การศึกษาการก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้านที่ปรุงสำเร็จด้วยวิธีเอมส์

A study of mutagenicity and anti-mutagenicity of non-polar extracts in cooked local vegetable food recipes by Ames test

ธิดารัตน์ สมดี (Thidharat Somdee)[1] *จินดาวัลย์ วิบูลย์อุทัย (Jindawan Wibuloutai)*[1]
จิรภา เพชร์สม (Jirapa Phetsom)[2] *อุดมศักดิ์ มหาวีรวัฒน์ (Udomsak Mahaweerawat)*[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาการก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์ของส่วนสกัดที่ไม่มีขั้วจากตำราอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ ของกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ได้แก่ แกงขี้เหล็ก (*Cassia siamea Lam.*)กับเนื้อวัว แกงหน่อไม้ (*Phyllostachys sp. / Dendrocalamus sp*) ใส่ใบย่านาง (Bamboo grass*[Tiliacora triandra Diels]*) แกงหัวปลี (Banana blossom*[Musa paradisiaca L].*) กับซี่โครงหมูใส่ชะอม *(Acacia Insuavis, Lace)*และใบชะพลู *(Piper sarmentosum Roxb.)* ผัดผักโขม *(*Amaranth*[Amaranthus viridis L. Amaranthaceae]*)ใส่หมูและกุ้ง ยำใบบัวบก *(*Tiger Herbal *[Centella asiatica Urban])* คั่วผำ (Fresh water Alga or Swamp Algae [*Wolffia globosa Hartog & Plas.])* กับหมู ทำการสกัดตัวอย่างอาหารโดยใช้ n-hexane ซึ่งเป็นสารสกัดที่ไม่มีขั้วและนำมาศึกษาฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอมส์โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ต่อสารก่อกลายพันธุ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไนไตรทและ 1-aminopyrene (1-AP) จากการทดลองพบว่าสารสกัดที่ไม่มีขั้วทุกชนิดจากตัวอย่างอาหารทั้ง 6 ตำรับ ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่พบการก่อกลายพันธุ์ อย่างไรก็ตามผลทดสอบกับเชื้อ *S. typhimurium* ในระบบที่ไม่มีเอนไซม์กระตุ้น พบว่าส่วนสกัดที่ไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA100 และพบว่าส่วนสกัดที่ไม่มีขั้วจากผัดผักโขมใส่หมูและกุ้งมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์มากที่สุด และรองลงมาคือ แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง ซึ่งการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นแต่ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของตำรับอาหารไทยที่อาจมีฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์และต้านมะเร็ง

Abstract

This study of mutagenesis and anti-mutagenesis of six local vegetable food recipes of the Nutrition Division, Department of Hygiene, Ministry of Public Health, included Keang khee lhek kub nuer voa (Cassia *[Cassia siamea Lam.]* leaf with beef soup), Keang nhor mai sai bai ya nang (Bamboo shoot *[Phyllostachys sp./Dendrocalamus sp]*) with Bamboo grass *[Tiliacora triandra Diels.]* soup), Keang hua plee sai sei crong mhu cha-oom lare Chaplu

[1] *อาจารย์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสาคาม 44150*
[2] *อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสาคาม 44150*
* *Corresponding author, e-mail: thida_tay@yahoo.com*

(Banana blossom *[:Musa paradisiaca L.]* with pork rib and Acacia *Insuavis, Lace* and Wildbetal *[Piper sarmentosum Roxb]* leaf soup), Phat phak khome sai mhu leare kung (Amaranth *[Amaranthus viridis L. Amaranthaceae]* sauté with pork and prawns), Yam bai bua boke (Tiger herbal *[Centella asiatica Urban]* leaf salad) and Kua pham (Fresh water algae or Swamp Algae *[Wolffia globosa Hartog & Plas.]*) with pork). All six food recipes were extracted with n-hexane and the non-polar fractions were further tested for mutagenicity anti-mutagenicity the Ames test. *Salmonella typhimurium* strain TA 98 and TA 100 and mutagen from nitrosation reaction of 1-aminopyrene (1-AP) were used. The results demonstrated that non-polar extracts of all six food recipes had no mutagenesis to *S. typhimurium* strains TA 98 and TA100. However, in the absence of enzymatic activation, these extracts had anti-mutagenesis to the *S. typhimurium* strain TA 98 and TA100 mutated with 1-AP. The non-polar fractions from Phat phak khome sai mhu leare kung had the highest anti-mutagenesis followed by Keang nhor mai sai bai ya nang. This study provides preliminary data on the potential of Thai food recipes, which might be beneficial in anti-mutation or anti-cancer diets.

