมีปริมาณกรดโอเลอิกในลิเก: กรดยูซิลิกเป็น 1769.5: 1715.2, 1531.5: 1664.7, 1301.5: 3646.6, 1093.4: 305.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ และเมื่อนำสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดมาทำเป็นน้ำชาสมุนไพรเพื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสกับผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน พบว่าน้ำชาสมุนไพรกระเพราแดงได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบชิมในด้านสี รสชาติ และความชอบโดยรวมมากที่สุด โดยได้คะแนน 6.16, 5.24 และ 5.68 ตามลำดับ จากนั้นนำชาสมุนไพรกระเพราแดงมาหาเวลาในการชงที่เหมาะสม และสามารถสกัดกรดทั้งสองออกมาในปริมาณสูงสุด พบว่า การชงที่เวลา 9 นาทีจะมีปริมาณกรดทั้งสองมากที่สุด แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติเวลาในการชง 7 และ 9 นาที มีปริมาณกรดทั้งสองที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังนั้น เวลาที่เหมาะสมในการชงชาสมุนไพรกระเพราแดงจะใช้เวลาประมาณ 7 นาที

คำสำคัญ: กรดโอเลอิก, กรดยูซิลิก, ชาสมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน, ชาสมุนไพร

Abstract

Oleanolic and ursolic acids have potential applications for treatment of diabetes by reviving pancreatic function, enhancing of insulin secretion, and lowering blood sugar levels. Twenty-one local Thai herbs were analyzed for these two acids and found that Sacred Basil (Ga-prow Dang), Holy Basil (Ga-prow Kow), Cat's whiskers (Yanuad maw) and Wild betel leaf bush (Cha-plu) were the ranking top four consecutively (oleanolic acid: ursolic acid ratio; 1769.5: 1715.2, 1531.5: 1664.7, 1301.5: 3646.6, and 1093.4: 305.7 mg/kg of dried herbs, respectively). These four types of herb were subsequently processed in the form of tea and sensory evaluation with 50 subjects. The result indicated that Sacred Basil received the highest sensory evaluation scores of color, taste, and overall acceptability at 6.16, 5.24, and 5.68 respectively.

The tea of Sacred Basil was also studied for the appropriate brewing time with a corresponding yield of oleanolic and ursolic acid. The result showed that both types of acid had the maximum amount at 9 minutes of brewing time. This was insignificantly different ($p > 0.05$) to acids concentration level from the 7 minutes brewing time. Therefore, the optimum brewing time for Sacred basil tea was 7 minutes.

Keywords: Oleanolic acid, Ursolic acid, Herbs tea for diabetes, Herbs tea

^{1,2} โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

คำนำ

โรคเบาหวานสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ เบาหวานประเภทที่ 1 (type 1 diabetes) ชนิด ฟังอินซูลิน เบาหวานประเภทที่ 2 (type 2 diabetes) ชนิดไม่ฟังอินซูลิน เบาหวานชนิดอื่น ๆ (other specific types) และเบาหวานในระยะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus) โดยเบาหวานที่มีความสำคัญจะเป็นเบาหวานประเภทที่ 2 เนื่องจากมีจำนวนผู้ป่วยมากกว่าประเภทอื่น ๆ การรักษาเบาหวานประเภทนี้ทำได้ตั้งแต่การควบคุมอาหาร การออกกำลังกาย การรับประทานยาลดน้ำตาล หรือในผู้ป่วยบางรายอาจต้องฉีดอินซูลิน (เทพและคณะ, 2547) โรคเบาหวานเป็นหนึ่งในโรคที่สำคัญมากทางระบาดวิทยาประชากรไทยทุก ๆ 100 คน จะมีผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานถึง 6 คน และสำหรับประเทศไทยและประเทศทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวาน ร้อยละ 99 เป็นเบาหวานประเภทที่ 2 (เทพ และคณะ, 2547)

