การประเมินคุณสมบัติทางพฤษเคมีของหญ้าขัดมอญใบยาวและผลการเสริมในอาหารต่อความเข้มข้นพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมาของไก่โคราช

Evaluation of phytochemical properties of Sida acuta Burm.f. and its dietary supplement effect on plasma purine, purine derivative and uric acid concentrations of Korat chickens

อาภรณ์ คิมเข้ม[1] และ สุทิศา เข็มผะกา[1*]

Arporn Khimkem[1] and Sutisa Khempaka[1*]

บทคัดย่อ: การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินคุณสมบัติทางพฤษเคมีของหญ้าขัดมอญใบยาวและผลการเสริมในอาหารต่อความเข้มข้นสารพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมาของไก่โคราช โดยใช้ไก่โคราชคละเพศที่อายุ 3 สัปดาห์ จำนวน 40 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่มทดลอง ๆ ละ 8 ซ้ำ ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยเลี้ยงไก่แต่ละตัวในกรงขังเดี่ยว เป็นระยะเวลา 10 วัน อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม 1) กลุ่มควบคุมลบ 2) กลุ่มควบคุมบวก (อัลโลพูรินอล 25 มก./กก.อาหาร) 3) หญ้าขัดมอญใบยาว 0.28% (ฟลาโวนอยด์ 25 มก./กก.อาหาร) 4) หญ้าขัดมอญใบยาว 0.56% (ฟลาโวนอยด์ 50 มก./กก.อาหาร) และ5) หญ้าขัดมอญใบยาว 1.12% (ฟลาโวนอยด์ 100 มก./กก.อาหาร) ผลการศึกษาพบว่าหญ้าขัดมอญใบยาวมีสารประกอบฟลาโวนอยด์แบบหยาบทั้งหมด 8,930 มก./กก. เคมเฟอรอล 311 มก./กก. ค่าความเข้มข้นที่สารสกัดสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ 50% เท่ากับ 464.29 มคก. สารสกัด/มล. การเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวในอาหารไก่โคราช 0.28% และ 0.28-0.56% สามารถลดความเข้มข้นสารไฮโพแซนทีนและกรดยูริกในพลาสมาลงได้ตามลำดับ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสนใจว่าการเสริมอัลโลพูรินอลมีผลทำให้เกิดสารพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมาสูงที่สุด จากการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า หญ้าขัดมอญมีคุณสมบัติในการลดการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ โดยการเสริมในอาหารไก่โคราชในระดับที่เหมาะสมสามารถลดการผลิตพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกได้

คำสำคัญ: หญ้าขัดมอญใบยาว, แซนทีนออกซิเดส, ฟลาโวนอยด์, อัลโลพูรินอล, กรดยูริก

ABSTRACT: This study aimed to investigate the phytochemical properties of Sida acuta Burm.f. and its dietary supplement effect on plasma purine, purine derivative and uric acid concentrations of Korat chickens. A total of 40 Korat chickens (mixed sex) aged 3 weeks were randomly allotted to 5 groups of 8 birds each in a Completely Randomized Design (CRD). The birds were placed in individual cages for 10 days. The experimental diets consisted of 5 groups 1) negative control 2) positive control

Received December 12, 2018

Accepted June 12, 2019

1สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัฒกรรมทางสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 30000

School of Animal Technology and Innovation, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology 30000

*Corresponding author: khampaka@sut.ac.th

(25 mg allopurinol/kg feed) 3) 0.28% Sida acuta Burm.f. (25 mg flavonoids/kg feed) 4) 0.56% Sida acuta Burm.f. (50 mg flavonoids/kg feed) and 5) 1.12% Sida acuta Burm.f. (100 mg flavonoids/kg feed). The result showed that Sida acuta Burm.f. contained 8,930 mg/kg of crude flavonoids, 311 mg/kg of keamferol and the half maximal inhibitory concentration on xanthine oxidase was 464.29 µg extracts /ml. The supplementation of *Sida acuta* Burm.f. in Korat chicken diets at levels of 0.28% and 0.28-0.56% was shown to significantly decrease plasma hypoxanthine and uric acid concentrations ($P<0.05$) respectively. However, it is interesting to note that feeding allopurinol resulted in highest numberical value of plasma purine, purine derivative and uric acid concentrations. In conclusion, it is indicated that the *Sida acuta* Burm.f. has significant inhibitory effect on xanthine oxidase and the optimal dietary supplementation can be decreased the plasma purine, purine derivative and uric acid concentrations in Korat chickens.
Keywords: *Sida acuta* Burm.f., xanthine oxidase, flavonoids, purines, uric acid