คำสำคัญ: การก่อกลายพันธุ์, การต้านการก่อกลายพันธุ์ และอาหารพืชผักพื้นบ้าน

Keywords: Mutagenicity, Anti-mutagenicity and local vegetable foods

บทนำ

สถิติของรายงานทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล (Hospital – Base Cancer Registry) ฉบับที่ 23 ของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ ในระหว่างวันที่ 1 มกราคม - 31 ธันวาคม 2550 พบว่าโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆ ของประชากรในประเทศไทย (สถาบันมะเร็งแห่งชาติ, 2550) โดยมะเร็งกระเพาะอาหารนับเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ มีรายงานว่ามะเร็งกระเพาะอาหารเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับสองของการเสียชีวิตจากมะเร็งทั้งหมดในโลก พบอุบัติการณ์ของมะเร็งกระเพาะอาหารสูงในประเทศจีน ญี่ปุ่น รัสเซีย อเมริกาใต้ เชื่อว่าสภาวะแวดล้อม อาหาร และสภาวะทางเศรษฐกิจเป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดโรค สำหรับในประเทศไทยมีรายงานโรคมะเร็งกระเพาะอาหารจำนวน 518 คน โดยพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิงสองเท่า อายุที่พบอยู่ระหว่าง 50-60 ปี ส่วนใหญ่เป็นมะเร็งกระเพาะอาหารชนิด adenocarcinoma พบร้อยละ 84 ส่วนใหญ่เราสามารถวินิจฉัยมะเร็งกระเพาะอาหารได้ในรายที่มีอาการแล้ว หรือมีการกระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะอื่น (Nancy et al. 1999)

ความสัมพันธ์ระหว่างอาหารกับมะเร็งเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเพื่อนำไปสู่การป้องกันการเกิดมะเร็ง การศึกษาในประเทศญี่ปุ่นชี้แนะว่า การเตรียมอาหารโดยการเผาย่างและรมควันทำให้เกิดผลิตผลที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียและสามารถทำให้สัตว์เป็นมะเร็งได้ ซึ่งเชื่อว่าเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดมะเร็งในคน (Furihata and Matsushima, 1986) ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีพืชผักผลไม้มากมายหลายชนิดที่ใช้เป็นอาหาร และหลายชนิดมีข้อบ่งใช้เป็นยารักษาโรคในตำรายาแผนโบราณ นอกจากนี้ยาแผนปัจจุบันบางชนิดที่ใช้รักษามะเร็งมีแหล่งที่มาเริ่มต้นจากพืช เช่น phenolics และflavonoids พบในขี้เหล็ก (Pitchaon et al., 2008), prenylated hydroquinones และ flavanone พบในใบชะพลู (Lydia et al., 2006), phenolics และ flavonoids พบในใบบัวบก, beta-carotene และ chlorophyll พบในผำ (Alicja et al., 2009), beta-carotene และ flavonoids พบในหน่อไม้ (Lu et al., 2006), beta-carotene และ flavonoids พบในผักโขม (Ozsoy et al., 2009) ดังนั้นการค้นหาสมุนไพรที่อาจมีศักยภาพป้องกันการก่อกลายพันธุ์ซึ่งช่วยลดสาเหตุสำคัญของการเกิดมะเร็งในมนุษย์ โดยเฉพาะสมุนไพรที่สามารถนำมาประกอบอาหารรับ

ประทานได้จึงมีความสำคัญต่อการพัฒนาศักยภาพพืชผักพื้นบ้านไทย

ด้วยคุณสมบัติในการป้องกันการก่อกลายพันธุ์ของกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระดังกล่าว ในพืชผักพื้นบ้าน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาถึงคุณสมบัติในการก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์ของอาหารพืชผักพื้นบ้านของกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข 6 ตำรับ ได้แก่ คั่วผำ แกงขี้เหล็กกับเนื้อวัว แกงหัวปลีกับซี่โครงหมูใส่ชะอมและใบชะพลู ผัดผักโขมใส่หมูและกุ้ง ยำใบบัวบก แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง ซึ่งข้อมูลการวิจัยและผลที่ได้จากการวิจัยนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงเพื่อส่งเสริมให้ประชาชนหันมาบริโภคอาหารที่ประกอบขึ้นจากพืชผักพื้นบ้าน เพื่อช่วยลดอัตราการเกิดโรคเนื่องจากความเสื่อมของร่างกายรวมทั้งโรคมะเร็งได้