นอกจากการรักษาเบาหวานด้วยการแพทย์แผนปัจจุบัน ทั้งการฉีดอินซูลิน การรับประทานยาต่าง ๆ แล้ว ยังมีการใช้สมุนไพรเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการรักษา ป้องกัน และควบคุมโรค การบรรเทาอาการเจ็บป่วย (Marles and Farnsworth, 1995) และอาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตที่ดีของผู้ป่วยตลอดจนลดอาการแพ้ของผู้ป่วยที่เกิดจากการใช้ยารักษาโรคเบาหวานอีกด้วย จากการศึกษาทดลองสมุนไพรมากกลุ่มในสัตว์ทดลองและในคน พบว่าสาร triterpenic acids บางชนิดมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ เช่น กรดโอสลินโนลิก (Oleanolic acid) และ กรดยูโซลิก (Ursolic acid) โดยกรดโอสลินโนลิกสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันหรือรักษาโรคไตที่เกิดจากโรคเบาหวานได้ ส่วนกรดยูโซลิกสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด และเป็นประโยชน์ในการป้องกันหรือรักษาโรคไตที่เกิดจากโรคเบาหวาน (Wang *et al.*, 2010) กรดยูโซลิกสามารถทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง ทำให้ฮอร์โมนอินซูลินมีความไวในการจับกับกลูโคสเพิ่มขึ้น ทำให้มีปริมาณอินซูลินในเลือดเพิ่มมากขึ้น และยังมีคุณสมบัติเป็นสารที่เพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับเบต้าเซลล์ของตับอ่อนซึ่งมีหน้าที่สร้างอินซูลินไม่ให้เกิดการทำลายซึ่งเป็นการเพิ่มระดับอินซูลินในเลือดให้มากขึ้น (Jang *et al.*, 2009) การใช้กรดยูโซลิกในปริมาณต่ำ (ร้อยละ 0.01 และร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักของอาหาร) สามารถลดระดับกลูโคสในเลือด ควบคุมความเข้มข้นของระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเกิดความทนทานต่อกลูโคส ความทนทานต่ออินซูลินตับอ่อนสามารถสร้างฮอร์โมนอินซูลินสูงขึ้น และเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ (Lee *et al.*, 2010) นอกจากนี้การใช้กรดยูโซลิกยังมีผลต่อระดับการลดระดับคอเลสเตอรอล กรดไขมันอิสระ และไตรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยโรคเบาหวานอีกด้วย (Jang *et al.*, 2010) ส่วนการใช้ชาสมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน มีรายงานการวิจัยการใช้สมุนไพรรชนิด *Costus spicatus* มาทำเป็นชาแล้วนำไปใช้กับหนูทดลองเพื่อศึกษาการลดระดับน้ำตาลในเลือด และระดับของฮอร์โมนอินซูลินพบว่าการใช้ชาสมุนไพรชนิดนี้ไม่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด และระดับฮอร์โมนอินซูลิน ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะหนูทดลองอาจได้รับปริมาณสารสำคัญที่มีอยู่ในชาชนิดนี้มีน้อยเกินไป ซึ่งจะต้องทำการศึกษาดังกล่าวถึงปริมาณการใช้ชาสมุนไพรที่เหมาะสมรวมทั้งศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในชาสมุนไพรเพิ่มเติม (Keller *et al.*, 2009) เนื่องจากเหตุผลดังกล่าวการรักษาโรคเบาหวานโดยการใช้สมุนไพรอาจต้องกระทำควบคู่ไปกับการรักษาโดยการแพทย์แผนปัจจุบัน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จะเป็นการหาปริมาณสารชีวเคมี คือ กรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก ที่มีอยู่ในสมุนไพรรที่ใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานจำนวน 21 ชนิด แล้วเลือกสมุนไพรรที่มีปริมาณกรดทั้งสองสูงเป็นลำดับที่ 1 ถึง 4 มาผลิตเป็นชาสมุนไพรแล้วทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อคัดเลือกชาสมุนไพร 1 ชนิดเพื่อนำมาผลิตเป็นชาสมุนไพร จากนั้นนำชาสมุนไพรที่เลือกมาหาระยะเวลาในการชงชาเพื่อสกัดกรดทั้งสองชนิดให้ได้ปริมาณสูงสุด

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การหาปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก ที่มีอยู่ในสมุนไพร

นำตัวอย่างพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคเบาหวาน เช่น ใบชะพลู กระเพราแดง กระเพราขาว หญ้าหนวดแมว โหระพา สะระแหน่ ใบสักทอง ใบเตย ผักไผ่ ฝรั่ง มะแว้งเครือ ตำลึง ชะเอม อินทนิลสะเดา บอระเพ็ด ไมยราบ กระเทียม ว่านหางจระเข้ ผักบู่ หอมหัวใหญ่ มาทำแห้งโดยวิธี อบแห้งแบบลมร้อน โดยใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้มีความชื้นเท่ากับหรือต่ำกว่าร้อยละ 7 นำตัวอย่างพืชสมุนไพรที่แห้งแล้วมาบดให้เป็นผง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิกโดยใช้เทคนิค HPLC ตามวิธีของ Wang *et al.* (2008) ดังนี้ ชั่งสมุนไพร 0.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่เติมคลอโรฟอร์ม 30 มิลลิลิตร สกัดโดยใช้เครื่องอัลตราโซนิคที่พลังงาน 600 วัตต์เป็นเวลา 30 นาที นำมากรองด้วยกระดาษกรองเก็บของเหลวส่วนที่เป็นคลอโรฟอร์มไว้ ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้งโดยใช้คลอโรฟอร์มครั้งละ 10 มิลลิลิตร ล้างตะกอนด้วยคลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตร เก็บสารละลายทั้งหมดไว้ในขวดกั้นกลมระเหยคลอโรฟอร์มออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ เติมนิโตรเจนเหลว 10 มิลลิลิตร และระเหยออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ เติมนีทานอล 5 มิลลิลิตร ลงในขวดกั้นกลมกรองด้วยกระดาษกรองไนลอน (membrane filter; nylon) ขนาด 0.45 ไมครอน นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Series 200 วิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร โดยควบคุมด้วยซอฟต์แวร์ Perkin Elmer Version 6.2.0 ทำการแยกโดย reverse-phase column urasil C18 (4.6 mmx150 mm, 5 μ m) ใช้ mobile phase เป็น นีทานอล-กรดฟอสฟอริก-น้ำ ในสัดส่วน 88.0 – 0.05 – 11.95 v/v/v อัตราไหลของ mobile phase 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