บทนำ

ปัจจุบันการบริโภคเนื้อไก่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเนื้อไก่เป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ที่มีราคาถูกและ คุณภาพดี ผู้บริโภคทุกระดับสามารถเข้าถึงได้ แต่ทว่าเนื้อไก่จัดเป็นอาหารกลุ่มที่มีพิวรีนและกรดยูริกปานกลางถึงสูง (Kaneko et al., 2014) ทำให้เป็นข้อจำกัดสำหรับผู้บริโภคบางกลุ่ม เช่น ผู้ป่วยโรคเกาต์และผู้ที่มีแนวโน้มเสี่ยงต่อการเป็นโรคเกาต์ (Ellington, 2005) การผลิตเนื้อไก่สุขภาพ (healthy meat) ให้มีพิวรีนและกรดยูริกต่ำลงอาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่จะลดข้อจำกัดในการบริโภคเนื้อไก่สำหรับผู้บริโภคบางกลุ่มลงได้ จากการศึกษาวิถีเมแทบอลิซึมของพิวรีนพบว่าเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนอนุพันธ์พิวรีนในสองขั้นตอนสุดท้ายโดยเปลี่ยนไฮโพแซนทีนเป็นแซนทีนและเป็นกรดยูริกตามลำดับ (James and Russ, 2008) ดังนั้นเพื่อลดกรดยูริก การรักษาโรคเก๊าต์ในคนจึงมีการใช้ยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส อาทิ อัลโลพูรินอล (allopurinol) โพรเบเนซิด (probenecid) เป็นต้น (Mandell, 2002; Aggarwal et al., 2011) แต่อย่างไรก็ตามนอกจากยาที่กล่าวมาข้างต้นแล้วยังพบว่าสารฟลาโวนอยด์จากพืชก็มีคุณสมบัติในการลดกรดยูริกเช่นเดียวกัน เนื่องจากสารฟลาโวนอยด์เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) (Yao et al., 2004; Van and Montoro, 2009) มีฤทธิ์ต้านการทำงานเอนไซม์หลายชนิด เช่น ไซโคลออกซีจีเนส (cyclooxygenase) ลิพอกซีจีเนส (lipoxygenase) (James and Russ, 2008; Konate et al., 2010) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารฟลาโวนอยด์ที่มีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม ลูทิลิน เคมเฟอรอล และเควอซิติน พบว่าสามารถออกฤทธิ์ต้านการทำงานเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้สูง (Nagao et al., 1999) โดยพืชที่มีสารฟลาโวนอยด์สูง เช่น กิงโกะ (Cao et al., 2012; Niu et al., 2016) ใบหม่อน (Lin et al., 2016) ชาเขียว ชาดำ (Wang and Helliwell, 1998) และหญ้าขัดมอญ (Nagao et al., 1999; Jindal et al. 2012; Raimi et al., 2014) เป็นต้น

หญ้าขัดมอญเป็นพืชในวงศ์ Malvaceae พบได้ในเขตร้อนถึงอบอุ่น มี 4 สายพันธุหลัก ๆ ที่นิยมนำมาศึกษาและใช้เป็นสมุนไพรประกอบด้วย หญ้าขัดมอญใบป้อม (*Sida cordifolia* L.) หญ้าขัดมอญหลวง (*S. corylifolia* Wall.) หญ้าขัดมอญใบมน (*S. rhombifolia* L.) และหญ้าขัดมอญใบยาว (*S. acuta* Burm. f.) (Halde, 2011) แต่พบว่าหญ้าขัดมอญใบยาวเป็นสายพันธุ์ที่ตรวจพบสารพฤกษเคมี (phytochemicals) หลากหลายชนิดมากกว่าสายพันธุ์อื่น (Asha et al., 2018) อาทิ ซาโปนิน (saponin) สเตียรอยด์ (steroid) แทนนิน (tannin) ฟีโนลิก (phenolic) คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiacglycoside) แอลคาลอยด์ (alkaloid) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) (Nacoulma, 1996; Konate et al., 2010; Ramai et al., 2014; Asha et al., 2018) โดยสารพฤกษเคมีหลัก ๆ อยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์และแอลคาลอยด์ ทั้งนี้สารออกฤทธิ์สามารถพบได้ทั้งในรากและใบ แต่ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่พบมากสุดในใบ (Prakash et al., 1981; Konate et al., 2010; Ramai et al., 2014) นอกจาก

คุณสมบัติต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสแล้วฟลาโวนอยด์ยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Yao et al., 2004; Van and Montoro, 2009) ต้านแบคทีเรีย (antibacterial) ต้านการอักเสบ (anti-inflamatory) (Iniaghe et al., 2009)

โดยมีการศึกษาและวิจัยเพื่อใช้หญ้าขัดมอญใบยาวเป็นพืชสมุนไพร (medical plant) อย่างแพร่หลาย อาทิ ใช้รักษาโรคมาลาเรีย (malaria) หนองใน (gonorrhea) (Edeoga et al., 2005; Saganuwan and Gulumbe, 2006; Konate et al., 2010; Raimi et al., 2014) โรคผิวหนัง (dermatitis) ไวรัสตับอักเสบบี (hepatitis B) (Nacoulon, 1996) ไข้หวัด (fever) และหวัดเรื้อรัง (chronic catarrh) (Ramai et al., 2014) และด้วยคุณสมบัติดังกล่าวในข้างต้นจึงอาจมีความเป็นไปได้ในการใช้สารฟลาโวนอยด์จากหญ้าขัดมอญใบยาวเพื่อผลิตเนื้อไก่สุขภาพที่มีพิวรีนและกรดยูริกต่ำ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาคุณสมบัติฤทธิ์ต้านการทำงานเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของหญ้าขัดมอญใบยาวและผลของหญ้าขัดมอญใบยาวเมื่อเสริมในอาหารไก่โคราช ต่อความเข้มข้นพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมา

วิธีการศึกษา

การเตรียมหญ้าขัดมอญใบยาว

ทำการเก็บรวบรวมหญ้าขัดมอญใบยาวระหว่างเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม (ระยะก่อนออกดอก) โดยนำเฉพาะส่วนใบมาทำความสะอาดและอบที่อุณหภูมิ 40 oC เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นนำมาบดละเอียดผ่านตะแกรง 1 มม. เพื่อเตรียมสำหรับวิเคราะห์สิ่งแห้ง โปรตีน เยื่อใย ไขมัน เถ้า และนำไปสกัดสารออกฤทธิ์

การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์

ทำการสกัดสารฟลาโวนอยด์ตามวิธี Jindal et al. (2012) โดยชั่งตัวอย่างบดละเอียด 1 ก. เติมเอทานอล 80% จำนวน 80 มล. นำไปสกัดที่อุณหภูมิ 90 0C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) และเอทิล อะซิเตท (ethyl acetate) ชนิดละ 80 มล. ทิ้งให้แยกชั้นในกรวยแยกชั้น เก็บเฉพาะสารสกัดส่วนบนและเติมด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 7% จำนวน 80 มล. สกัดต่ออีก 2 ชั่วโมง นำไประเหยสารละลายออก ชั่งน้ำหนักเพื่อนำไปคำนวนสารฟลาโวนอยด์หยาบ (crude flavonoids) และนำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 0C เพื่อรอวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์และทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase) ในหลอดทดลอง

ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านการทำงานเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสจากสารสกัดหญ้าขัดมอญใบยาวในข้างต้น ด้วยการวัดการสร้างกรดยูริกโดยประยุกต์วิธีของ Sarawek (2007) ดังนี้ โดยเตรียมสารสกัดหญ้าขัดมอญใบยาวที่ระดับความเข้ม 100 300 500 และ1000 มคก.สารสกัด/มล. เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ความเข้มข้น 0.1 โมล pH 7.8 แซนทีนบัฟเฟอร์ (xanthine buffer) ความเข้มข้น 400 มคม. และเตรียมสารละลายเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase buffer) 0.4 ยูนิต/มล.ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 มลม. pH 7.8 ในการทดลองครั้งนี้ใช้ยาอัลโลพูรินอลเป็นสารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 10 25 50 100 และ 400 มคม./มล. และเตรียมสารสกัดจากหญ้าขัดมอญใบยาวในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 มลม. ที่ระดับความเข้ม 100 300 500 และ1000 มคก.สารสกัด/มล. จากนั้นเติมสารละลายแซนทีนบัฟเฟอร์ (xanthine buffer) 66 มคล. และสารละลายเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (0.4 ยูนิต/มล.) 7 มคล.ลงในหลอดที่มีสารละลายมาตรฐานและหลอดตัวอย่าง นำไปบ่มที่อุณภูมิ 37 0C เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ 295 นาโมเมตร โดยใช้สารละลายเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (0.4 ยูนิต/มล.) เป็นตัวเปรียบเทียบ (blank) และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวน % Xanthine oxidase inhibition ตามสมการดังนี้

% Xanthine oxidase inhibition = (1-B/A) x 100

โดย A: ค่าการเปลี่ยนการดูดกลืนแสงที่ปราศจากตัวอย่าง (Δ abs with enzyme - Δ abs without

enzyme) B: ค่าการเปลี่ยนการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (Δ abs with enzyme - Δ abs without enzyme)

การทดสอบการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวในอาหารไก่โคราชต่อความเข้มข้นพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมา

สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่โคราชคละเพศอายุ 1 วัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 42 ก. ไก่ทุกตัวได้รับวัคซีนป้องกันโรคมาเร็กจากโรงฟักของฟาร์มมหาวิทยาลัย ทำวัคซีนป้องกันโรคกัมโบโรที่อายุ 14 วัน โรคนิวคาสเซิลและโรคหลอดลมอักเสบที่อายุ 7 และ 21 วัน เลี้ยงจนถึงอายุ 21 วัน จึงสุ่มไก่จำนวน 40 ตัว ขึ้นเลี้ยงบนกรงขังเดี่ยว โดยทำการแบ่งไก่ออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ซ้ำ มีระยะเวลาทดลอง 10 วัน ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ไก่ทุกตัวได้รับอาหารปริมาณเท่ากันและให้น้ำอย่างเต็มที่