วิธีการทดลอง

1. สารเคมีและเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้

สารก่อกลายพันธุ์ 1-Aminopyrene (1-AP) จาก Aldrich สารเคมีจาก Sigma คือ D-Biotin และ ammonium sulfamate สารเคมีจาก Fluka คือ D(+)-Glucose monohydrate, sodium ammonium hydrogen phosphate tetrahydrate สารเคมีจาก Merck คือ L-Histidine monohydrochloride, sodium chloride, hydrochloric acid, magnesium sulfate heptahydrate, citric acid monohydrate GR, potassium chloride, di-sodium hydrogen phosphate และ DMSO ส่วน Oxoid nutrient broth No.2 จากบริษัท Oxoid และ sodium nitrite จาก BDH เชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ได้รับการอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.แก้ว กังสดาลอำไพ สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

2. การเตรียมตัวอย่างอาหาร

เตรียมตัวอย่างอาหาร 6 ตำรับ โดยปรุงอาหารตามตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน ของกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข หลังจากนั้นนำมาสกัดสารสำคัญ โดยนำตัวอย่างอาหารที่เตรียมไว้ไปทำให้แห้ง โดยใช้เครื่อง Freeze drier ตัวอย่างอาหารที่แห้งสนิทแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างอาหารมาบดให้ละเอียด สกัดส่วนที่ไม่มีขั้วออกมาโดยใช้ n-hexane เป็นตัวทำละลาย ทำการสกัด 2 ครั้ง โดยใช้ n-hexane ครั้งละ 100 มิลลิลิตร และใช้เวลาสกัดครั้งละ 15 นาที จากนั้นเติมน้ำ 200 มิลลิลิตร สกัดต่อเป็นเวลา 5 นาที ตั้งทิ้งไว้จนส่วนน้ำและส่วนของ n-hexane แยกเป็นชั้นออกจากกัน กรองส่วนของน้ำและ n-hexane ผ่านกระดาษกรอง แยกใส่ขวด stock นำสารสกัดที่ไม่มีขั้วที่แยกได้มาระเหยโดยใช้เครื่อง evaporator แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างสารสกัดเพื่อหา % yield ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. % สารสกัดส่วนไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ

ตัวอย่างอาหาร	% สารสกัดส่วนไม่มีขั้ว
แกงขี้เหล็กกับเนื้อวัว	1.24
แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง	0.98
แกงหัวปลีกับซี่โครงหมูใส่ชะอมและใบชะพลู	1.12
ผัดผักโขมใส่หมูและกุ้ง	0.64
ยำใบบัวบก	0.73
คั่วผำกับหมู	0.80

3. การศึกษาการก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์

- การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์สำหรับทำการศึกษา

นำเชื้อ 10 µl *S.typhimurium* TA 100 และ TA 98 มาเลี้ยงในอาหาร oxiod nutrient broth (12 ml) แล้วนำมา incubate ใน orbital shaking incubator ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็ว 150 รอบ/นาที นาน 16 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด เจือจางเชื้อลง 8 เท่า ด้วย 0.9% NaCl เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตรจะได้ประมาณ 0.3-0.4

- การเตรียมสารก่อกลายพันธุ์

สารก่อกลายพันธุ์ คือ nitrosated products ซึ่งเตรียมได้จาก $NaNO_3$ ทำปฏิกิริยากับ 1-AP โดยเตรียมหลอดทดลอง 2 หลอด สำหรับ TA100 และ TA 98 โดยการเติม 0.2 N HCl 740 µl ,1-AP 10 µl และ 2M $NaNO_3$ 250 µl ตามลำดับ สำหรับ TA 98 และ 0.2 N HCl 710 µl, 1-AP 40 µl และ 2M $NaNO_3$ 250 µl ตามลำดับสำหรับ TA100 หลังจากนั้นนำสารที่เตรียมได้ทั้ง 2 หลอดไป Incubate บน Shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด หยุดปฏิกิริยาด้วยการแช่ในน้ำแข็งนาน 1 นาที และขั้นตอนสุดท้ายนำไปเติม 2M Ammonium sulfamate 250 µl ลงในทั้งสองหลอด และแช่ในน้ำแข็งอีก 10 นาที

