



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การประเมินสมบัติการต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับ
การใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง
ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

Evaluation of antioxidant properties and bioactivities related to the
application in health food and cosmetic of mango seed kernel extracts

นาย ประพันธ์ ปันศิริโรดม

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2555

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

OD

b3

09

ป319ก

เลขหมู่.....131136

เลขทะเบียน.....

วัน,เดือน,ปี 22 11 2557

b. 12603624
i.

ชื่อโครงการ(ภาษาไทย) การประเมินสมบัติการต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

แหล่งเงิน เงินรายได้คณะอุตสาหกรรมเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 100,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2555 /

ชื่อ-สกุลหัวหน้าโครงการ รศ. ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

จากการเตรียมสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 2 สายพันธุ์คือ แก้ว และไซคอนันต์โดยใช้วิธีการสกัดแตกต่างกัน 2 วิธี พบว่าการสกัดโดยใช้เอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าการสกัดที่ได้จากการใช้เอธานอลเพียงอย่างเดียว และสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่ามะม่วงแก้ว สำหรับสมบัติการต้านออกซิเดชันที่ทดสอบโดยวิธีการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS โดยที่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่สกัดโดยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกมีสมบัติต้านออกซิเดชันทั้ง 4 วิธีสูงกว่าการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มีค่าต่าง ๆ ดังกล่าวสูงกว่าเมล็ดในมะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อนำสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้งสองสายพันธุ์ที่เตรียมได้โดยใช้เอธานอลร่วมกับอัลตราโซนิกมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส 5-ไลพอกซีจีเนส ไฮยาลูโรนิเดส และแอลฟา-กลูโคซิเดส พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มีค่า IC_{50} ของเอนไซม์ดังกล่าวเท่ากับ 19.68 ± 1.2 , 30.94 ± 0.3 , 37.28 ± 1.6 และ 113.51 ± 5.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วมีค่า IC_{50} เท่ากับ 20.64 ± 0.3 , 39.77 ± 2.4 , 47.61 ± 2.9 และ 163.19 ± 2.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : มะม่วง โพลีฟีนอล ไทโรซิเนส 5-ไลพอกซีจีเนส ไฮยาลูโรนิเดส แอลฟา-กลูโคซิเดส

Research Title: Evaluation of antioxidant properties and bioactivities related to the application in health food and cosmetic of mango seed kernel extracts

Researcher: Assoc. Prof. Dr. Praphan Pinsirodom

Faculty : Agro-industry, King Mongkut' s Institute of Technology Lakrabang

ABSTRACT

The mango seed kernel extracts (MSKEs) were prepared from 2 varieties of mango; var. Keaw and var. Chok-Anan by two different extraction methods; ethanol (Et) and ultrasonic technique assisted (Etu). The result showed that extracts prepared by Etu had the higher % yield, total polyphenol content and the antioxidant capacities of DPPH, FRAP, H₂O₂ scavenging and ABTS scavenging activity than those prepared by Et ($p < 0.05$). In addition, the MSKE from var. Chok-Anan exhibited the higher values of those parameters compared to the MSKE from var. Keaw. The MSKEs of both varieties prepared by Etu were further investigated for their tyrosinase, 5-lipoxygenase, hyaluronidase and alpha-glucosidase inhibitory activities. It was found that the MSKE of var. Chok-Anan had the IC₅₀ values of 19.68±1.2, 30.94±0.3, 37.28±1.6 and 113.51±5.8 µg/ml, respectively; while those of var. Keaw were 20.64±0.3, 39.77±2.4, 47.61±2.9 and 163.19±2.3 µg/ml, respectively.

Keyword: mango, polyphenol, tyrosinase, 5-lipoxygenase, hyaluronidase, alpha-glucosidase

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	III
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะม่วง.....	4
2.2 สารโพลีฟีนอล.....	4
2.3 สารโพลีฟีนอลที่พบในมะม่วง.....	6
2.4 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบโพลีฟีนอลในมะม่วงที่สัมพันธ์กับการ ใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง.....	11
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	17
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	21
3.1 วัตถุประสงค์.....	21
3.2 สารเคมีในการวิเคราะห์.....	21
3.3 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์.....	22
3.4 การเตรียมสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง.....	22
3.5 การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด.....	22
3.6 การศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง.....	23
3.7 ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพ..... และเครื่องสำอางของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง.....	24
3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	26

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	27
4.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณผลผลิตและโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัด.....	27
จากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์	
4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง.....	30
4.3 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส.....	32
4.4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส.....	34
4.5 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส.....	36
4.1 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส.....	38
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	41
เอกสารอ้างอิง.....	43
ภาคผนวก	
ก. การวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด.....	52
ข. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH.....	55
ค. การวิเคราะห์ความสามารถในการวัดอีพ็อกซิเพอริก.....	59
ง. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	62
จ. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูล ABTS.....	65
ประวัติผู้เขียน.....	68

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณสารโพลีฟีนอลในเปลือกมะม่วง.....	10
2.2 สารโพลีฟีนอลและปริมาณในเมล็ดในมะม่วง.....	11
2.3 ค่า ID ₅₀ ของ Quercetin ในการยับยั้งเนื้องอกของอวัยวะต่างๆ.....	13
4.1 ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจาก เมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์	29
4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธีต่าง ๆ ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์	32
4.3ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง: แก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารอาร์บูติน	33
4.4 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง แก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารรูติน	36
4.5 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง แก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารวิตามินซี	38
4.6 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดจากเมล็ดใน มะม่วงแก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารอาร์คาโบส	40

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของเซนโธน.....	7
2.2 โครงสร้างของแมงจีเฟอริน.....	7
2.3 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์กลุ่มต่าง ๆ	8
2.4 กลไกการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน.....	14
4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธีต่าง ๆ	32
ก.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง ที่ 730 นาโนเมตร.....	53
ข.1 กราฟมาตรฐานระหว่างกรดโพลลอกซ์กับร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH.....	57
ค.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณโพลลอกซ์กับค่าการดูดกลืนแสง 593 นาโนเมตร.....	61
ง.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณโพลลอกซ์และร้อยละการทำลาย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	63
จ.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณโพลลอกซ์และร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS....	66

กิติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการประเมินสมบัติการต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางของสารสกัดจากเมล็ดโนมะม่วง ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากเงินรายได้คณะอุตสาหกรรมเกษตร ประจำปีงบประมาณ 2555 ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณ ชัยอนันต์ นามงาม ผู้ช่วยวิจัยที่มีส่วนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการให้บริการด้วยดีมาตลอด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อ **VII** และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะม่วงเป็นผลไม้ที่นิยมปลูกและบริโภคในประเทศไทย โดยบริโภคสดทั้งผลดิบและสุก รวมถึงนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้ เช่น น้ำมะม่วง มะม่วงดอง มะม่วงแช่อิ่มอบแห้งและมะม่วงกวน เป็นต้น เปลือก เนื้อ และเมล็ด มีองค์ประกอบที่มีประโยชน์ซึ่งอุดมด้วยใยอาหาร วิตามินและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิด เช่น วิตามินเอ บี 6 ซี และ อี โพแทสเซียม ทองแดง และกรดอะมิโน 17 ชนิด (USDA, 2007) รวมทั้งยังมีสารพฤกษเคมีอีกหลายชนิด เช่น คาโรทีนอยด์ (carotenoids) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) (Ajila และคณะ, 2007a; 2007b) สำหรับสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญซึ่งพบในเปลือก เนื้อ และเมล็ดมะม่วงได้แก่ แมงจีเฟอร์ิน (mangiferin) กรดแกลลิก (gallic acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) และแทนนิน (tannin) เป็นต้น (Abdalla และคณะ, 2007; Ribeiro และคณะ, 2008)

จากการศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในผลไม้เขตร้อน (tropical fruit) คือ สับปะรด ชมพูเงาะลิ้นจี่ ฝรั่ง และมะม่วง (พันธุ์แก้ว) ของ Gorinstein และคณะ (1999) พบว่าในมะม่วงสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดคือ 6.25 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด นอกจากนี้ในเปลือกและเมล็ดในของมะม่วงบราซิลพันธุ์ยูบา (Ubá) มีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมากถึง 57,240 และ 82,540 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (Ribeiro และคณะ 2008) เปลือกและเมล็ดของมะม่วงเป็นส่วนเหลือทิ้งที่เป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิกซึ่งสามารถนำมาสกัดสำหรับใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมสุขภาพ (nutraceuticals) หรือใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติ (natural antioxidants) ในผลิตภัณฑ์อาหาร ทั้งนี้พบว่าเปลือกและเมล็ดมะม่วงมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าในส่วนที่รับประทานได้ (Ajila และคณะ, 2007a ; Someya และคณะ, 2002) ในการศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดของมะม่วง 6 สายพันธุ์ทั้งผลดิบและผลสุกคือ พันธุ์เขียวเสวย น้ำดอกไม้ แรด ไชคอนันต์ ฟ้ายัน และ แก้วพบว่าเมล็ดของมะม่วงทุกสายพันธุ์ทั้งผลดิบและผลสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมาคือเปลือกและเนื้อ โดยพบว่ามะม่วงพันธุ์ไชคอนันต์และมะม่วงแก้วจะมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ (ประพันธ์, 2550) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดในของมะม่วงไชคอนันต์ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน (Maisuthisakul และ Gordon, 2009)