Table 1 Ingredient and nutrient composition of the experimental diets

			Sida acuta Burm.f. level (%)		
	Control	Allopurinol (25 mg)	0.28	0.56	1.12
Corn	53.74	53.74	53.63	53.58	53.48
Meat meal, 60% CP	4.05	4.05	4.05	4.05	4.05
Soybean meal, 44% CP	25.64	25.64	25.53	25.41	25.17
Full fat soybean	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Rice bran oil	3.20	3.20	3.38	3.56	3.92
Cassava starch	4.50	4.50	4.22	3.94	3.38
DL-methionine	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
L-lysine	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Threonine	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Sida acuta Burm.f.	0.00	0.00	0.28	0.56	1.12
Allopurinol	0.00	0.0025	0.00	0.00	0.00
NaCl	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
Calcium carbonate	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
Monocalcium Phosphate	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86
Premix[1]	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Calculated composition (%)					
ME (kcal/kg diet)	3,150	3,150	3,150	3,150	3,150
Calcium	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90
Available phosphorus	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Digestible lysine	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Methionine	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
Methionine + Cystine	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73
Threonine	0.73	0.73	0.74	0.74	0.74
Analyzed composition (%)					
Crude protein	20.43	20.43	20.42	20.44	20.43
Crude fiber	3.31	3.31	3.34	3.37	3.43
Ether extract	7.01	7.01	7.20	7.38	7.73

อาหารทดลอง

อาหารทดลองทั้งหมดคำนวณให้มีระดับของโปรตีนและพลังงานเท่ากัน ตามคำแนะนำของ Maliwan (2016) นอกจากนี้ยังมีการเปรียบเทียบกับอัลโลพูรินอลซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาภาวะยูริคในเลือดสูงและรักษาโรคเกาท์ อาหารทดลองมี 5 กลุ่ม ประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุม (control) 2) กลุ่มควบคุม + ยาอัลโลพูรินอล 3) หญ้าขัดมอญใบยาว 0.28% (ฟลาโวนอยด์ 25 มก./กก.อาหาร) 4) หญ้าขัดมอญใบยาว 0.56% (ฟลาโวนอยด์ 50 มก./กก.อาหาร) 5) หญ้าขัดมอญใบยาว 1.12% (ฟลาโวนอยด์ 100 มก./กก.อาหาร)

การบันทึกข้อมูลและการเก็บเลือด

ทำการบันทึกน้ำหนักตัว และปริมาณอาหารที่กินทุกวัน ส่วนอัตราการตายบันทึกทุกครั้งที่มีไก่ตาย เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการอดอาหารไก่ 2 ชั่วโมง เพื่อเก็บเลือดสำหรับใช้ในการวัดพิวรีนอนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริก โดยเจาะเลือดบริเวณปีก (wing vein) ใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 23 ความยาว ½ นิ้ว กระบอกฉีดยาขนาด 3 มล. นำตัวอย่างเลือดใส่ในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัว จากนั้นนำเลือดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 rpm อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที เก็บพลาสมาเพื่อวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variances, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DUNCAN) โดยใช้ SPSS 16.0 software และใช้ Orthogonal contrasts เพื่อเปรียบเทียบ 1) ความแตกต่างค่าเฉลี่ยในกลุ่มอาหารควบคุม vs. กลุ่มการเสริมอัลโลพูรินอล 2) ความแตกต่างค่าเฉลี่ยในกลุ่มอาหารควบคุม vs. กลุ่มการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาว และ 3) ความแตกต่างค่าเฉลี่ยในกลุ่มการเสริมอัลโลพูรินอล vs. กลุ่มการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาว

ผลการศึกษาและวิจารณ์

คุณค่าทางโภชนะและสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในหญ้าขัดมอญใบยาว

คุณค่าทางโภชนะและสารออกฤทธิ์ของหญ้าขัดมอญใบยาวแสดงไว้ใน Table 2 โดยพบว่าหญ้ามีองค์ประกอบของสิ่งแห้ง โปรตีน เยื่อใย เถ้า และไขมันเท่ากับ 89.57 20.91 14.38 10.85 และ1.45% ตามลำดับ และหญ้าขัดมอญใบยาวมีสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 8,930±0.76 มก./กก. เคมเฟอรอลเท่ากับ 311 มก./กก. แต่ตรวจไม่พบเควอซิติน สารออกฤทธิ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับ Jindal et al. (2012) และ Raimi et al. (2014) ที่รายงานการตรวจพบสารฟลาโวนอยด์ในหญ้าขัดมอญใบยาวมีค่าเท่ากับ 8,500 และ12,550 มก./กก.ตามลำดับ รวมถึงสอดคล้องกับ Prakash et al. (1981) ที่รายงานว่าสารออกฤทธิ์หลัก ๆ ที่พบในหญ้าขัดมอญใบยาวอยู่ในกลุ่มของ C.O-glycosylated flavonol และ kaempferol-diglycoside ทั้งนี้ปริมาณสารออกฤทธิ์ขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพอาทิ ความอุดมสมบูรณ์ของต้น ขนาดใบ และช่วงอายุในการเก็บเกี่ยวโดย พบว่าที่อายุ 6 เดือนมีสารออกฤทธิ์มากที่สุด (Prakash et al., 1981) แต่อย่างไรก็ตามการใช้หญ้าขัดมอญใบยาวในอาหารไก่ควรคำนึงปริมาณเยื่อใยในอาหารโดยเฉพาะในไก่เล็ก (0-3 สัปดาห์)