- การทดสอบการก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์

การทดสอบการก่อกลายพันธุ์นำหลอดทดลองใหม่เติม Na_3PO_4 KCl buffer pH 7.4 500 µl และส่วนสารสกัดจากอาหารพืชผักพืชบ้านที่ละลายใน DMSO จำนวน 100 µl และเชื้อ *S. typhimurium* TA 100 หรือ TA 98 100 µl (เป็นเชื้อ *S. typhimurium* ที่เลี้ยงไว้ 16 ชั่วโมง ซึ่งวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร ได้ค่าช่วงประมาณ 0.3-0.4) Incubate บน Shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เมื่อครบกำหนดเติม Top agar ที่เติม Histidine และ biotin แล้ว 2 ml จากนั้นนำเทบน plate อาหาร แล้ว Incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนับจำนวนโคโลนีที่มีการเจริญโดยเปรียบเทียบกับ negative control (โดยจะใช้ DMSO ซึ่งเป็นสารละลายที่ใช้ละลายสารสกัด) ซึ่งทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำจำนวนโคโลนีที่ได้มาลบกันเพื่อดูจำนวน revertants โคโลนีที่เพิ่มขึ้นจากการทดสอบการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัด

ส่วนการทดสอบการต้านการก่อกลายพันธุ์จะมีการเติมสารก่อกลายพันธุ์ คือ nitrosated products ปริมาตร 100 µl เข้าไปในหลอดทดลองร่วมกับเติมสารสกัดจากอาหารพืชผักพืชบ้าน 100 µl และเชื้อ *S. typhimurium* หลังจากนั้นนำมาคำนวณ ค่าความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธ์ได้ 50% (IC_{50})

ผลการทดลอง

- การก่อกลายพันธุ์ของส่วนสกัดที่ไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ

ผลการทดสอบการก่อกลายพันธุ์ของส่วนสกัดที่ไม่มีขั้ว จากอาหารตามตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ ที่ความเข้มข้น 2, 8, 12 และ 24 mg/plate ทดสอบกับเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 กับ TA100 ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่พบการก่อกลายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. การก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดส่วนไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ

สารสกัดจากตำรับ	mg/plate	จำนวน revertants โคโลนี*ต่อ plate	
		TA98	**TA100**
แกงขี้เหล็กกับเนื้อวัว	0**	21 ±6	93 ±27
	24	12±3	95 ±61
	12	14 ±28	74 ±1
	8	20 ±6	13 ±18
	2	15 ±6	105 ±22
แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง	0**	21 ±6	93 ±27
	24	8 ±2	48 ±12
	12	12 ±3	62 ±126
	8	9 ±4	63 ±15
	2	11 ±5	149 ±18
แกงหัวปลีกับซี่โครงหมูใส่ชะอมและใบชะพลู	0**	21 ±6	93 ±27
	24	16 ±3	87 ±10
	12	16 ±1	79 ±15
	8	16 ±1	80 ±12
	2	18 ±8	78 ±6
ผัดผักโขมใส่หมูและกุ้ง	0**	21 ±6	93 ±27
	24	7±2	50 ±17
	12	5 ±3	85 ±30
	8	14 ±3	99 ±37
	2	10 ±3	40 ±9
ยำใบบัวบก	0**	21 ±6	93 ±27
	24	19±10	96 ±12
	12	11±10	89 ±17
	8	10±6	94 ±24
	2	11±1	97±18
คั่วผำกับหมู	0**	21 ±6	93 ±27
	24	12 ±12	141 ±20
	12	14 ±14	145 ±23
	8	11 ±11	124 ±22
	2	12 ±12	121 ±10

* ค่า mean ± SD. ของตัวอย่างในการทดลอง 3 ซ้ำ

** negative คือ DMSO

- การต้านการก่อกลายพันธุ์ของส่วนสกัดที่ไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ

จากการทดสอบการต้านการก่อกลายพันธุ์ของส่วนสกัดที่ไม่มีขั้ว ที่มีความเข้มข้นต่างกันต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ในระบบที่ไม่มีเอนไซม์กระตุ้น พบว่า ส่วนสกัดที่ไม่มีขั้ว มีการต้านการก่อกลายพันธุ์ในเชื้อ *S. typhimurium* ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยแสดงการต้านการก่อกลายพันธุ์ในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ โดยที่ผัดผักโขมใส่หมูและกุ้งมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์มากที่สุด ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.25 และ 0.58 mg/plate ต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 ตามลำดับ รองลงมาคือ แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.07 และ 1.35 mg/plate ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3. ค่าความเข้มข้นของสารสกัดส่วนไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับที่ต้านกลายพันธุ์ 50% (IC_{50}) ในระบบที่ไม่มีเอนไซม์กระตุ้น