เป็นที่ทราบกันดีว่าสารโพลีฟีนอลมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) โดยสามารถยับยั้งหรือทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และคาเทชิน (catechin) ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) และยับยั้งการทำลายดีเอ็นเอเนื่องจากอนุมูลอิสระทั้งยังมีฤทธิ์ต้านอาการอักเสบโดยไปหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl) ซุปเปอร์-ออกไซด์ (superoxide) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide) (Basu และคณะ, 1999) จึงมีส่วนช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่นโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคมะเร็งและชะลอความชราเป็นต้น (โสภาและคณะ, 2551)

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์มีความสนใจในการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะม่วงกันอย่างกว้างขวางเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง เนื่องจากผู้บริโภคกำลังให้ความสำคัญดูแลสุขภาพและบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่เป็นสารสกัดจากธรรมชาติ นอกจากนี้ในการผลิตเครื่องสำอางยังต้องการสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอีกด้วย จากงานวิจัยต่าง ๆ จะเห็นว่ามะม่วงอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีที่ใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ธรรมชาติและอุดมไปด้วยสารโพลีฟีนอล งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 2 สายพันธุ์ คือไซคอนันต์และแก้ว โดยศึกษาเปรียบเทียบปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้และการควบคุมการสร้างเม็ดสีของเซลล์ผิวหนัง การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase) ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการอักเสบ (inflammation) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดริ้วรอยบนผิวหนัง การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (alpha-glucosidase) ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เพื่อนำข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านั้นมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ทั้งอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 ศึกษาปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์และแก้วโดยเปรียบเทียบวิธีสกัดระหว่างการสกัดด้วยเอทานอลเพียงอย่างเดียวและการสกัดด้วยเอทานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิก

1.2.2 ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์และแก้ว

1.2.3 ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส เอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส เอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสและเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์และแก้ว

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับการศึกษาปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพและผิวพรรณคือ การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส และการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 2 สายพันธุ์คือ แก้วและโชคอนันต์ ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านสุขภาพทั้งในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่สกัดโดยใช้เอธานอลเพียงอย่างเดียวและเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิก

1.4.2 ทราบถึงฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่ทดสอบโดยวิธีต่างๆ

1.4.3 ทราบถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพและผิวพรรณคือ ฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนส เอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส เอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสและเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์และแก้วเพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะม่วง

มะม่วงมีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์คือ *Mangifera Indica* Linn. อยู่ในวงศ์อนาคาร์ดิอาซีอี (Anacardiaceae) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายทั่วไปในเขตร้อนและร้อนชื้น อินเดียเป็นประเทศที่มีการปลูกมากที่สุดให้ผลผลิตประมาณ 9 ล้านตันต่อพื้นที่ 1 ล้านแฮกแตร์ (6.25 ล้านไร่) ประเทศไทยมีปริมาณมะม่วงที่สามารถเก็บเกี่ยวได้เป็นอันดับ 3 ของประเทศที่สามารถปลูกมะม่วงได้ (สถาบันคีนันแห่งเอเชีย, 2549) แต่ละปีประเทศไทยมีผลผลิตมะม่วงรวม 1-1.4 ล้านตัน มะม่วงจัดเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งเนื่องจากปลูกง่ายโตเร็ว นอกจากนี้การรับประทานมะม่วงยังเป็นประโยชน์ให้คุณค่าทางอาหารแก่ร่างกาย เนื่องจากเนื้อมะม่วงประกอบด้วยน้ำตาลร้อยละ 15 โปรตีนร้อยละ 0.5 และอุดมไปด้วยวิตามิน เอ บี และซี รวมถึงปัจจุบันยังมีการนำส่วนต่าง ๆ ของมะม่วงมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลายอีกด้วย

2.2 สารโพลีฟีนอล

สารโพลีฟีนอลจัดเป็นสารประกอบทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่พบในผัก ผลไม้และธัญพืชเป็นส่วนใหญ่ โดยทั่วไปโครงสร้างจะประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกอาจมีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่หรือมากกว่า โครงสร้างพื้นฐานของโพลีฟีนอลจะอยู่ในรูปของไกลโคไซด์คือ สารประกอบฟีนอลิกจะจับอยู่กับโมเลกุลของน้ำตาลซึ่งอาจเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ก็ได้ แต่น้ำตาลที่พบมากที่สุดได้แก่ กลูโคส (glucose) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นๆ ที่พบได้แก่ กาแลกโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไกโรส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucuronic acid) กรดกาแลกตูโรนิก (galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้ยังอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารโพลีฟีนอลกับตัวกันเองหรือโพลีฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) กรดอินทรีย์ (organic acid) เอมีน (amines) และไขมันอีกด้วย (Bravo, 1998) ปริมาณสารโพลีฟีนอลที่พบในพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป นอกจากนี้ในส่วนของเนื้อเยื่อที่ต่างกันของผักและผลไม้ชนิดเดียวกันปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกก็ยังคงแตกต่างกันอีกด้วย เนื่องจากปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องกับการสร้างสารโพลีฟีนอลของพืช นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการเพาะปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความสุก กระบวนการแปรรูปหรือแม้แต่วิธีการเก็บรักษาก็ล้วนมีผลต่อปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งสิ้น สารโพลีฟีนอลถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืช รวมทั้งช่วยปกป้องพืชจากการติดเชื้อหรือถูกทำลายโดยแมลงหรือจุลินทรีย์และยังมีหน้าที่เกี่ยวกับการเกิดสีและกลิ่นรส (Karakaya, 2004) อย่างไรก็ตามหน้าที่ที่แน่นอนของสารโพลีฟีนอลส่วนใหญ่ในพืชนั้นยังเป็นที่สงสัย แต่ทั้งนี้อาจจำแนกหน้าที่สำคัญของสารโพลีฟีนอลเป็น 3 ประการ ดังนี้ (จริงแท้, 2541)

2.2.1 การต้านทานโรค สารโพลีฟีนอลหลายชนิดสามารถป้องกันหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบางชนิดได้ เช่นกรดโปรโทคาเทอชอิก (protocatechuic acid) ซึ่งเป็นสารโพลีฟีนอลที่มีมากในหอมหัวใหญ่สีม่วงจะต้านทานต่อโรค smudge ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum circinan* ได้ดี แต่ในหอมพันธุ์สีขาวจะไม่มีสารชนิดนี้จึงอ่อนแอต่อโรคดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่าสารที่สกัดได้จากหัวหอมนี้สามารถป้องกันการงอกและยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ด้วย

2.2.2 รสฝาด รสฝาดของผลไม้หลาย ๆ ชนิดขึ้นอยู่กับปริมาณของสารโพลีฟีนอลในผลช่วงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกที่ให้ความฝาดนั้นอยู่ในช่วง 500-3,000 ซึ่งสามารถที่จะรวมตัวกับโมเลกุลของโปรตีนในปากทำให้รู้สึกฝาดได้ เมื่อผลไม้แก่จัด (mature) ปริมาณสารโพลีฟีนอลมักจะลดลง นอกจากนี้สารโพลีฟีนอลยังเกิดการรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่ (polymerization) และการรวมตัวจะเกิดขึ้นเรื่อยๆจากโมเลกุลที่ละลายน้ำกลายเป็นโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำซึ่งเป็นผลให้ความฝาดลดลงรสขมในพืชตระกูลส้มนั้นเป็นผลจากนารินจีน (naringin) ซึ่งพบมากและเป็นสารโพลีฟีนอลที่ให้รสขมสูง ส่วนรสขมของแตงกวานั้นเกิดจากสารคูเคอโบทาซิน (cucurbitacin) หรือรสขมซึ่งเกิดจากลิโมนอยด์ (limonoids) ในพวกส้มไม่ใช่สารโพลีฟีนอลแต่เป็นสารประกอบพวงไตรเตอเพนอยด์ (triterpenoid)

2.2.3 สีนอกจากแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารโพลีฟีนอลชนิดหนึ่งที่ทำให้สีกับผักและผลไม้แล้ว สารโพลีฟีนอลอื่นๆ ที่ปกติไม่มีสีอาจทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นได้เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) ซึ่งเปลี่ยนโมเลกุลของฟีนอลไปเป็นควิโนน (quinone) แล้วเกิดโพลีเมอร์ไรเซชัน (polymerization) ขึ้นและมีสีน้ำตาล ปริมาณของ PPO จะมีมากในผลไม้เมื่อผลยังเล็กและลดลงเมื่อผลเจริญเติบโตขึ้นจนบริบูรณ์และสุกสันนิษฐานกันว่าควิโนนที่ได้จากการทำงานของ PPO มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้

สารประกอบโพลีฟีนอลแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และนอนฟลาโวนอยด์ (non-flavonoids) (Burns และคณะ, 2000) ฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มของสารประกอบโพลีฟีนอลกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืชชั้นสูงในทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นใบ ราก เนื้อไม้ เปลือกต้น ดอก ผล หรือเมล็ดมีหน้าที่ทางชีวภาพหลายชนิดโดยเฉพาะการทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) 3 วง (A, B และ C) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างพื้นฐานเป็นแบบไดฟีนิลโพรเพน(diphenylpropanes) (C6-C3-C6) โดยมี A- และ B-ring เป็นวงแหวนฟีนิล (phenyl ring) และC-ring เป็นวงแหวนแลคโตน (lactone ring) ทำให้โครงสร้างหลักที่ได้เหมือนโครงสร้างหลักของวิตามินอี ที่เป็นโครงสร้างแบบโครแมน (chroman structure)

องค์ประกอบสำคัญที่ทำให้ฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระแตกต่างกันคือ จำนวนและตำแหน่งของหมู่ OH ใน A- และ B-ring โดยเฉพาะที่ B-ring จะมีผลกระทบบมากที่สุดฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งตามโครงสร้างพื้นฐานออกเป็นกลุ่มต่างๆได้ 12 กลุ่มย่อยคือ ฟลาโวน (flavone) ไอโซฟลาโวน (isoflavone) ฟลาโวนอล (flavonol) ฟลาวาโนน (flavanone) ฟลาวาโนนอล (flavanonol) ฟลาวานอล (flavanol) ลูโคแอนโทไซยานิน (lucoanthocyanin) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซาลโคน (chalcone) ไดไฮโดรซาลโคน (dihydrochalcone) ออโรน (aurone) และแซนโธน (xanthone)

นอanfลาโวนอยด์ ที่สำคัญได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ตัวอย่างที่พบมากในผลไม้ทั่วไปคือกรดแกลลิก (gallic acid) กรดโปรโตแคเทคิควิก (protocatechuic acid) กรดวานิลลิก (vanillic acid) กรดพาราคูมาริก (p-coumaric acid) กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) เป็นต้น นอกจากนี้นอanfลาโวนอยด์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ไฮดรอกซีซินนามेट (hydroxycinnamate) สติลบีเนส (stibinase) เป็นต้น

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มกรดฟีนอลิกและเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิกจะขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล สมบัติในการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกในกรดเบนโซอิกจะส่งผลให้ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของไฮดรอกซีเบนโซอีน้อยลงดังนั้นจะพบว่าสารกลุ่มไฮดรอกซีซินนามิกจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า

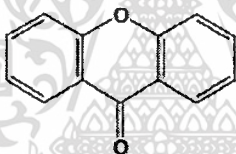
2.3 สารโพลีฟีนอลที่พบในมะม่วง

สารโพลีฟีนอลสามารถพบได้ในทุกส่วนของมะม่วงเช่น เปลือก ลำต้น ผล ราก และใบ ในส่วนของผลมะม่วงนั้นพบโพลีฟีนอลทั้งในเปลือก เนื้อ และเมล็ดใน โดยมีปริมาณมากที่สุดในส่วนของเมล็ด (Soong และ Barlow, 2004) ในส่วนเปลือกมะม่วงนั้นพบว่าเปลือกมะม่วงสุกมีปริมาณของสารโพลีฟีนอลมากกว่าในเปลือกมะม่วงดิบ (Ajila และคณะ, 2007) สารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในมะม่วงคือสารในกลุ่มแซนโธนกลัยโคไซด์ (xanthone C-glycosides) ซึ่งพบว่ามีองค์ประกอบของ แมงจิเฟอริน (mangiferin) ไอโซแมงจิเฟอริน (isomangiferin) แมงจิเฟอริน แกลเลต (mangiferin gallate) และไอโซแมงจิเฟอรินแกลเลต (isomangiferin gallate) โดยมีปริมาณของแมงจิเฟอรินมากที่สุด (Berardini และคณะ, 2005) สารในกลุ่มฟลาโวนอลกลัยโคไซด์ (flavonol O-glycosides) ซึ่งพบว่ามีองค์ประกอบของส่วนเคอร์ซีตินกาแลคโตไซด์ (quercetin 3-O-glycosides) เคอร์ซีตินกลูโคไซด์ (quercetin 3-O-glucoside) เคอร์ซีตินไซโลไซด์ (quercetin 3-O-xyloside) เคอร์ซีตินอะราบินโนไพราโนไซด์ (quercetin 3-O-arabinopyranoside) เคอร์ซีตินอะราบินโนฟูราโนไซด์ (quercetin 3-O-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

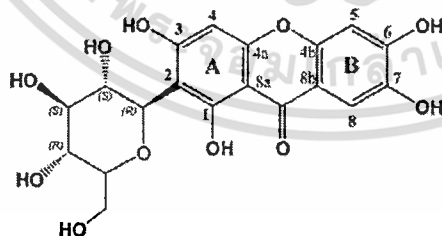
arabinofuranoside) เคอร์ซีติน แรมโนไซด์ (quercetin 3-O-rhamnoside) แคมฟีรอลกลูโคไซด์ (kaempferol 3-O-glucoside) แรมเนตินกาแลคโตไซด์/กลูโคไซด์ (rhamnetin 3-O-galactoside /glucoside) และเคอร์ซีติน (quercetin) โดยมีปริมาณของเคอร์ซีตินกาแลคโตไซด์มากที่สุด (Berardini และคณะ, 2005)

แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์พบมากในส่วนของเปลือกมะม่วงสุก (Ajila และคณะ, 2007) ซึ่งละลายอยู่ในถุงเซลล์ (cell sap) ให้สีโทนแดง น้ำเงิน หรือม่วง โมเลกุลของแอนโทไซยานินประกอบด้วยแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) และน้ำตาล 1-2 โมเลกุลซึ่งน้ำตาลเหล่านี้เป็นน้ำตาลาลโมเลกุลเดี่ยวที่อาจมีคาร์บอนในโมเลกุลจำนวน 5 หรือ 6 อะตอมก็ได้เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุคโตส หรือน้ำตาลอะราบิโนส เป็นต้น แอนโทไซยานิดินที่พบมากในธรรมชาติ นั้นมีเพียง 3 ชนิด คือ ไซยานิดิน (cyanidin) เพลาร์โกนิน (pelargonidin) และเดลฟินิดิน (delphinidin) โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานินมีชื่อเรียกว่า flavylium cation ซึ่งประกอบด้วยวง 3 วง คือ วงแหวน A (A-ring) วงแหวน B (B-ring) และวงแหวน C (C-ring) โดยที่แอนโทไซยานินแต่ละชนิดจะแตกต่างกันที่หมู่แทนที่บนคาร์บอนตำแหน่งต่างๆ รูปโพลีฟีนอลมะม่วงแสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของแซนโธ

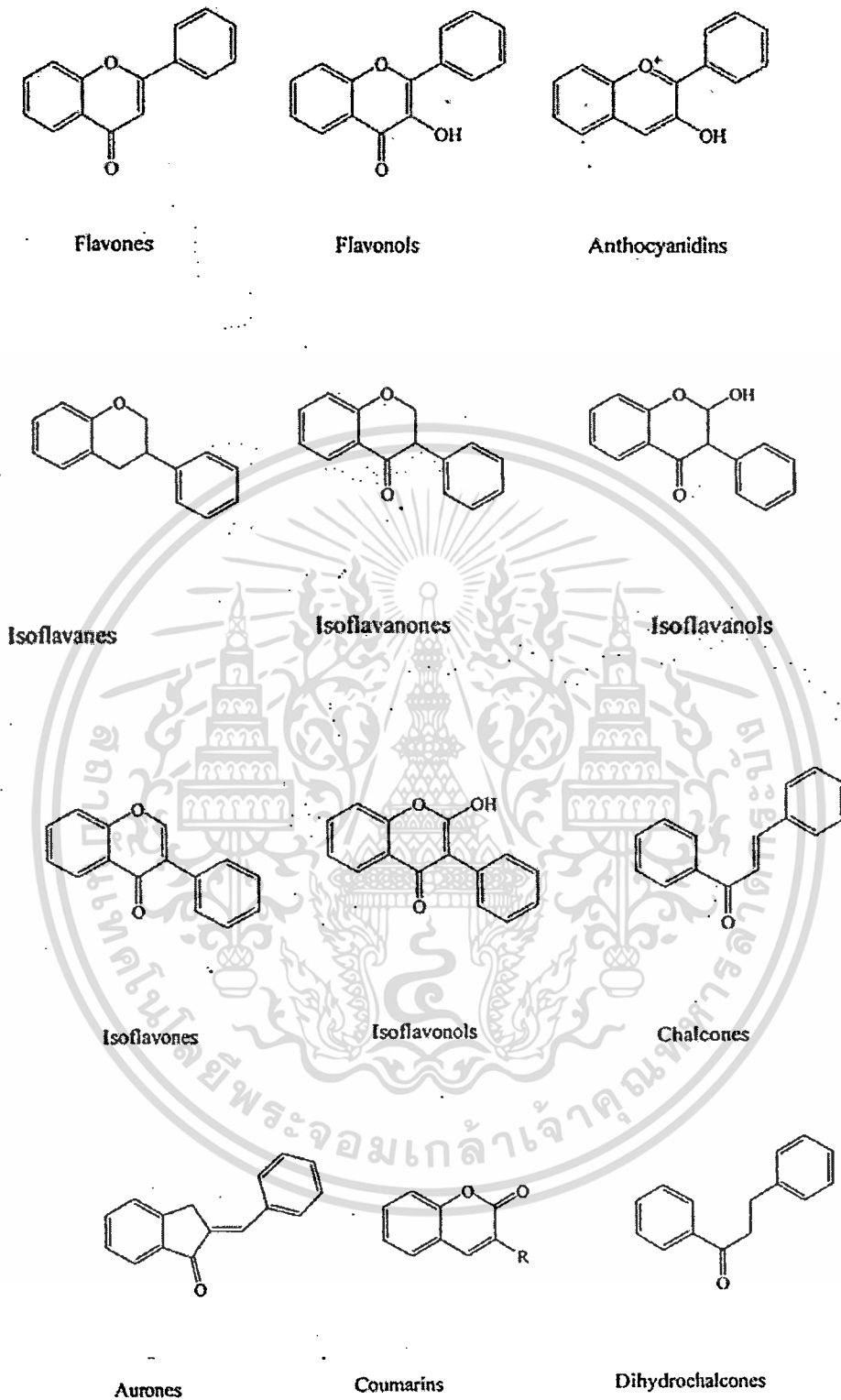
ที่มา: ดัดแปลงจาก Masibo และ He (2008)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของแมงจีเฟอริน

ที่มา: Masibo และ He (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์กลุ่มต่าง ๆ

ที่มา : โอภา และคณะ 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 สารโพลีฟีนอลในเนื้อมะม่วง

Schieber และคณะ, (2006) จำแนกชนิดของสารโพลีฟีนอลในเนื้อมะม่วงพบว่ามีสารแมงจีเฟอริน (mangiferin) กรดแกลลิก (gallic acid) แกลโลแทนนิน (gallotannins) เคอร์เซติน (quercetin) ไอโซเคอร์เซติน (iso-quercetin) กรดเอลลาจิก (ellagic acid) และเบต้ากลูโคแกลลิน (β -glucogallin) ในปี 2004 Singh และคณะทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกในเนื้อมะม่วงพันธุ์เศรษฐกิจของประเทศอินเดีย 6 สายพันธุ์ (Desi, Langra, Chausa, Mallika, Dashahari และ Amrapali) ทั้งดิบและสุกพบกรดฟีนอลิก 7 ชนิดได้แก่ กรดแทนนิก (tannic acid) กรดแกลลิก (gallic acid) กรดวานิลลิก (vanillic acid) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) กรดคลอโรเจนิค (chlorogenic acid) และกรดซินนามิก (cinanic acid) โดยพบกรดแทนนิกมากที่สุด ปริมาณ 3,550 ไมโครกรัม/กรัม น้ำหนักสดรองลงมาคือกรดคาเฟอิก และกรดแกลลิก โดยมีปริมาณ 300 และ 230 ไมโครกรัม/กรัม น้ำหนักสดตามลำดับ

2.3.2 สารโพลีฟีนอลในเปลือกมะม่วง

ในส่วนของเปลือกมะม่วง Beradini และคณะ (2005) พบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด โดยพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 4066 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง สารประกอบฟีนอลิก 2 ชนิดหลักที่พบมากคือ แมงจีเฟอริน (mangiferin) และเคอร์เซตินกาแลคโตไซด์ (quercetin 3-Oglucoside) Beradini และคณะ (2005) รายงานปริมาณและชนิดของสารโพลีฟีนอลในเปลือกมะม่วง ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารโพลีฟีนอลในเปลือกมะม่วง Baradini และคณะ, (2005)

สารโพลีฟีนอล	จำนวน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
Mangiferin	1690.4
Mangiferin gallate	321.9
Isomangiferin	134.5
Isomangiferin gallate	82.0
Quercetin 3-o-galactoside	651.2
Quercetin 3-o-xyloside	557.7
Quercetin 3-o-glucoside	207.3
Quercetin 3-o-arabinopyranoside	101.5
Quercetin 3-o-arabinofuranoside	103.6
Quercetin 3-o-rhamnoside	20.1
Kaempferol 3-o-glucoside	36.1
Rhamnitin 3-o galactoside/glucoside	94.4
Quercetin	65.3
Total phenolics	4066.0

2.3.3 สารประกอบโพลีฟีนอลในเมล็ดมะม่วง

นอกเหนือจากเปลือกและเนื้อมะม่วงแล้วเมล็ดในก็อุดมไปด้วยสารโพลีฟีนอลเช่นกัน การทดลองของ Maisuthisakul และ Pasuk (2007) ได้รายงานปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในเมล็ดมะม่วงสุกของไทย 11 สายพันธุ์ (แก้ว น้ำดอกไม้ เขียวสวย พิมเสน โชคอนันต์ แรด ฟ้ายัน หัวช้างมันเดือนเกา อกร่อง และมหาชนก) พบว่าเมล็ดมะม่วงแก้วสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดรองลงมาคือเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์สุก โดยมีปริมาณคือ 116.98 และ 115.38 มิลลิกรัมแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ และเมล็ดมะม่วงมันเดือนเกาสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 65.43 มิลลิกรัมแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักสด Ahmed และคณะ (2007) จำแนกสารประกอบโพลีฟีนอลในเมล็ดมะม่วงพบว่ามีแทนนิน (tannin) 20.7 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม กรดแกลลิก (gallic acid) คูมาริน (coumarin) กรดคาเฟอิก (caffeic acid) วานิลลิน (vanillin) แมงจีเฟอริน (mangiferin) กรดเฟรูลิก (ferulic acid) กรดซินนามิก (cinanic acid) และส่วนประกอบอื่น ๆ แสดงดังตาราง 2.2

ตารางที่ 2.2 สารโพลีฟีนอลและปริมาณในเมล็ดในมะม่วง (Ahmed และคณะ, 2007)

สารโพลีฟีนอล	จำนวน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
Tannin	20.7
Gallic acid	6.0
coumarin	12.6
Caffeic acid	7.7
Vanillin	20.2
Mangiferin	4.2
Ferulic acid	10.4
Cinamic acid	11.2
Others	7.1

2.4 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบโพลีฟีนอลในมะม่วงที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง

2.4.1 ฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบันของสารประกอบโพลีฟีนอลคือ สมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติทั้งในอาหารและระบบของสิ่งมีชีวิต รวมถึงการนำมาใช้ประโยชน์ในเครื่องสำอาง โดยที่สารโพลีฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไฮดรอกซิลของโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว จากรายงานข้างต้นพบว่ามะม่วงอุดมไปด้วยสารประกอบโพลีฟีนอลซึ่งได้รับความนิยมที่จะนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง

ประพันธ์ (2550) ศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วง 6 สายพันธุ์ ทั้งผลดิบและผลสุก คือพันธุ์เขียวเสวย น้ำดอกไม้ แรด โชคอนันต์ ฟาลัน และ แก้ว พบว่าเมล็ดของมะม่วงทุกสายพันธุ์ทั้งผลดิบและผลสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมาคือเปลือกและเนื้อ โดยพบว่ามะม่วงพันธุ์โชคอนันต์และมะม่วงแก้วจะมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าพันธุ์อื่นๆ และในขณะที่การทดลองของ Maisuthisakul (2008) ได้รายงานปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชันในเมล็ดมะม่วงสุกของไทย 11 สายพันธุ์ โดยวิธี DPPH (แก้ว น้ำดอกไม้ เขียวเสวย

พิมเสน ไชคอนันต์ แรด ฟ้างัน หัวช้างมันมันเดือนเก้า อกร่อง และ มหาชนก) พบว่าเมล็ดมะม่วงแก้วสุก มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุดรองลงมาคือ เมล็ดมะม่วงไชคอนันต์สุก โดยมี EC_{50} เท่ากับ 13.06 และ 13.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมล็ดมะม่วงมันเดือนเก้าสุกให้ผลการทดลองต่ำที่สุดมี โดยมี EC_{50} เท่ากับ 20.54 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Xiaowei และคณะ (2011) รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของมะม่วง 8 สายพันธุ์คือ Tainong 1, Jinhuang, Guifei, Ao, Xiaoji, Fengshunwuhe, Irwin และ Mallika ด้วยวิธี DPPH และ ATBS พบว่าผลการต้านอนุมูลอิสระแบบ DPPH มะม่วงพันธุ์ Tainong 1 ให้ผลสูงสุดคือ 2930 ไมโครโมลโทรลออกซ์ และต่ำที่สุดคือพันธุ์ Guifei ให้ผลการต้านอนุมูลอิสระ 461 ไมโครโมลกรด โทรลออกซ์พร้อมทั้งรายงานผลการต้านอนุมูลอิสระแบบ ATBS พบว่าพันธุ์ Xiaoji ให้ผลสูงสุดคือ 1551 ไมโครโมลโทรลออกซ์ และพันธุ์ Guifei ให้ผลต่ำสุดคือ 600 ไมโครโมลโทรลออกซ์

2.4.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการป้องกันและรักษามะเร็ง