การทำกราฟมาตรฐานจากสารละลายมาตรฐานกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก จำนวน 5 ความเข้มข้น อยู่ในช่วง 10 – 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์จำนวน 3 ซ้ำ นำค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้กราฟมาสร้างเป็น กราฟมาตรฐาน ปริมาณของกรดทั้งสองได้จากการคำนวณสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก ในชาสมุนไพรโดยเลือกชาสมุนไพรหญ้าหนวดแมว มาทำการหาความถูกต้องโดยการหาค่าร้อยละการกลับคืน (% Recovery) และหาความแม่นยำโดยใช้ค่าร้อยละของการ เบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (% RSD) โดยการเติมสารมาตรฐานกรดโอสลินโนลิกและกรดยูโซลิกเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงไปในตัวอย่างชาสมุนไพรหญ้าหนวดแมว 0.5 กรัม หลังจากนั้นทำการสกัดและวิเคราะห์เหมือนกับตัวอย่าง ชาสมุนไพรที่กล่าวมาแล้วข้างต้น นำปริมาณที่พบมาทำการคำนวณปริมาณที่พบเทียบกับปริมาณที่เติมลงไปเป็นร้อยละ จะได้ค่าความถูกต้อง (Accuracy) ส่วนการหาค่าความแม่นยำ (Precision) หาได้จากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการ วิเคราะห์สารทั้งสอง 3 ซ้ำ แล้วคำนวณหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (ตัดแปลงจาก Lopez *et al.*, 2011)

จากนั้นนำปริมาณกรดทั้งสองที่พบในสมุนไพรทั้ง 21 ชนิด มาวิเคราะห์โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพื่อคัดเลือกชนิดของสมุนไพรที่ให้ปริมาณ กรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก มากที่สุด 4 อันดับแรก เพื่อนำไปศึกษาคุณภาพชาสมุนไพร

2. การทดสอบทางประสาทสัมผัสชาสมุนไพร

นำสมุนไพรสด 4 ชนิดที่เลือกมาล้างน้ำแล้วนำไปผึ่งในตะแกรงให้สะเด็ดน้ำนำเข้าเครื่องตัด ตัดให้เป็นชิ้น ๆ ลวกน้ำที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 3 วินาที จุ่มลงในน้ำเย็นทันที ผึ่งให้พอสอด ๆ บนตะแกรง แล้วคั่วที่ อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส (ประมาณ 1 ชั่วโมง) นำเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 20 นาที แล้วลดอุณหภูมิลงถึง 60 องศาเซลเซียส (ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง) พักชาสมุนไพรเอาไว้ให้ อุณหภูมิลดลงบรรจุในบรรจุภัณฑ์ถุงละ 2 กรัม (ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร, 2554) นำชา สมุนไพรที่ได้มาทำเป็นน้ำชาสมุนไพรโดยใช้น้ำร้อนเดือดจากกาต้มน้ำไฟฟ้าปริมาตร 100 มิลลิลิตร ชงกับชาสมุนไพร 1 ซอง (2 กรัม) ทิ้งไว้ 5 นาทีนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic Scaling Test 9 point โดยวางแผน การทดสอบแบบ RCBD ใช้จำนวนผู้บริโภคนในการทดสอบ 50 คนโดยการสุ่มให้ผู้ทดสอบชิมตัวอย่างละ

20 มิลลิลิตร ในแก้วทดสอบขมิ้นไซ โดยใช้รหัสเลขสุ่ม 3 ตัวเลือกสมุนไพรที่ได้คะแนนความชอบมากที่สุด มาผลิตเป็นชาสมุนไพรสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน

3. การหาเวลาในการชงชาเพื่อสกัดกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก ในสมุนไพรให้ได้ปริมาณสูงสุด