ความสามารถของหญ้าขัดมอญในการต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

ความสามารถของหญ้าขัดมอญใบยาวในการต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเปรียบเทียบกับยาอัลโลพูรินอลแสดงใน Table 3 โดยพบว่าหญ้าขัดมอญใบยาวมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเช่นเดียวกับยาอัลโลพูรินอล ซึ่งฤทธิ์ในการต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของหญ้าขัดมอญใบยาวเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยสารสกัดจากหญ้าขัดมอญใบยาวที่ระดับความเข้มข้น 1000 มคก. สารสกัด/มล. มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส 83.06% ซึ่งความสามารถของหญ้าขัดมอญใบยาวในการยับยั้ง

เอนไซม์แซนทีนออกซิเดสอาจเนื่องมาจากหญ้าขัดมอญใบยาวมีสารฟลาโวนอยด์ที่โครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) ที่คาร์บอนตำแหน่ง 5 และ 7 ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสสูง โดยหมู่ไฮดรอกซิลเหล่านี้จะถูกเติมลงในคาร์บอนของแซนทีนตำแหน่งที่ 2 และ 6 ซึ่งเป็นบริเวณเร่ง (active site) ต่อเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส จึงทำให้เอนไซม์แซนทีนออกซิเดสไม่สามารถเปลี่ยนแซนทีนไปเป็นผลิตภัณฑ์ตัวสุดท้ายในรูปของกรดยูริกได้ (Chang et al., 1993; Cotelle et al., 1996)

Table 2 Determination of crude flavonoids, bioactive compounds and chemical compositions of *Sida acuta* Burm.f.

Items	
Dry matter (%)	89.57
Crude protein (%)	20.91
Crude fiber (%)	14.38
Ash (%)	10.85
Ether extract (%)	1.45
Goss energy (kcal/kg)	3,964
Crude flavonoid (mg/kg)	8,930±0.76
Keamferol (mg/kg)	311
Quercetin (mg/kg)	Not detected

ดังนั้นจึงเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสแบบแข่งขัน (competitive) ทั้งนี้เคมเฟอรอลเป็นสารออกฤทธิ์หลักในหญ้าขัดมอญใบยาว โดยภายในโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่ง 3, 5, 7, 4'-OH (Havsteen, 2002) ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ค่าความเข้มข้นสารออกฤทธิ์ยับยั้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ หรือ IC50 ของสารสกัดจากหญ้าขัดมอญใบยาวและอัลโลพูรินอลเท่ากับ 464.29 มคก.สารสกัด/มล. และ 70.27 มคม. หรือ 9.56 มคก./มล. ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้แม้ว่าสารสกัดจากหญ้าขัดมอญใบยาวมีฤทธิ์ต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสที่ต่ำกว่ายาอัลโลพูรินอล 48.5 เท่า แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเอกสารมีการรายงานผลข้างเคียงจากการใช้ยาอัลโลพูรินอลในผู้ป่วย อาทิ ไตอักเสบ (Stote et al., 1980) โลหิตจาง (Ohno et al., 1990) ไตวาย (Okafuji et al., 1990) เป็นต้น ดังนั้นสารสกัดจากหญ้าขัดมอญใบยาวจึงอาจเป็นสมุนไพรอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้สำหรับต้านการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส

Table 3 Inhibitory activity on xanthine oxidase of *Sida acuta* Burm.f. compared to allopurinol

Tested materials	Concentration	[1]XO inhibition (%)	[2]IC_{50}
Allopurinol (µM)	400	83.06	70.27
	200	75.03	
	100	53.24	
	50	46.70	
	25	43.92	
	10	37.38	
Sida acuta Burm.f. (µg/ml)	1000	84.76	464.29
	500	53.53	
	400	46.10	
	200	34.94	
	100	22.68	

[1]XO = xanthine oxidase, [2]IC_{50} = half maximal inhibitory concentration

ผลการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวในอาหารไก่โคราชต่อความเข้มข้นสารพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมา

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นสารพิวรีนและอนุพันธ์พิวรีนในพลาสมาของไก่โคราชแสดงใน Table 4 พบว่ากลุ่มการทดลองที่มีการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวมีความเข้มข้นสารไฮโพแซนทีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ($p<0.05$) และมีความเข้มข้นสารไฮโพแซนทีน แซนทีน กัวนีน พิวรีนทั้งหมดต่ำกว่ากลุ่มการเสริมอัลโลพูรินอล 25 มก./กก.อาหาร ($p<0.05$) โดยการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวที่ระดับ 0.28% (ฟลาโวนอยด์ 25 มก./กก.อาหาร) สามารถลดความเข้มข้นสารไฮโพแซนทีนในพลาสมาได้ ($p<0.05$) นอกจากนี้การเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวที่ระดับ 0.28% และ 0.56% สามารถลดความเข้มข้นกรดยูริกในพลาสมาได้ ($p<0.05$) ดังแสดงใน Figure 1 โดย Guoyao (2013) รายงานว่าการสะสมพิวรีนและกรดยูริกในเนื้อไก่ เกิดจากกล้ามเนื้อสามารถดูดซึมสารไฮโพแซนทีนจากระบบไหลเวียนเลือดผ่านทางเส้นเลือดแดง (arterial blood) จากนั้นจึงเปลี่ยนสารไฮโพแซนทีนเป็นกรดยูริกตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของ Carro et al. (2010); Settle et al. (2012) พบว่าความเข้มข้นกรดยูริกในพลาสมาที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับการลดลงของกรดยูริกที่สะสมในเนื้อเยื่อตับและไต จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นสารไฮโพแซนทีนและกรดยูริกในพลาสมาที่ลดลง อาจนำไปสู่การลดการสะสมสารอนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในเนื้อไก่ได้ อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสนใจว่าการเสริมอัลโลพูรินอล 25 มก./กก.อาหาร มีผลทำให้ความเข้มข้น สารพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมาสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า การใช้ยาอัลโลพูรินอลในเหยี่ยวส่งผลให้ความเข้มข้นสารไฮโพแซนทีน แซนทีน และกรดยูริกในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากผลิตภัณฑ์ตัวสุดท้ายของยาอัลโลพูรินอล คือ ออกซิพูรินอล (oxypurinol) มีความเป็นพิษและตกค้างในไต ทำให้ไตถูกทำลาย (Lumeij et al., 1998; Poffers et al., 2002) แต่ในอีกกลไกหนึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการกดการทำงานเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสที่มากเกินไปร่างกายจึงต้องปรับระดับกรดยูริกให้สมดุลโดยเพิ่มการทำงานเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสให้มากขึ้น อีกทั้งยาอัลโลพูรินอลที่เกินพอยังสามารถเป็นสารตั้งต้นกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Carro et al., 2010) นอกจากนี้สารไฮโพแซนทีน และแซนทีนที่เพิ่มขึ้นในพลาสมายังสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นย้อนกลับไปกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้เช่นกัน (Strirpe and Della Corte, 1965) ดังนั้น ความเข้มข้นสารพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมาที่เกิดขึ้นจากการการเสริมอัลโลพูรินอล 25 มก./กก. อาหารอาจเกิดจากความสามารถในการกำจัดของเสียต่างๆ ของไตลดลง และการกดการทำงานเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส จากการศึกษาและค้นคว้าเอกสารครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้สารต้านฤทธิ์การทำงานเอนไซม์แซนทีน ออกซิเดส ปริมาณสูงมากเกินไปในไก่ มีผลเชิงลบทำให้เกิดการผลิตสารไฮโพแซนทีน แซนทีน และกรดยูริกในพลาสมาสูงขึ้น ดังนั้นการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวหรือแหล่งฟลาโวนอยด์จากพืชชนิดอื่น ๆ ในอาหารไก่ ควรทราบถึงปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่แน่นอนเพื่อใช้คำนวนในสูตรอาหารได้อย่างแม่นยำเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการลดสารไฮโพแซนทีน แซนทีน และกรดยูริก

สรุปและข้อเสนอแนะ

หญ้าขัดมอญใบยาวมีสารฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบประมาณ 8,930 มก./กก.โดยมีเคมเฟอรอลเป็นสารออกฤทธิ์หลัก ซึ่งสารดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการทำงานเอนไซม์แซนทีนอออกซิเดสโดยมีฤทธิ์การยับยั้งที่ IC50 เท่ากับ 464.29 มคก.สารสกัด/มล. โดยการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวในอาหารไก่โคราช พบว่าสามารถลดความเข้มข้นสารอนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกในพลาสมาได้ โดยระดับการเสริมที่เหมาะสม คือ 0.28% ซึ่งระดับดังกล่าวประกอบด้วยสารฟลาโวนอยด์ 25 มก./กก.อาหาร แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าความเข้มข้นของสารอนุพันธ์พิวรีนและกรดยูริกในเลือดจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณอนุพันธ์ พิวรีนและกรดยูริกในเนื้อก็ตาม แต่ควรทดสอบการเสริมหญ้าขัดมอญใบยาวในอาหารไก่โคราชในระยะเวลาที่นานขึ้น และทำการวัดปริมาณการสะสมพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกที่ในเนื้อ จะสามารถบ่งชี้คุณสมบัติของหญ้าขัดมอญใบยาวเพื่อนำไปสู่การผลิตเนื้อไก่สุขภาพได้ดียิ่งขึ้น

Table 4 Effects of *Sida acuta* Burm.f. on plasma purine and purine derivative concentration in Korat chickens