โรคมะเร็งคือ กลูโฆของโรคที่เกิดขึ้นเนื่องจากเซลล์ของร่างกายมีการแบ่งตัวผิดปกติที่ DNA หรือสารพันธุกรรมส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว และมากกว่าปกติ ดังนั้นจึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อผิดปกติและในที่สุดก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์นั้น เนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง การเรียกชื่อมะเร็งก็จะขึ้นอยู่กับอวัยวะนั้น เช่นมะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม ซึ่งการรักษา มะเร็งแต่ละชนิดจึงไม่เหมือนกันขึ้นอยู่กับอวัยวะ ระยะ และสภาพร่างกายของผู้ป่วยด้วย

มีรายงานว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถช่วยป้องกันและทำลายเซลล์มะเร็งได้ เนื่องจากในพืชสมุนไพรเหล่านั้นมีสารโพลีฟีนอลมากมายหลายชนิดที่มีผลต่อเซลล์มะเร็ง จากงานวิจัยพบว่ามะม่วงมีสารโพลีฟีนอลมากมายหลายชนิด ดังนั้นจึงมีการศึกษาที่จะนำมะม่วงมาใช้ในการป้องกัน และรักษาโรคมะเร็ง Woude และคณะ (2003) รายงานว่า quercetin ที่มีความเข้มข้นสูงๆ สามารถยับยั้งมะเร็งลำไส้ได้ จากการทดสอบโดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง ในขณะที่ Lamson และ Bringnall (2001) รายงานว่า quercetin สามารถลดการเปลี่ยนจากเซลล์ปกติเป็นเซลล์มะเร็งเต้านม มะเร็งเม็ดเลือดขาวและยับยั้งเอนไซม์ tyrosinekinase ซึ่งมีผลต่อการรวมตัวกับกลุ่มฟอสเฟตทำให้ไม่สามารถส่งสัญญาณและควบคุมการเติบโตของเซลล์มะเร็งได้

Yoshimia และคณะ (2001) รายงานว่าจากการทดสอบการใช้ mangiferin ในการทำเคมีบำบัดในหนูทั้งขณะเริ่มและหลังจากได้รับการเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ด้วยสาร azoxymethane 15 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักหนูเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าการใช้ mangiferin 0.1% สามารถลดการเกิดมะเร็งได้ 40% เมื่อทดสอบเพิ่มเป็น 40 สัปดาห์ สามารถลดอัตราการเกิดมะเร็งได้

มากกว่า 40% นอกจากนี้ยังรายงานต่ออีกว่า mangiferin ยังสามารถใช้เป็นเคมีบำบัดจากธรรมชาติได้อีกด้วย

นอกจากนี้ยังมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้รายงานผลทดสอบการยับยั้งเนื้องอกหลายชนิด ในหลอดทดลองจาก Quercetin แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2.3 ค่า ID_{50} ของ Quercetin ในการยับยั้งเนื้องอกของอวัยวะต่างๆ

Malignant cell lie	ID_{50}	เอกสารอ้างอิง
Breast (MDA-MB-435)	55 μm	Singhal และคณะ, 1995
Breast (MDA -MB-468)	21 μm	Avila และคณะ, 1994
Breast (MDA-MB-435)	31 μm	So และคณะ, 1996
Breast (MCF-7)	4.9 μm	Miodini และคณะ, 1999
Breast (MCF-7)	15 μm	So และคณะ, 1997
Colon (HT29 and Caco-2)	45-50 μm	Agullo และคณะ, 1994
Colon (HT29 and Caco-2)	30-40 μm	Kuo SM, 1996
Gastric (HGC-27, NUGC-2, MKN-7 and MKN-28)	Significant inhibition above 100 μm	Yoshida และคณะ, 1990
Head and neck (HTB43)	Significant inhibition above 100 μm	Kandaswami และคณะ, 1991
Head and neck (HTB43 and CCL135)	Significant inhibition above 100 μm	Castillo และคณะ, 1989
Leukemia (14 AML lines and four ALL lines)	Average $IC_{50} = 2 \mu\text{m}$	Larocca และคณะ, 1991
Leukemia (CML line K562)	59 μm	Hoffman และคณะ, 989
Lung (non-small-cell lines)	0.45-2.28 μm	Caltagirone และคณะ, 1997
Melanoma (MNT1, M10, M14)	7nm20nm 1-10 μm	Piantelli และคณะ, 1995
Ovarian (OVCA 433)	10 μm	Scambia และคณะ, 1990

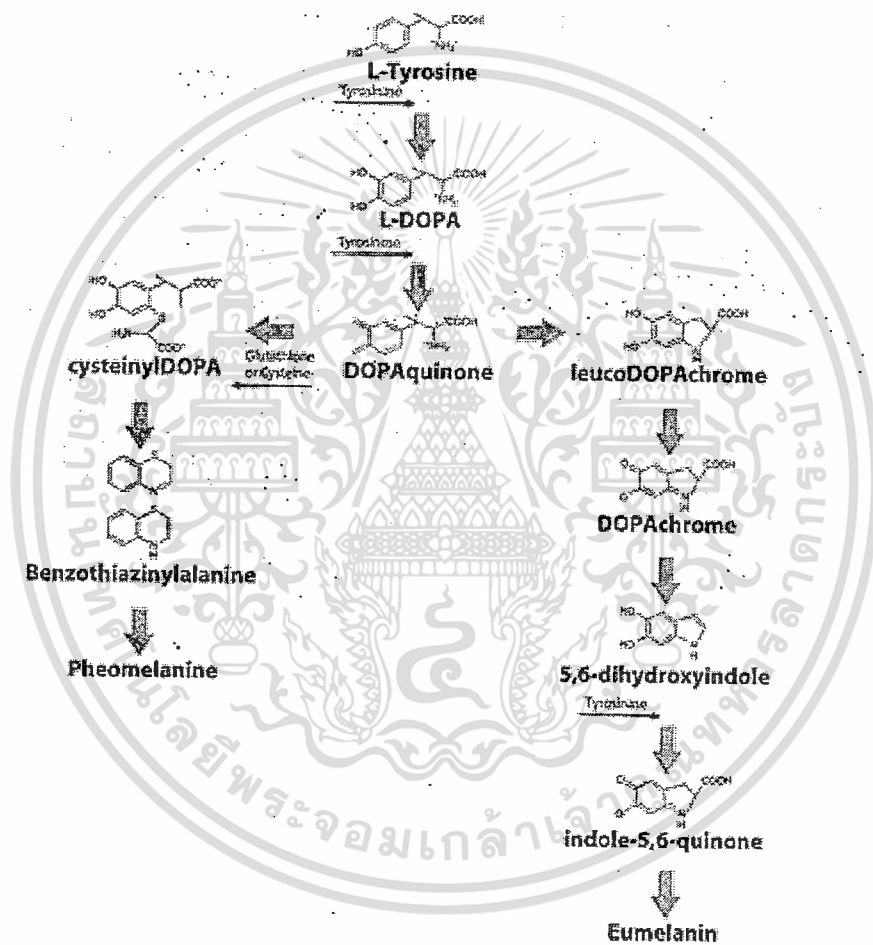
LD = Dose lethal to 50% of cultured cells.

2.4.3 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมลานินหรือเม็ดสีสร้างจากเซลล์ผิวหนังที่เรียกว่าเมลานโนไซต์ (malanocyte) ซึ่งแทรกตัวอยู่ชั้นหนังกำพร้าส่วนล่างสุดโดยเซลล์เมลานโนไซต์ 1 เซลล์จะสร้างเมลานินบรรจุในแคปซูลที่เรียกว่าเมลานโนโซมเมื่อสร้างเสร็จจะส่งไปตามร่างแหเข้าสู่เซลล์ผิวหนังสารเมลานินสามารถแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยูเมลานิน (eumelanin) เป็นเม็ดสีเข้มเพราะมีเมลานินบรรจุในแคปซูลจำนวนมากและฟีโอเมลานิน (pheomelanin) เป็นเม็ดสีเหลืองหรือแดงเพราะมีเมลานินน้อยการสังเคราะห์เมลานินนั้นเกิดจากการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสเปลี่ยนจากกรดอะมิโนไทโรซีนเป็นเม็ดสีเมลานินถ้าเกิดการสังเคราะห์มากผิดปกติเป็นสาเหตุให้เกิดฝ้า กระ และจุดต่างดำอันไม่พึงประสงค์ (Karioti และคณะ, 2007) ขั้นตอนการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินแสดงดังรูป 2.4



รูปที่ 2.4 กลไกการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน

ที่มา : Prota, 1980

ปัจจุบันเครื่องสำอางช่วยให้ผิวขาวกระจ่างใสจากสารสกัดธรรมชาติกำลังเป็นที่นิยม เนื่องจากมีความปลอดภัยและไม่มีผลข้างเคียง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเพื่อใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากพืชเหล่านั้นเพื่อเป็นแหล่งวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับผิวขาวกระจ่างใสต่อไป

Maisuthisakul และ Gordon (2009) รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซดอนันต์ที่สกัดโดยวิธีต่าง ๆ พบว่าการสกัดโดยใช้กรดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงสุดรองลงมาคือการใช้ฟลัก และตากแดด ตามลำดับ และได้ศึกษากลศาสตร์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่ากลไกการยับยั้งเป็นแบบแข่งขัน (competitive-inhibition)