นำชาสมุนไพรที่ได้จากการคัดเลือกจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสมาหาเวลาในการชงที่จะสกัดกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิกให้ได้ปริมาณสูงสุด โดยวางแผนการทดลองเป็น CRD แปรเวลาในการชงเป็น 3 5 7 และ 9 นาที นำตัวอย่างชาสมุนไพรที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก โดยใช้วิธี HPLC ตามวิธีของ Wang *et al.* (2008) โดยทำการทดลองเหมือนกับชาสมุนไพร แต่ใช้ตัวอย่างเป็นน้ำชาสมุนไพร 20 กรัม และนำมาแยกชั้นในกรวยแยกเก็บของเหลวส่วนที่เป็นคลอโรฟอร์ม แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ด้วยวิธีการเดียวกับการวิเคราะห์ชาสมุนไพร จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพื่อหาเวลาที่ใช้ในการชงชาสมุนไพรที่สามารถสกัดกรดโอสลินโนลิกและกรดยูโซลิกออกมาได้มากที่สุด

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก ที่มีอยู่ในสมุนไพร

การศึกษาปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก ที่มีอยู่ในสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานเพื่อนำไปคัดเลือกชนิดของสมุนไพรที่ให้ปริมาณกรดโอสลินโนลิกและกรดยูโซลิก ได้ผลดังตารางที่ 1

จากตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิกในสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวานพบว่าสมุนไพรที่มีปริมาณกรดโอสลินโนลิกมากที่สุด 4 อันดับแรก คือ กระเพราแดง กระเพราขาว หญ้าหนวดแมว และชะพลู มีปริมาณกรดโอสลินโนลิกเท่ากับ 1,769.5, 1,531.5, 1,301.5 และ 1,093.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยจากการศึกษาของ Anandjiwala *et al.* (2006) พบปริมาณกรดยูโซลิกในใบกระเพราแดงในประเทศอินเดียมีปริมาณ 1,740 – 2,180 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ร้อยละ 0.174 – 0.218 โดยน้ำหนัก) ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนปริมาณกรดยูโซลิก พบว่าสมุนไพรที่มีปริมาณกรดยูโซลิกมากที่สุด 4 อันดับแรก คือ หญ้าหนวดแมว กระเพราแดง กระเพราขาว โหระพา และสะระแหน่มีปริมาณ กรดยูโซลิกเท่ากับ 3,646.6, 1715.2, 1664.7, 538.0 และ 507.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยจากการศึกษาของ Anandjiwala *et al.* (2006) ปริมาณกรดยูโซลิกในใบกระเพราขาวมีปริมาณ 3,480 – 4,780 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ร้อยละ 0.348– 0.478 โดยน้ำหนัก) ปริมาณกรดยูโซลิกในกระเพราแดงมีปริมาณ 2,520 – 2,640 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ร้อยละ 0.252 – 0.264 โดยน้ำหนัก) ดังนั้นปริมาณกรดยูโซลิกที่พบในกระเพราขาว และกระเพราแดงของการวิจัยซึ่งเป็นกระเพราของไทย มีค่าไม่เท่ากับปริมาณที่พบในประเทศอินเดีย

กราฟมาตรฐานของกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก มีสมการเส้นตรงเป็น $y = 5065.8X - 4468.48$ ค่า $r^2 = 0.9988$ และ $y = 4701.6X - 4896$ ค่า $r^2 = 0.9980$ ตามลำดับ การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก ในชาสมุนไพรโดยเลือกชาสมุนไพรหญ้าหนวดแมว มาทำการหาค่าความถูกต้องโดยการหาร้อยละการกลับคืนของกรดโอสลินโนลิกและกรดยูโซลิกได้เท่ากับร้อยละ 94.52 และร้อยละ 107.42 ตามลำดับ ส่วนค่าความแม่นยำโดยใช้ค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ได้เท่ากับ 2.44 และ 4.67 ตามลำดับ

ปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูโซลิก ที่พบในสมุนไพรจึงเลือกสมุนไพรที่มีปริมาณกรดโอสลินโนลิกมากที่สุด 4 อันดับแรก คือ กระเพราแดง กระเพราขาว หญ้าหนวดแมว และชะพลู มาผลิตเป็นชา เพื่อคัดเลือกชาสมุนไพรรักษาโรคเบาหวานต่อไป ส่วนปริมาณกรดยูโซลิกของชะพลูที่มีค่าน้อยกว่าสะระแหน่ และใบโหระพานั้นเพื่อให้ได้ชาสมุนไพรมาหาคุณภาพเพียง 4 ชนิด ดังนั้นจะเลือกใช้ชะพลูแทนสมุนไพรทั้งสองเนื่องจากมีปริมาณกรดยูโซลิกใกล้เคียงกัน