Treatment	Purine (uM)				
	Guanine	Adenine	Hypoxanthine	Xanthine	Total purines
Control	41.74^{ab}	6.04	3.70^{ab}	3.72^{b}	53.97^{ab}
25 mg Allupurinol/kg feed	48.43^{a}	5.68	4.01^{a}	5.76^{a}	62.18^{a}
0.28% *Sida acuta* Burm.f.	32.99^{b}	5.08	2.69^{c}	2.49^{b}	40.63^{b}
0.56% *Sida acuta* Burm.f.	37.25^{ab}	5.80	2.97^{abc}	2.83^{b}	45.50^{ab}
1.12% *Sida acuta* Burm.f.	42.04^{ab}	5.85	2.92^{bc}	2.92^{b}	52.58^{ab}
Pooled SEM[1]	1.355	0.107	0.179	0.203	1.627
			P-value of contrast		
Control vs. Others	NS	NS	0.007	0.007	NS
Control vs. Allopurinol	NS	NS	NS	0.022	NS
Control vs. *Sida acuta* Burm.f.	NS	NS	0.006	NS	NS
Allopurinol vs *Sida acuta* Burm.f.	0.039	NS	0.004	<0.001	0.012

หมายเหตุ : $^{a\,b\,c}$ Means with different superscripts in column are significantly different (<0.05)

[1]SEM = Standard error of mean

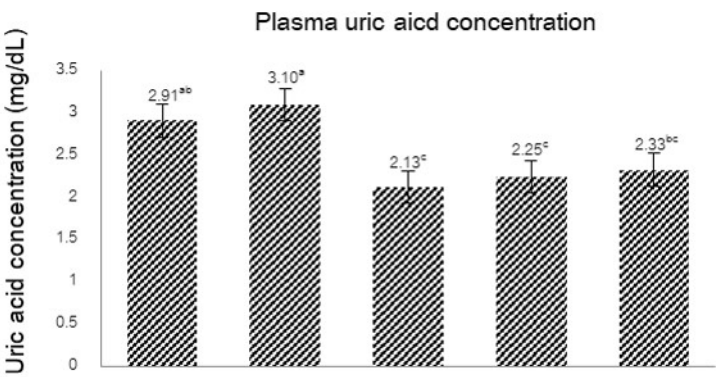

Figure1 Effects of Sida acuta Burm.f. on plasma uric acid concentration in Korat chickens.

หมายเหตุ: a b c Means with different superscripts are significantly different (p<0.05)

เอกสารอ้างอิง

Aggarwal, B. B., S. Prasad, S. Reuter, R. Kannappan, V. R. Yadev, B. Park, and B. Sung. 2011. Identification of novel anti-inflammatory agents from ayurveda medicine for prevention of chronic diseases: reverse pharmacology and bedside tobench approach. Curr. Drug. Target. 12(11): 1595–1653

Asha, A., F. Shameema, and E. C. Baiju. 2018. Phytochemical profiling and antibacterial activity of selected Sida species against common human pathogenic bacteria an in vitro study. JPP. 7(3): 1201-1205

Cao, F. L., X. H. Zhang, W. W. Yu, L. G. Zhao, and T. Wang. 2012. Effect of feeding fermented Ginkgo biloba leaves on growth performance, meat quality, and lipid metabolism in broilers. Poul. Sci. 91(5): 1210–1221

Carro, M. D., E. Falkenstein, W. J. Radke, and H. Klandorf. 2010. Effects of allopurinol on uric acid concentrations, xanthine oxidoreductase activity and oxidative stress in broiler chickens. Comp. Biochem. Physiology. C. T. Pharm. 151(1): 12–17

Chang, W. S., Y. J. Lee, F. J. Lu, and H. C. Chiang. 1993. Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. Anticancer Res. 13(6A): 2165-2170

Cotelle, N., J. L. Bernier, J. P. Catteau, J. Pommery, J. C. Wallet, and E. M. Gaydou. 1996. Antioxidant properties of hydroxyl-flavones. Radic. Biol. Med. 20(1): 35-43

Edeoga, H. O., D. E. Okwu, and B. O. Mbaebie. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. Afr. J. Biotechnol. 4: 685-688

Ellington, A. 2005. Reduction of purine content in commonly consumed meat products through rinsing and cooking. M. S. Thesis. University of Georgia, Athens

Guoyao, W. 2013. Amino acids biochemistry and nutrition. CRC press, NY.

Halde, U. K. 2011. Genus Sida the plants with ethno medicinal and therapeutic potential. ISSN. 1(5):1-4

Havsteen, B. H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Ther. 96(2-3): 67-202

Iniaghe, O. M., S. O. Malomo, and J. O. Adebayo. 2009. Proximate composition and phytochemical constituents of leaves of some Acalypha species. Pak. J. Nutr. 8(3): 256-258

James, M. P, and H. Russ. 2008. Inhibition studies of bovine xanthine oxidase by luteolin, silibinin, quercetin, and curcumin. J. Nat. Prod. 72(4): 725–731

Jindal, A., P. Kumar, and G. Singh. 2010. Extraction and pharmacological evaluation of Sida acuta Burm.f.Int. J. Green Pharmacy. 6(3): 34-41

Kaneko, K., A. Yasuo, F. Tomoko, I. Katsunori, and Y. Noriko. 2014. Total purine and purine base content of common foodstuffs for facilitating nutritional therapy for gout and hyperuricemia. Biol. Pharm. Bull. 37(5): 709–721