นอกจากนี้ Nithitanakool และคณะ (2009) ได้รายงานว่าการสกัดจากเมล็ดในมะม่วงฟ้าลั่นที่สกัดด้วยเอทานอลอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้โดยค่า IC_{50} เท่ากับ 98.63 ± 1.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และ Zaveri และ Patel (2012) รายงานว่าสารสกัดด้วยเมธานอลจากเปลือกต้นมะม่วงมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 56.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

2.4.4 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการยับยั้งการอักเสบ

การอักเสบเป็นกลไกการป้องกันตัวเองของร่างกายโดยเกิดปฏิกิริยาตอบสนองที่ซับซ้อนของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ต่อสิ่งทีก่ออันตรายจากเชื้อโรค การได้รับบาดเจ็บเมื่อมีการอักเสบเกิดขึ้นร่างกายจะสร้างและสังเคราะห์สารสื่อกลาง (mediator) ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบออกมาเรียก inflammatory mediator ซึ่งมีหลายชนิดที่สำคัญได้แก่พรอสตาแกลนดิน (prostaglandin, PGs), ซีโรโทนิน (serotonin, 5-HT), ฮีสตามีน (histamine), แบริดีไคนิน (bradykinin) ก่อให้เกิดการ แสบ บวม แดง แสบร้อน ปวด บริเวณที่มีการอักเสบและเกิดกระบวนการซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (healing process) เรียกรว่าการอักเสบนี้ว่าการอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammatory) และในบางครั้งยังพบสิ่งแปลกปลอมเกิดการกระตุ้นอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) ซึ่งในระยะนี้เซลล์เม็ดเลือดขาวจะทำหน้าที่ทำลายสิ่งแปลกปลอมซึ่งหากมีเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนมากจะมีผลทำลายเซลล์ปกติข้างเคียงด้วย

การอักเสบเฉียบพลันจะใช้ยาที่ไปช่วยลดการบวม แดง ร้อน ปวด และสูญเสียหน้าที่ของอวัยวะที่เกิดการอักเสบ ส่วนการอักเสบเรื้อรังจะใช้ยาที่ไปมีผลต่อกระบวนการอักเสบ เช่นยับยั้งการทำงานของเม็ดเลือดขาวที่จะไปทำลายเนื้อเยื่อ การใช้ยามีจุดมุ่งหมายในการบรรเทาการอักเสบไม่ได้หวังรักษาให้หายขาด ยาที่นิยมใช้คือกลุ่มสเตียรอยด์แต่ก็พบว่ายากกลุ่มนี้อาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงได้ ปัจจุบันได้มีการศึกษาสารสกัดสมุนไพรและพืชต่าง ๆ ในการบรรเทาการอักเสบในขณะที่มีรายงานว่ามะม่วงนั้นอุดมไปด้วยสารโพลีฟีนอลที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบด้วยเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Robert และคณะ (2008) ได้ทดสอบความสามารถของสารโพลีฟีนอลในมะม่วง เคอร์เซติน แมงจีเฟอริน และไกลโคแมงจีเฟอรินเปรียบเทียบกับนอร์ธาไทรโอรอลในการยับยั้งการทำงานของ peroxizome proliferator-activated receptors (PPARS) ทั้ง 3 ชนิดคือ PPAR γ , PPAR α , PPAR β ที่มีผลต่อกระบวนการอักเสบพบว่าเคอร์เซตินสามารถยับยั้งการทำงานของ PPARS ทั้ง 3 ชนิดมีค่าโดยที่ PPAR γ ค่า IC₅₀เท่ากับ 56.3 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร PPAR α ค่า IC₅₀ เท่ากับ 59.6 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร และ PPAR β ค่า IC₅₀เท่ากับ 76.9 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร และให้ผลการยับยั้งสูงกว่าสารนอร์ธาไทรโอรอล

Gabino และคณะ (2004) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะม่วงต่อการอักเสบในหนูพบว่าหนูที่ได้รับสารสกัดจากมะม่วง 0.5-2 มิลลิกรัมที่ใบหูสามารถลดการอักเสบโดยการกระตุ้นด้วยกรด Arachinoic (AA) และ Phorbol-myristate acetate (PMA) ให้ค่า ED₅₀ เท่ากับ 1.1 มิลลิกรัมต่อใบหู และสามารถลดการทำงานของเอนไซม์ Myeloperoxidase ที่กระตุ้นการอักเสบได้อีกด้วย นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการทำงานของ TNF α โดยการกระตุ้นด้วย Arachinoic (AA) ED₅₀ เท่ากับ 106.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Phorbol myristate acetate (PMA) ค่า ED₅₀ เท่ากับ 58.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.4.5 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2

โรคเบาหวานเป็นความผิดปกติของร่างกายที่มีการผลิตฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงหรือต่ำเกินไปจนทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดผิดปกติโดยแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 เกิดจากการทำลายเซลล์ที่สร้างอินซูลินในตับอ่อนให้หยุดการสร้างอินซูลินจึงต้องมีการฉีดสารอินซูลินเพื่อการรักษาในขณะที่โรคเบาหวานชนิดที่ 2 นั้นร่างกายยังคงมีการสร้างอินซูลินแต่ทำงานไม่เป็นปกติเนื่องจากภาวะการดื้ออินซูลินทำให้น้ำตาลกลูโคสที่ถูกเปลี่ยนด้วยเอนไซม์อะไมเลสถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดมากเกินไป ในการรักษาจำเป็นต้องควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ให้สูงเกินไปโดยการควบคุมอาหารและรับประทานยาเพื่อลดการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลในเลือดเพื่อรักษาผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จากการศึกษาในหลอดทดลองของ Prashanth และคณะ (2001) พบว่าสารสกัดแมงจีเฟอรินด้วยเอธานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดสได้ในขณะที่ Yoshikawa และคณะ (2001) พบว่าแมงจีเฟอรินสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลุ่มกลูโคซิเดสในหนูทดลองได้เช่น เอนไซม์ซูเครสไอโซเมอเรสและมอลเทส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลกลูโคส และยังสามารถลดการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดในลำไส้เล็กได้อีกด้วย นอกจากนี้แมงจีเฟอรินยังสามารถลดน้ำหนักของหนูทดลองด้วย

Miura และคณะ (2011) รายงานว่าจากการทดสอบให้หนูกินแมงจิเฟอร์ริน 90 ไมโครกรัม ต่อ กิโลกรัมเป็นเวลา 7 ชั่วโมงพบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดลดลงร้อยละ 56 และเมื่อทดสอบโดยให้หนูกินแมงจิเฟอร์ริน 30 ไมโครกรัมต่อ กิโลกรัมต่อ กิโลกรัมวันละ 1 ครั้ง หลังจากนั้นให้หนูวิ่งด้วยเครื่องเป็นเวลา 120 นาที 2 สัปดาห์ พบว่าระดับคลอเรสเตอรอลในเลือดลดลงร้อยละ 40 และ ไตรกลีเซอไรด์ลดลงร้อยละ 70

จากการศึกษาของ Qui และคณะ (2007) พบว่าแมงจิเฟอร์รินสามารถยับยั้งการทำงานของ PTP1B ในหนูทดลองซึ่งพบว่าการลดการทำงานของ PTP1B ทำให้มีระดับไตรกลีเซอไรด์ต่ำกว่าหนูปกติที่ไม่ได้รับแมงจิเฟอร์รินและมีอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวน้อยมากเมื่อได้รับอาหารที่มีไขมันสูง PTP1B ซึ่งเป็นโปรตีนที่จัดอยู่ในกลุ่ม PTP ที่พบในเนื้อเยื่อหลายชนิดซึ่งการทำงานของ PTP1B มีผลต่อความไวของระดับน้ำตาลในเลือดและกระบวนการติดต่อฮอร์โมนอินซูลิน

2.4.5 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการยับยั้งจุลินทรีย์

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารเป็นปัญหาใหญ่ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียคุณภาพและอาจไม่ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดซึ่งสาเหตุสำคัญเกิดจากการขาดการจัดการด้านสุขลักษณะในกระบวนการผลิตและจัดเก็บอาหารที่ถูกต้อง นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษานำสารสกัดจากธรรมชาติมาลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ซึ่งมีพืชหลายชนิดที่มีสมบัติในการต้านแบคทีเรียเช่น ขมิ้น ข่า ตะไคร้ กระเทียม เป็นต้น รวมทั้งมะม่วงซึ่งให้สารสกัดที่ต้านแบคทีเรียได้หลายชนิด

Kabuki และคณะ (2000) ศึกษาสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงมายับยั้งแบคทีเรียก่อโรคอาหารเป็นพิษ พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงมีปริมาณโพลีฟีนอลรวมร้อยละ 79 สามารถต้านการเจริญเติบโตของ *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่มีค่า MIC = 50 ppm

Kraipinit และคณะ (2008) รายงานผลการศึกษาฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 5 สายพันธุ์ พบว่ามะม่วงน้ำดอกไม้, ฟ้ายล้น, แรด, เขียวเสวย, และแก้ว มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* ได้ดี