Table 1 The average contents of oleanolic and ursolic acid in herbs

Scientific name	Herbs		Compounds ($\mu\text{g/g}$ dry plant material)	
	Common name	ชื่อภาษาไทย	Oleanolic acid	Ursolic acid
<i>Ocimum sanctum</i> L.	Sacred Basil	กระเพราแดง	1769.5 \pm 51.3 ^a	1715.2 \pm 149.3 ^b
<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	Holy Basil	กระเพราขาว	1531.5 \pm 62.6 ^b	1664.7 \pm 118.6 ^b
<i>Orthosiphon aristatus</i> (Blume) Miq.	Cat's whiskers	หญ้าหนวดแมว	1301.5 \pm 84.1 ^c	3646.6 \pm 231.1 ^a
<i>Piper sarmentosum</i> Roxb.	Wildbetalleafbush	ชะพลู	1093.4 \pm 69.0 ^d	305.7 \pm 12.6 ^d
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Sweet Basil	โหระพา	242.2 \pm 17.1 ^e	538.0 \pm 27.9 ^c
<i>Metha cordifolia</i> Opiz.	Kitchen Mint	สะระแหน่	214.3 \pm 4.8 ^e	507.8 \pm 24.8 ^c
<i>Tectona grandis</i> L.	Teak	ใบสักทอง	145.8 \pm 14.8 ^f	347.9 \pm 8.8 ^d
<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.	Pandanus Palm	ใบเตย	129.2 \pm 6.1 ^f	71.05 \pm 2.93 ^e
<i>Polygonum odoratum</i> Lour.	Vietnamese coriander	ผักไผ่	52.90 \pm 1.68 ^f	17.11 \pm 1.58 ^e
<i>Azadirachta indica</i> Juss. Var. <i>siamensis</i> Valetou.	Neem tree	สะเดา	35.91 \pm 2.24 ^f	50.58 \pm 2.57 ^e
<i>Psidium guajava</i> L.	Guava	ฝรั่ง	34.71 \pm 1.95 ^f	41.76 \pm 0.21 ^e
<i>Solanum trilobatum</i> L.	Purple-Fruited Pea Eggplant	มะเข็งเครือ	34.71 \pm 1.95 ^f	7.45 \pm 1.29 ^e
<i>Coccinia grandis</i> (L.) Voigt.	Ivy Gourd	ตำลึง	20.07 \pm 2.80 ^f	0.76 \pm 0.05 ^e
<i>Albizia myriophylla</i> Benth.	Cha emthai	ชะเอม	18.33 \pm 1.20 ^f	55.68 \pm 4.48 ^e
<i>Lagerstroemia speciosa</i> (L.) Pers.	Pride of india	อินทนิลน้ำ	14.41 \pm 0.99 ^f	20.49 \pm 1.06 ^e
<i>Tinospora crispa</i> (L.) Miers ex Hook.f. &Thoms	Heart-leaved moonseed	บอระเพ็ด	5.49 \pm 0.46 ^f	0.83 \pm 0.02 ^e
<i>Mimosa pudica</i> L.	Shame plant	ไมยราบ	4.77 \pm 0.24 ^f	1.18 \pm 0.10 ^e
<i>Allium sativum</i> L.	Garlic	กระเทียม	1.10 \pm 0.04 ^f	2.67 \pm 0.18 ^e
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm.f.	Star cactus, Aloe	ว่านหางจระเข้	0.88 \pm 0.20 ^f	61.26 \pm 2.00 ^e
<i>Lpomcea aquatica</i> Forssk.	Swamp morning-glory	ผักนึ่ง	0.69 \pm 0.08 ^f	3.91 \pm 0.27 ^e
<i>Allium cepa</i> L.	Onion	หอมหัวใหญ่	0.54 \pm 0.07 ^f	7.83 \pm 0.42 ^e

^{a,b} Means followed by the different letters in each source within the same column are significantly difference ($p \leq 0.05$)

2. การทดสอบทางประสาทสัมผัส

นำชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic Scaling Test 9 point ได้ผลดังตารางที่ 2

Table 2 Sensory evaluation

Scientific name	Herbs ชื่อภาษาไทย	Accept table score			
		color	flavour	taste	overall
<i>Ocimum sanctum</i> L.	กระเพราแดง	6.16±1.76 ^a	5.40±1.69 ^b	5.24±1.67 ^a	5.68±1.70 ^a
<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	กระเพราขาว	6.64±1.68 ^a	4.64±1.74 ^b	4.46±1.76 ^{ab}	5.26±1.45 ^{ab}
<i>Orthosiphon aristatus</i> (Blume) Miq.	หญ้าหนวดแมว	6.20±1.55 ^a	4.88±2.01 ^b	4.86±1.89 ^a	5.28±1.65 ^b
<i>Piper sarmentosum</i> Roxb.	ชะพลู	4.72±2.19 ^b	6.52±2.00 ^a	3.70±2.49 ^b	5.02±2.20 ^{ab}