Konate, K., A. Souza, A. Y. Coulibaly, N. T. R. Meda, M. Kiendrebeogo, A. Lamien-Meda, J. Millogo-Rasolodimby, M. L. amidaiand, and O. G. Nacoulma. 2010. In vitro antioxidant, lipoxygenase and xanthine oxidase inhibitory activities of fractions from Cienfuegosia digitata Cav., *Sida alba* L. and Sida acuta Burm.f. (Malvaceae). PJBS. 13(23): 1092-1098

Lin, W. C., M. T. Lee, S. C. Chang, Y. L. Chang, C. H. Shih, B. Yu, and T. T. Lee. 2016. Effects of mulberry leaves on production performance and the potential modulation of antioxidative status in laying hens. Poult. Sci. 96(5): 1191-1203

Lumeij, J.T., E.P.M. Sprang and P.T. Redig. 1998. Further studies on allopurinol-induced hyperuricaemia and visceral gout in red-tailed hawks (Buteo jamicensis). Avian Pathol. 27(4): 390–393

Maliwan, P. 2016. Energy and protein requirements of Korat chickens from 0 to 12 weeks of age. Ph. D. Thesis. Suranaree University of Technology,

Nakhon Ratchasima.

Mandell, B. F. 2002. Hyperuricemia and gout: a reign of complacency. Cleve. Clin. J. Med. 69(8): 583–592

Nacoulon, O. G. 1996. Medicinal plants and their traditional uses in Burkina Faso. Ph. D. Thesis. University of Ouagadougou, Ouagadougou

Nagao, A., M. Seki, and H. Kobayachi. 1999. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. Biosci. Biotechnol. Biochem. 63(10): 1787-1790

Niu, Y., X. L. Wan, X. H. Zhang, L. G. Zhao, J. T. He, J. F. Zhang, L. L. Zhang, and T. Wang. 2016. Effect of supplemental fermented Ginkgo biloba leaves at different levels on growth performance, meat quality, and antioxidant status of breast and thigh muscles in broiler chickens. Poul. Sci. 96(4): 869-877

Ohno, I., Y. Ishida, T. Hosoya, M. Kobayashi, and O. Sakai. 1990. Allopurinol induced aplastic anemia in a patient with chronic renal failure. Ryumachi. 30(4): 281–286

Okafuji, K., and K. Shinohara. 1990. Aplastic anemia probably induced by allopurinol in a patient with renal insufficiency. Rinsho Ketsueki. 31(1): 85–88

Poffers, J., J.T. Lumeij, E.P.M. Timmermans-Sprang and P.T. Redig. 2002. Further studies on the use of allopurinol t o reduce plasma uric acid concentrations in the red-tailed hawk (Buteo jamicensis) hyperuricaemic model. Avian Pathol. 31(6); 567–572

Prakash, A., R. K. Varma, and S. Ghosal. 1981. Alkaloid constituents of Sida acuta, S. humilis, S. rhombifolia and S. spinosa. Planta. Med. 43(2): 384-388

Raimi, M. M., M. Oyekanmi, and B. M. Adegoke. 2014. Proximate, phytochecal and micronutrient composition of Sida acuta. IOSR J. App. Chem. 7(2): 93-98

Saganuwan, A. S, and M. L. Gulumbe. 2006. Evaluation of Sida acuta subspecie acuta leaf and flower combination for antimicrobial activity and phytochemical constituents. Afr. J. Clin. Exp. Microbiol. 2(7): 83-88

Sarawek, S. 2007. Xanthine oxidase inhibition and antioxidant activity of an artichoke leaf extract (cynarascolymus l.) and its compounds. Ph. D. Thesis. University of Florida, Florida

Settle, T., M. D. Carro, E. Falkenstein, W. Radke, and H. Klandrof. 2012. The effects of allopurinol, uric acid, and inosine administration on xanthine oxidoreductase activity and uric acid concentrations in broilers. Poul. Sci. 91(11): 2895–2903

Stirpe, F., and E. Della Corte. 1965. Regulation of xanthine dehydrogenase in chick liver and effect of starvation and of administration of purines and purine nucleosides. Biochem. J. 94: 309– 313

Stote, R. M., L. H. Smith, J. W. Dubb, T. P. Moyer, F. Alexander, and J. L. Roth. 1980. Oxypurinol nephrolithiasis in regional enteritis secondary to allopurinol therapy. Ann. Intern. Med. 92: 384–385.

Van B. , T. A., and P. Montoro. 2009. Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. J. Chromatogr. A. 12(16): 2002–2032

Wang, H., and K. Helliwell. 1998. Determination of flavonols in tea leaves by HPLC with isocratic elution system. Food Res. Int. 34: 223-227

Yao, L. H., Y. M. Jiang, J. Shi, F. A. Tomas-Barberan, N. Datta, R. Singanusong, and S. S. Chen. 2004. Flavonoids in food and their health benefits. Plant Foods Hum. Nutr. 59(3): 113–122