สารสกัดจากตำรับ	IC_{50} (mg/plate)	
	TA 98	TA 100
แกงขี้เหล็กกับเนื้อวัว	3.31	7.79
แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง	1.07	1.35
แกงหัวปลีกับซี่โครงหมูใส่ชะอมและใบชะพลู	4.38	6.82
ผัดผักโขมใส่หมูและกุ้ง	0.25	0.53
ยำใบบัวบก	9.66	5.25
คั่วผำกับหมู	5.08	5.72

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

การศึกษาการก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์ของส่วนสกัดที่ไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ ของกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ได้แก่ แกงขี้เหล็กกับเนื้อวัว แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง แกงหัวปลีกับซี่โครงหมูใส่ชะอมและใบชะพลู ผัดผักโขมใส่หมูและกุ้ง ยำใบบัวบก คั่วผำกับหมู ซึ่งนำสารสกัดส่วนที่ไม่มีขั้วที่สกัดมาใช้ในการทดลอง โดยทำการศึกษาการก่อกลายพันธุ์และการต้านการก่อกลายพันธุ์ด้วย Ames test (*S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100) ในระบบที่ไม่มีเอนไซม์กระตุ้น

การทดลองครั้งนี้พบว่า ส่วนสารสกัดที่ไม่มีขั้วจากตำรับอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่พบการก่อกลายพันธุ์ และมีฤทธิ์ยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ของสารก่อกลายพันธุ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไน ไตรทและ 1-AP ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของมลฤดี (2552) พบว่าอาหารไทย 22 ตำรับ มีฤทธิ์ในการต้านการก่อกลายพันธุ์ซึ่งกลุ่มอาหารไทยที่ให้ผลในการยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ระดับสูงได้แก่ ผัดคะน้าน้ำมันหอยไก่ทอดสมุนไพรทอดมันปลากรายแกงเลียงไข่เจียวใส่หอมหัวใหญ่และมะเขือเทศ ผัดกะเพรากุ้งใส่ถั่วฝักยาว แกงเผ็ดเป็ดย่าง แกงจืดตำลึง ไก่ผัดเม็ดมะม่วงหิมพานต์ส้มตำไทยและผัดผักรวมน้ำมันหอย

โดยผลการศึกษาครั้งพบว่าสารสกัดที่ไม่มีขั้วสามารถยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ใน *S.typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ซึ่งมีลักษณะการก่อกลายพันธุ์แบบ Frameshift Mutation และ TA 100 ที่การก่อกลายพันธุ์แบบ Base-Pair Substitution การสกัดตัวอย่างอาหารด้วย n-hexane ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เพื่อให้ได้สารสำคัญที่ไม่มีขั้วเป็นวิธีที่นิยมใช้สำหรับการศึกษาส่วนสกัดของพืชสมุนไพรระยะเริ่มต้นก่อน

ศึกษาสารประกอบสำคัญ (Ursula et al., 2005) จากการศึกษาของ Loes and Jan (1985) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารประกอบในธรรมชาติโดยใช้ benzo- [α]pyrene เป็นสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐานทดสอบในเชื้อ *S.typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 พบว่า ellagic acid, riboflavin และ chlorophyllin chlorophyll *a* และ chlorophyll *b* มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ที่เหนี่ยวนำโดย benzo[α]pyrene (Loes and Jan,1985) และ Rauscher (1998) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของแคโรทีนอยด์ในผลไม้ที่สกัดด้วย *n*-hexane, dichloromethane, acetone และ 2-propanol ซึ่งใช้aflatoxin B1 (AFB1), benzo[α]pyrene(BaP), 2-amino-3-methylimidazow4,5-*f*,xquinoline(IQ), cyclophosphamide pyrene (CP) เป็นสารก่อกลายพันธุ์มาตรฐานทดสอบในเชื้อ *S.typhimurium* พบว่าสารสกัดจาก พริก แครอท และมะเขือเทศ มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์และให้ผลตอบสนองแบบเป็น dose-response curve (Rauscher,1998)