^{a,b} Means followed by the different letters in each source within the same column are significantly difference ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ให้คะแนนสีของน้ำชาสมุนไพรกระเพราแดง กระเพราขาว และชะพลู ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) และได้รับการยอมรับมากกว่าน้ำชาหญ้าหนวดแมว ส่วนทางด้านกลิ่นผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับน้ำชาสมุนไพรหญ้าหนวดแมวมากที่สุด และการยอมรับน้ำชาสมุนไพรด้านรสชาติ และความชอบโดยรวมผู้ทดสอบชิมให้คะแนนการยอมรับน้ำชาสมุนไพรกระเพราแดง มากที่สุดรองลงมาจะเป็นกระเพราขาว ชะพลู และหญ้าหนวดแมวตามลำดับ โดยชาสมุนไพรกระเพราแดง ได้คะแนนความชอบ คือ ชอบเล็กน้อย (ประมาณ 6 จากคะแนนเต็ม 9) ดังนั้นจึงเลือกกระเพราแดง ไปทำชาเพื่อทดสอบเวลาในการชงชาเพื่อให้ได้สารสำคัญมากที่สุด

3.การหาเวลาในการชงชากระเพราแดงเพื่อสกัดกรดโอเลอิกและกรดยูโซลิก ให้มีปริมาณสูงสุด

นำชาสมุนไพรกระเพราแดงมาชงโดยใช้เวลา 3 5 7 และ 9 นาที นำมาสกัดและหาปริมาณกรดโอเลอิกในลิกและกรดยูโซลิกให้ได้ปริมาณสูงที่สุด ได้ผลดังตารางที่ 3

Table 3 The average contents of oleanolic and ursolic acid in the tea of red Sacred Basil

Time(min)	Compounds (mg/100 ml tea of red Sacred Basil)	
	Oleanolic acid	Ursolic acid
3	0.103±0.001 ^a	0.079±0.002 ^a
5	0.119±0.018 ^a	0.093±0.013 ^a
7	0.164±0.021 ^b	0.129±0.017 ^b
9	0.189±0.020 ^b	0.144±0.017 ^b

^{a,b} Means followed by the different letters in each source within the same column are significantly difference ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 3 ปริมาณกรดโอเลอิก และกรดยูโซลิกในน้ำชากระเพราแดง เมื่อชงที่เวลา 3 นาที มีปริมาณ 0.103 และ 0.079 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัมน้ำชาตามลำดับ เมื่อใช้เวลาชง 5 นาที มีปริมาณ 0.119 และ 0.093 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัมน้ำชา ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แล้วปริมาณกรดทั้งสองชนิด ที่มีในน้ำชาที่ใช้เวลาในการชง 3 และ 5 นาที ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อชงที่เวลา 7 นาที ปริมาณกรดโอเลอิกในลิก และกรดยูโซลิก ในน้ำชากระเพราแดง เท่ากับ 0.164 และ 0.129 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัมน้ำชาตามลำดับ เมื่อใช้เวลาชง 9 นาที มีปริมาณ 0.189 และ 0.144 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัมน้ำชา ตามลำดับ ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แล้วปริมาณกรดที่มีในน้ำชาที่ใช้เวลาในการชง 7 และ 9 นาที ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่จะแตกต่างจากการชง 3 และ 5 นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เวลาชงชาเพื่อ

ให้ได้ปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูไซลิก ในสมุนไพรให้ได้ปริมาณสูงสุดคือ 9 นาที แต่เนื่องจากปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูไซลิก ในน้ำชาสมุนไพรที่เวลา 7 และ 9 นาที ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) เพื่อเป็นการประหยัดเวลาในการชงและที่เวลา 9 นาที น้ำชาจะเริ่มเย็นทำให้เสียรสชาติในการรับประทานได้ ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการชงชาสมุนไพรเพราะแดงจะใช้เวลาประมาณ 7 นาทีที่เวลานี้ในการสกัดนานขึ้นจะทำให้สามารถสกัดกรดทั้งสองได้มากขึ้น ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Wojciak-kosior *et al.*, (2013) ที่ทำการทดลองการสกัดโดยใช้ไมโครเวฟเมื่อเพิ่มเวลามากขึ้นพบว่าจะสามารถสกัดกรดโอสลินโนลิกและกรดยูไซลิกได้มากขึ้น มีปริมาณมากขึ้นไปด้วย

จากการชงชาด้วยน้ำร้อนที่ 7 นาที จะพบว่าปริมาณกรดทั้งสองชนิด ที่มีอยู่ในน้ำชามีปริมาณค่อนข้างต่ำ คือจะมีปริมาณกรดโอสลินโนลิก และกรดยูไซลิก เท่ากับ 0.164 และ 0.129 มิลลิกรัมต่อน้ำชา 100 มิลลิลิตร (ประมาณร้อยละ 0.000164 และ 0.000129 โดยน้ำหนักอาหาร) ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาของ Lee *et al.* (2010) พบว่าการใช้กรดยูไซลิกในปริมาณต่ำ คือร้อยละ 0.01 และร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักของอาหาร มีผลทำให้สามารถลดระดับกลูโคสในเลือด ควบคุมความเข้มข้นของระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเกิดความทนทานต่อกลูโคส ความทนทานต่ออินซูลิน ตับอ่อนสามารถสร้างฮอร์โมนอินซูลินสูงขึ้น และเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูได้ ดังนั้นจากปริมาณกรดทั้งสองที่พบในชาเพราะแดงที่ใช้เวลาในการชง 7 นาที น่าจะมีผลต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามการทดลองนี้เป็นการทดลองในหนูเท่านั้น และจากการศึกษาของ Keller *et al.* (2009) ที่ใช้น้ำชาสมุนไพร *Costus spicatus* รักษาโรคเบาหวาน ของหนูทดลองเพื่อศึกษาการลดระดับน้ำตาลในเลือด และระดับของฮอร์โมนอินซูลินพบว่าการใช้ชาสมุนไพรชนิดนี้ไม่มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือด และระดับฮอร์โมนอินซูลิน ดังนั้นการใช้ชาสมุนไพรเพื่อการรักษาโรคเบาหวานจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาทดลองการใช้ในคนเพื่อที่ได้ปริมาณการใช้ชาสมุนไพรที่เหมาะสม รวมทั้งศึกษากลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในชาสมุนไพรเพราะแดงดังกล่าวต่อไป

จากการศึกษาการสกัดกรดโอสลินโนลิกและกรดยูไซลิกในต้น *Lamii albi flos* (*Lamium album* L.) ของ Wojciak - kosior *et al.*, (2013) พบว่าการใช้ไมโครเวฟเป็นวิธีการสกัดที่สามารถสกัดกรดทั้งสองได้มากที่สุด รองลงมาจะเป็นวิธีการสกัดโดยใช้เทคนิคอัลตราโซนิก ส่วนวิธีอื่นๆ เช่น การรีฟลักซ์ วิธีการกลั่นแบบชอกต์เลด การเขย่าโดยใช้ตัวทำละลาย จะสกัดกรดทั้งสองออกมาได้น้อยกว่า และจากการศึกษาของ Tarvainen *et al.* (2010) พบว่าประสิทธิภาพของการสกัดกรดโอสลินโนลิกและกรดยูไซลิกไม่ขึ้นกับวิธีการสกัดเพียงอย่างเดียวแต่ขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของตัวทำละลายเท่านั้นแต่จะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายด้วยโดยตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับสกัดกรดทั้งสองจะเป็นตัวทำละลายชนิดเป็นเมทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ แต่เนื่องจากไดเอทิลอีเทอร์ไม่สามารถสกัดได้ที่อุณหภูมิสูงได้ ดังนั้นตัวทำละลายที่สามารถสกัดกรดทั้งสองได้ดีที่สุดคือ เมทานอล (Wojciak-kosior *et al.*, 2013) แต่เนื่องจากในการวิจัยครั้งนี้จะทำการสกัดกรดทั้งสองโดยวิธีการชงด้วยน้ำร้อนซึ่งเป็นวิธีการชงชาสมุนไพรที่สามารถรับประทานได้นั้น Tarvainen *et al.*, (2010) ได้กล่าวว่าตัวทำละลายที่เป็นเมทานอล และเมทานอลกับน้ำเป็นตัวทำละลายที่ไม่สามารถสกัดกรดทั้งสองชนิดนี้ได้มากเท่ากับเมทานอลหรือ ไดเอทิลอีเทอร์โดยเทคนิคที่ช่วยเพิ่มการละลายของกรดทั้งสองซึ่งเป็น triterpenic acids คือการเพิ่มแรงดันหรือเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด (Wojciak-kosior *et al.*, 2013) ดังนั้นเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายกรดทั้งสองนี้จึงต้องสกัดที่อุณหภูมิสูง

สรุป

จากการวิจัยนี้พบว่าสมุนไพรที่มีปริมาณกรดโอสลินโนลิกมากที่สุด 4 อันดับแรก คือ กระเพราะแดง กระเพราะขาว หญ้าหนวดแมว และชะพลู มีปริมาณ กรดโอสลินโนลิกเท่ากับ 1,769.5, 1,531.5, 1,301.5 และ 1,093.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดยูไซลิก พบว่าสมุนไพรที่มีปริมาณกรดยูไซลิกมากที่สุด 4 อันดับแรก คือ

หญ้าหนวดแมว กระเพราแดง กระเพราขาว โหระพา และสะระแหน่มีปริมาณกรดยูโซลิกเท่ากับ 3,646.6, 1715.2, 1664.7, 538.0 และ 507.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ เมื่อนำมาผลิตเป็นชาสมุนไพรแล้วนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ผู้ทดสอบชิม จำนวน 50 คน ให้คะแนนการยอมรับน้ำชาสมุนไพรกระเพราแดงมากที่สุด รองลงมาจะเป็นกระเพราขาว ชะพลู และหญ้าหนวดแมวตามลำดับ