โดยจากผลการทดสอบการก่อกลายพันธุ์พบว่าส่วนสกัดที่ไม่มีขั้วจากตำรับพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าตำรับอาหารมีความปลอดภัยในแง่การส่งผลเปลี่ยนแปลง DNA หรือยีนที่อาจส่งผลก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเกิดมะเร็งจากสารเคมี (บังอร และคณะ, 2544) และผลจากการศึกษาพบว่าส่วนสกัดที่ไม่มีขั้วจากตำรับพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับ มีการต้านการก่อกลายพันธุ์โดยตัวอย่างอาหารทุกชนิดให้ผลตอบสนองแบบไม่เป็น dose-response curve (ไม่แสดงข้อมูล) นอกจากนี้ตัวอย่างอาหารทั้ง 6 ตำรับยังแสดงการต้านการก่อกลายพันธุ์สูงสุดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เนื่องจากตัวอย่างอาหารพืชผักพื้นบ้าน 6 ตำรับนี้มีสารสำคัญที่มีบทบาทในการต้านการก่อกลายพันธุ์ในอาหารแต่ละชนิดมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกันไปตามส่วนประกอบของอาหาร

ดังนั้นอาหารพืชผักพื้นบ้านทั้ง 6 ตำรับ ได้แก่ แกงขี้เหล็กกับเนื้อวัว แกงหน่อไม้ใส่ใบย่านาง แกงหัวปลีกับซี่โครงหมูใส่ชะอมและใบชะพลู ผัดผักโขมใส่หมูและกุ้ง ยำใบบัวบก คั่วผำกับหมู นับเป็นอาหารสุขภาพอย่างแท้จริง อาจจะสามารถช่วยลดความเสื่อมของร่างกายและอาจป้องกันมะเร็งได้

กิติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอขอบคุณมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่สนับสนุนทุนการวิจัยครั้งนี้ จากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ. 2552 และขอขอบคุณ รศ.ดร.แก้ว กังสดาลอำไพ ที่อนุเคราะห์ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100

เอกสารอ้างอิง

บังอร ศรีพานิชกุลชัยและคณะ. 2544. ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสมุนไพรท้องถิ่น 8 ชนิด. **วารสารวิจัย มข** 6(1): 23-33.

มลฤดี สุขประสารทรัพย์. 2552 ตำรับอาหารลดเสี่ยงโรคมะเร็ง. ที่มา: หนังสือพิมพ์สยามรัฐ. [ออนไลน์]. [อ้างเมื่อ 10 กรกฎาคม 2552]. เข้าถึงได้จาก: http://www.thaihealth. or.th /node/4947.

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ. 2550. สถิติของรายงานทะเบียนมะเร็งระดับโรงพยาบาล.

Alicja Piotrowsk, Andrzej Bajguz, Romuald Czerpak, Katarzyna Kot. 2009. Changes in the growth, chemical composition, and antioxidant activity in the aquatic plant *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. (Lemnaceae) Exposed to Jasmonic Acid. **J Plant Growth Regul** 29: 53–62.

Furihata C, Matsushima T.1986. Mutagens and Carcinogens in Foods. **Ann. Rev. Nutr.** 6: 67-94.

Loes T, Jan C. 1985. Antimutagenic activity of some naturally occurring compounds towards cigarette-smoke condensate and benzo[*a*] pyrene in the Salmonella/microsome assay. **Mutation Research** 152(1): 1-4 .

Lu B, Wu X, Shi J, Dong Y, Zhang Y. 2006. Toxicology and safety of antioxidant of bamboo leaves. Part 2: developmental toxicity test in rats with antioxidant of bamboo leaves. **Food Chem. Toxicol** 44(10): 1739-43.

Lydia F Yamaguchi, João Henrique G Lago, Tatiane M Tanizaki, Paolo Di Mascio, Massuo J Kato. 2006. Antioxidant activity of prenylated hydroquinone and benzoic acid derivatives from Piper crassinervium Kunth. **Phytochemistry** 67(16): 1838-43.

Ozsoy N, Can A, Yanardag R, Akev N. 2009. Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. **Food Chem** 110: 571–583.

Nancy K. et al. 1999. Hepatic arterial infusion of chemotherapy after resection of hepatic metastases from colorectal cancer. **N Engl J Med** 341(27): 2039-2048.

Pitchaon Maisuthisakul, Sirikarn Pasuk, Pitiporn Ritthiruangdej. 2008. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. **J FOOD COMPOS ANAL** 21(3) : 229-240.

Rauscher R. 1998. In vitro antimutagenic and in vivo anticlastogenic effects of carotenoids and solvent extracts from fruits and vegetablesrich in carotenoids. **Mutation Research** 413:129–142

Ursula M, Rosa M, Patricia S. 2005. Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. **FOOD RES INT** 38: 885-891.