การทดสอบการชงชากระเพราแดง เพื่อให้ได้สารสำคัญมากที่สุดพบว่าเวลาที่ใช้ชงชา 9 นาที ปริมาณกรดอินทรีย์และกรดยูโซลิก ในน้ำชากระเพราแดงมากที่สุด แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แล้วปริมาณกรดทั้งสองที่มีในน้ำชาที่ใช้เวลาในการชง 7 และ 9 นาที ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังนั้นเพื่อเป็นการประหยัดเวลาและเพื่อให้ชาได้รสชาติที่ดีที่สุด ดังนั้น เวลาที่เหมาะสมในการชงชาสมุนไพรกระเพราแดงจะใช้เวลาประมาณ 7 นาที

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนจากเครือข่ายการวิจัยภาคเหนือตอนล่างสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ในการให้งบประมาณสนับสนุนงานวิจัย และ “ความเห็นในรายงานผลการวิจัยเป็นของมหาวิทยาลัย และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป”

ศูนย์ส่งเสริมและตรวจสอบการผลิตตามมาตรฐานความปลอดภัยทางอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่สนับสนุนห้องปฏิบัติการและเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่สนับสนุนการใช้ห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหารและเครื่องมือในการทำชาสมุนไพร

เอกสารอ้างอิง

- กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. 2553. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 พร้อมกฎกระทรวง และประกาศกระทรวงสาธารณสุข, ฉบับปรับปรุง ปี 2553. 346-349.
- เทพ หิมะทองคำ และคณะ. 2547. ความรู้เรื่องเบาหวานฉบับสมบูรณ์: พิมพ์ครั้งที่ 3. วิทย์พัฒนา: กรุงเทพฯ.
- ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร. 2554. คู่มือธุรกิจผลิตอาหาร ชาสมุนไพรสำเร็จรูป. สถาบันอาหาร: กรุงเทพฯ.
- Anandjiwala, S., Kalola, J. and Kalola, J. 2006. Quantification of eugenol, luteolin, ursolic acid and oleanolic acid in black and green varieties of *Ocimum sanctum* L, using high-performance thin-layer chromatography. *Journal of AOAC International*. 89: 1467-1474 pp.
- Jang, S.M., Yee, S.T., Choi, J., Choi, M.S., Do, G.M., Jeon, S.M., Yeo, J., Kim, M.J., Seo, K.I. and Lee, M.K. 2009. Ursolic acid enhances the cellular immune system and pancreatic beta-cell function in streptozotocin-induced diabetic mice fed a high-fat diet. *International Immunopharmacology*, 9: 113-119 pp.
- Jang, S.M., Kim, M.J., Choi, M.S., Kwon, E-Y., and Lee, M.K. 2010. Inhibitory effects of ursolic acid on hepatic pathway and glucose production in streptozotocin-induced diabetic mice. *Metabolism Clinical and Experimental*, 59: 512-519 pp.
- Keller, A.C., Vandebroek, I., Liu, Y., Balick, M.J., Kronenberg, F., Kennelly, E. and Brillantes, A-M.B. 2009. *Costus spicatus* tea failed to improve diabetic progression in C57BLKS/J db/db mice, a model of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology*, 121: 248-254 pp.
- Lee, J., Yee, S-T., Kim, J-J., Choi, M-S., Kwon, E-Y., Seo, K-I. and Lee, M-K. 2010. Ursolic acid ameliorates thymic atrophy and hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic mice. *Chemical-Biological Interactions*, 188: 635-642 pp.
- Liu, J. 1995. Pharmacology of oleanolic acid and Ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 49: 57 – 68 pp.
- Lopez, A., Rico, M., Rivero, A. and Tangil, M.S. 2011. The effect of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of stypocaulon *Scoparium* algae extracts. *Food chemistry*, 125: 1104-1109 pp.
- Marles, R. and Farnsworth, N. 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, Vol. 2(2), 137-189 pp.
- Tarvainen, M., Suomela, J.P., Kallio, H. and Yang, B. 2010. Triterpene acids in plan-tago major: identification, quantification and comparison of different extraction methods. *Chromatographia* 71, 279-284 pp.

- Wang, H., Wang, Z. and Guo, W. 2008. Comparative determination of ursolic acid and oleanolic acid of *Macrocarpium officinalis* (Sieb. et Zucc.) Nakai by RP-HPLC. *Industrial Crops and Products*, 28: 328-332 pp.
- Wang, Z-h., Hsu, C-c., Huang, C-n. and Yin, M-c. 2010. Anti-glycative effects of Oleanolic and Ursolic acid in kidney of diabetic mice. *European Journal of Pharmacology*, 628: 255-260 pp.
- Wojciak-kosior, M., Sowa, I., Kocjan, R. and Nowak, R. 2013. Effect of different extraction techniques on quantification of oleanolic and ursolic acid in *Lamiialbiflos*. *Industrial Crops and Products*, 44: 373-377 pp.
- Yan, S.L., Huang, C.Y., Wu, S.T. and Yin, M.C. 2010. Oleanolic acid and Ursolic acid induce apoptosis in four human Liver cancer Lines. *Toxicology in Vitro*. 24(3) 842-848 pp.