Khammuang และ Sarnthima (2011) รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ajila และคณะ (2007a) ศึกษาปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณแอนโทไซยานินในมะม่วง 2 สายพันธุ์ คือ Raspuri และ Badami พบว่ามะม่วงดิบทั้ง 2 สายพันธุ์มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในส่วนของเปลือกสูงกว่ามะม่วงสุก ในขณะที่ปริมาณ

แคโรทีนอยด์และปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกมะม่วงสุกมีค่ามากกว่าในเปลือกมะม่วงดิบ นอกจากนี้ยังศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการหาค่า reducing power การต้านอนุมูลอิสระ DPPH การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและการยับยั้งเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase) พบว่าสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ Badami มีค่า reducing power สูง ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ Raspuri มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี นอกจากนี้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงสุกมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดี ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกมะม่วงดิบมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสและมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ดี

Ajila และคณะ (2007b) ศึกษาองค์ประกอบที่มีคุณค่าในเปลือกมะม่วงดิบและสุกของมะม่วง 2 สายพันธุ์ คือ Raspuri และ Badami พบว่าเปลือกมะม่วงประกอบด้วยองค์ประกอบที่มีความสำคัญคือสารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ วิตามินซี วิตามินอี และเส้นใยอาหาร โดยในส่วนของเปลือกมะม่วงดิบทั้ง 2 สายพันธุ์มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าในเปลือกมะม่วงสุก ในขณะที่ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณวิตามินซี ปริมาณวิตามินอี และปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำในเปลือกมะม่วงสุกมีค่ามากกว่าในเปลือกมะม่วงดิบ โดยเปลือกมะม่วงสุกพันธุ์ Badami มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดสูงที่สุดและเปลือกมะม่วงดิบพันธุ์ Raspuri มีปริมาณของใยอาหารทั้งหมดต่ำที่สุด

ในปี 2004 Singh และคณะ วิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกในเนื้อมะม่วงพันธุ์เศรษฐกิจของประเทศอินเดีย 6 สายพันธุ์ (Deshi, Langra, Chausa, Mallika, Dashahari และ Amrapali) ทั้งดิบและสุกพบกรดฟีนอลิก 7 ชนิด ได้แก่ กรดแทนนิก กรดแกลลิก กรดวานิลลิก กรดคาเฟอิก กรดเฟอรูลิก กรดคลอโรเจนิก และกรดซินนามิก โดยพบกรดแทนนิกมากที่สุดปริมาณ 3,550 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือกรดคาเฟอิก และกรดแกลลิกโดยมีปริมาณ 300 และ 230 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับในส่วนของเปลือกมะม่วง Beradini และคณะ (2005) พบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดโดยพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 4066 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง สารประกอบฟีนอลิก 2 ชนิดหลักที่พบมาก คือ แมงจีเฟอริน (mangiferin) และ เคอร์ซีตินกาแลคโตไซด์ (quercetin 3-Oglucoside) นอกจากนี้ยังพบแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ประมาณ 203-565 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และระดับความสุก และ Beradini และคณะ (2005) ยังศึกษาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพบว่าสารสกัดจากเปลือกมะม่วงมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่า สารแมงจีเฟอริน และสารเคอร์ซีตินกลูโคไซด์มาตรฐานแสดงให้เห็นว่าความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันต้องใช้สารประกอบทั้งหมดร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงาน ในปี 2007 Abdalla และคณะ ศึกษาชนิด และปริมาณสารโพลีฟีนอลในเมล็ดมะม่วงที่เหลือทิ้งจากโรงงานทำน้ำมะม่วงในประเทศอียิปต์ พบสารโพลีฟีนอล 112

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักแห้ง โดยมีแทนนินร้อยละ (tannin) 20.7 วานิลลิน (vanillin) ร้อยละ 20.2 คูมาริน (coumarin) ร้อยละ 12.6 กรดซินนามิก (cinnamic acid) ร้อยละ 11.2 กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) ร้อยละ 10.4 กรดคาเฟอิก (caffeic acid) ร้อยละ 7.7 กรดแกลลิก (gallic acid) ร้อยละ 6 และแมงจีเฟอริน (mangiferin) ร้อยละ 4.2

การทดลองของ Maisuthisakul และ Pasuk (2007) ได้รายงานปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในเมล็ดมะม่วงสุกของไทย 11 สายพันธุ์ (แก้ว น้ำดอกไม้ เขียวเสวย พิมเสน โชคอนันต์ แรด ฟ้าถัน หัวข้างมันเดือนแก้ว อกร่อง และมหาชนก) พบว่าเมล็ดมะม่วงแก้วสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์สุกโดยมีปริมาณคือ 116.98 และ 115.38 มิลลิกรัมแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักสดตามลำดับ และเมล็ดมะม่วงมันเดือนแก้วสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดต่ำที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 65.43 มิลลิกรัมแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักสด

Ribeiro และคณะ (2007) ศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อมะม่วงสุก 4 สายพันธุ์ (Haden, Tommy Atkins, Palmer และ Ubá) พบว่าปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในเนื้อมะม่วงสุกทั้ง 4 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันอยู่ในช่วง 48.40 (พันธุ์ Haden) ถึง 208.70 มิลลิกรัมแกลลิก/100 กรัม น้ำหนักสด (พันธุ์ Ubá) ต่อมาในปี 2008 Ribeiro และคณะ ได้ศึกษาปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดปริมาณฟลาโวนอล (flavonol) และ แซนโทน ไกลโคไซด์ (xanthone glycoside) ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการหาค่า reducing power การต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยศึกษาในเนื้อเปลือกและเมล็ดในของมะม่วงสุกจากบราซิล 4 สายพันธุ์พบว่าเมล็ดในและเปลือกของมะม่วงสุกพันธุ์ Ubá มีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงสุดโดยมีปริมาณ 82,540 และ 57,240 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักแห้งหรือมีมากกว่าเนื้อถึง 4.6 และ 7.3 เท่าตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับ Soong และ Barlow (2004) ที่ศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในส่วนเนื้อและเมล็ดของมะม่วงพบว่าในส่วนของเมล็ดนั้นมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าในส่วนของเนื้อมะม่วง ในเนื้อและเปลือกของมะม่วงพันธุ์ Ubá พบฟลาโวนอยด์ 12 ชนิด และ แซนโทน ไกลโคไซด์ ในด้านความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นพบว่าในเปลือกและเมล็ดมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี โดยจากการศึกษาพบว่ามะม่วงพันธุ์ Ubá มีสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุดรองลงมาคือ Tommy atkins, Haden และ Palmer ตามลำดับ ในเนื้อของมะม่วงทั้ง 4 สายพันธุ์ แสดงสมบัตการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าใน BHA และกรดแกลลิก

ประพันธ์ (2550) ศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัตการต้านออกซิเดชันของเปลือกเนื้อและเมล็ดในของมะม่วง 6 สายพันธุ์ ทั้งผลดิบและผลสุก คือพันธุ์เขียวเสวย น้ำดอกไม้ แรด โชคอนันต์ ฟ้าถัน และแก้ว พบว่าเมล็ดของมะม่วงทุกสายพันธุ์ทั้งผลดิบและผลสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัตการต้านออกซิเดชันสูงสุดรองลงมาคือเปลือกและเนื้อ โดยพบว่ามะม่วงพันธุ์โชคอนันต์และมะม่วงแก้วจะมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัตการต้านออกซิเดชันสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maisuthisakul และ Gordon (2009) ศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ พบว่าสารสกัดจากมะม่วงดังกล่าวมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระและต้านออกซิเดชันได้ดี นอกจากนี้ยังมีสมบัติที่ดีในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสและไม่มีผลต่อภาวะคายเคืองผิวหนังจากการทดสอบในกระต่าย ดังนั้นสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์จึงเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหาร เกษตรกรรมและเครื่องสำอาง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุประสงค์

มะม่วงแก้ว และ ไซคอนันต์ซื้อจากตลาดไท จังหวัด ปทุมธานี นำมาแยกเอาเมล็ดใน และเก็บรักษาโดยแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำ - 18 องศาเซลเซียส

3.2 สารเคมีในการวิเคราะห์

- กรดแกลลิก	Sigma	เยอรมัน
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical	Sigma	เยอรมัน
- ไทโรซีน	Aldrich	เยอรมัน
- กรดอะซิติก	Merck	เยอรมัน
- เอทานอล 95 %	องค์การสุราไทย	ไทย
- โซเดียมคาร์บอเนต	Merck	เยอรมัน
- Folin-Ciocalteu reagent	BDH	อังกฤษ
- เอ็นไซม์ไทโรซิเนส	Fluka	สวิสเซอร์แลนด์
- เอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส	Bioscience	นอร์เวย์
- เอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส	Sigma	สหรัฐอเมริกา
- เอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	Sigma	สหรัฐอเมริกา
- โซเดียมไฮยาลูโรเนต	Sigma	สหรัฐอเมริกา
- Dimethyl sulfoxide, DMSO	Merck	เยอรมัน
- 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline	Sigma	เยอรมัน
- 6-Sulfonic acid		
- อาร์บูติน	Sigma	เยอรมัน
- L-DOPA	Sigma	เยอรมัน
- รูติน	Merck	เยอรมัน
- โซเดียมไคนิโนเลอเตต	Merck	เยอรมัน
- แคลเซียมคลอไรด์	Sigma	เยอรมัน
- โซเดียมบอร์เรต	Sigma	เยอรมัน
- โซเดียมไฮดรอกไซด์	Sigma	เยอรมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

- เครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	Shimadzu UV-1601	ญี่ปุ่น
- เครื่องอัลตราโซนิก	VIVA CELL	เยอรมัน
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง	Suntex, SP-701	เยอรมัน
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง	Sartorius, BT 3100s	เยอรมัน
- ชุดกรอง Suction Flask และ บั้มความดัน	Buchi B-169	สวิสเซอร์แลนด์
- เครื่องผสม (Vortex Mixer)	Wiggèn Hauser	มาเลเซีย
- ปิเปตอัตโนมัติ	Gilson	ฝรั่งเศส
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ	Memmert	เยอรมัน
- เครื่องปั่นเหวี่ยง	Allegra 64R	สหรัฐอเมริกา
- เครื่องระเหยความดันแบบหมุน	Buchi AG, R-200	สวิสเซอร์แลนด์
- Microplate Reader	Multimode detector	สหรัฐอเมริกา
DTX880, Beckman, coulter.		
-96 well plate reader	Sero-Wel, Bibby sterilin	อังกฤษ

3.4 การเตรียมสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.4.1 สกัดโดยใช้เอทานอล (ดัดแปลงจากวิธีของ ประพันธ์, 2550) ซึ่งเมล็ดในมะม่วงที่บดละเอียดแล้ว 0.5 กรัม ผสมกับเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 100 มิลลิลิตร บดผสมด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็วสูงสุด 2 นาที นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ในอ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และคนทุก 10 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 และระเหยด้วยเครื่องระเหยความดันเป็นเวลา 45 นาที อุณหภูมิ 50 °C และวิเคราะห์ปริมาณผลผลิต ก่อนวิเคราะห์ละลายตัวอย่างด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO)

3.4.2 สกัดโดยเทคนิคอัลตราโซนิกร่วมกับเอทานอล (ดัดแปลงจาก Gharfoor และ Choi, 2009) ซึ่งเมล็ดในมะม่วงที่บดละเอียดแล้ว 0.5 กรัม ผสมกับเอทานอลความเข้มข้น 95 % 100 มิลลิลิตร บดผสมด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็วสูงสุด 2 นาที และนำไปใส่เครื่องอัลตราโซนิกตั้งความถี่สูงสุด 20 KHZ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15, 30, 45 และ 60 นาที จากนั้นนำไปสกัดต่อตามวิธีข้อ 3.4.1 และวิเคราะห์ปริมาณผลผลิต ก่อนวิเคราะห์ละลายตัวอย่างด้วย DMSO

3.5 การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents)

การวิเคราะห์สารโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol content) (ตามวิธีของ Singleton และ Lamuela, 1999) วิเคราะห์โดยให้สารโพลีฟีนอลทำปฏิกิริยากับสาร Folin-Ciocalteu และติดตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิบัติการการเปลี่ยนแปลงการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่ดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก ก)

3.6 การศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.6.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging (DPPH)

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตามวิธีของ Murakami และคณะ (2004) อนุมูลอิสระ DPPH จะถูกรีดิวซ์และเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีจากสีม่วงเข้มไปเป็นไม่มีสี โดยสารตัวอย่างที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีจะทำให้สีม่วงจางหายไปมากขึ้น โดยวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายปฏิกิริยาที่ 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และรายงานผลในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดโทรลออกซ์ต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก ข)

3.6.2 วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก Ferric reducing antioxidative power assay (FRAP)

วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ตามวิธีของ Benzie และคณะ (1999) โดยวัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันภายใต้สภาวะเป็นกรด โดยสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (FeIII-TPTZ) จะถูกรีดิวซ์ได้เป็น ferrous tripyridyltriazine (FeII-TPTZ) ซึ่งให้สารสีน้ำเงินและสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดโทรลออกซ์ต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก ค)

3.6.3 วิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2 scavenging activity assay)

วิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ตามวิธีของ Yen และ Chen (1995) โดยประเมินความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างต่ออนุพันธ์ของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (Reactive oxygen species, ROS) โดยติดตามปริมาณ H_2O_2 ที่เหลืออยู่ซึ่ง H_2O_2 ดูดกลืนแสงได้ที่ 230 นาโนเมตรโดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณหาค่าความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดโทรลออกซ์ต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก ง)

3.6.4 การวิเคราะห์ ความสามารถในการทำลายอนุมูล 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)

วิเคราะห์ตามวิธีของ Zhou และ Yu (2004) เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ ของสารต้านออกซิเดชันที่มีต่ออนุมูล ABTS⁺ ได้โดยตรง สารต้านออกซิเดชันจะทำลายอนุมูล ABTS⁺ ผ่านกลไกการย้ายอิเล็กตรอน ส่งผลให้สารละลายปฏิกิริยาเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสารประกอบไม่มีสีของ ABTS ติดตามการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาโดยวัดการลดลงของสีเขียวที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรโดยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ หลังจากทำปฏิกิริยาไป 6 นาที รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดไทโรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก จ)

3.7 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.7.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

วิเคราะห์ตามวิธี Modified Dopachrome ที่รายงานโดย Long และคณะ (2002) นำสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง ความเข้มข้นต่างๆ กัน มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเทียบกับสารมาตรฐานอาร์บูติน (arbutin) โดยเอนไซม์ไทโรซิเนสเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนสารแอลโดพา (L-dopa) เป็นสารโดพาโครม (DOPA Chrome) ในการวิเคราะห์ใช้เอนไซม์ไทโรซิเนส 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยทดสอบใน 96-well microplates และวัดการเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยาโดยวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate Readers ที่ 450 นาโนเมตร คำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสตามสมการดังนี้

$$\%inhibition = [A_{control} - A_{sample}] / A_{control} \times 100$$

A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงชุดควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดเมล็ดในมะม่วงที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) จากกราฟระหว่างร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสและความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.7.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส (5-lipoxygenase)

วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงตามวิธีที่รายงานโดย Akula และ Odhav (2008) โดยนำสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงความเข้มข้นต่างๆ กัน มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Rutin โดยที่เอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสสามารถคะตะไลต์ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่มี 1-4 diene เป็นส่วนประกอบโดยเร่งการเปลี่ยนกรดไลโนเลอิก (linoleic) เป็นกรด 13 ไฮโดรเปอร์ออกซีไลโนเลอิก (13-hydroperoxylinoleic) วิเคราะห์โดยใช้เอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส 1000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และวัดการเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีวิสซิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 234 นาโนเมตร และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสดังนี้

$$\%inhibition = [A_{control} - A_{sample}] / A_{control} \times 100$$

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงชุดควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดเมล็ดในมะม่วงที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส และความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.7.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase)

วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงตามวิธีที่รายงานโดย Lee และคณะ (2001) โดยนำสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงความเข้มข้นต่างๆ กัน มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี โดยที่เอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสสามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนโซเดียมไฮยาลูโรเนต (sodium hyaluronate) เป็นเอ็น-อะซีทิลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine) วิเคราะห์โดยใช้เอ็นไซม์ 3000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และวัดการเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีวิสซิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ 585 นาโนเมตร และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสตามสมการดังนี้

$$\%inhibition = [A_{control} - A_{sample}] / A_{control} \times 100$$

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงชุดควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดเมล็ดในมะม่วงที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสและความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.7.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase)

วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงตามวิธีที่รายงานโดย Ahmed และคณะ (2001) โดยนำสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงความเข้มข้นต่างๆ กันมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอาร์คาโบสโดยที่เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจะเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสาร *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNP-G) เป็น *p*-nitrophenol ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลืองและน้ำตาลกลูโคส วิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และวัดความเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีวิสซิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ตามสมการดังนี้

$$\%inhibition = [A_{control} - A_{sample}] / A_{control} \times 100$$

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงชุดควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดเมล็ดในมะม่วงที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (\pm SD) แล้วนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.05$)

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณผลผลิตและโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์

จากตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าปริมาณผลผลิต (% yield) และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่สกัดด้วยเอทานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลเพียงอย่างเดียวและเมื่อระยะเวลาในการใช้อัลตราโซนิกนานขึ้นส่งผลให้ค่าทั้ง 2 เพิ่มขึ้นด้วย โดยที่เมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดที่เวลา 45 และ 60 นาทีสารสกัดที่ได้มีค่าทั้งสองดังกล่าวสูงสุดโดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วมีปริมาณผลผลิตคือร้อยละ 2.48 ± 0.03 และ 2.49 ± 0.06 ตามลำดับ และมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 137.49 ± 1.15 และ 138.71 ± 2.52 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ เช่นเดียวกับมะม่วงโชคอนันต์มีปริมาณผลผลิตและมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดเมื่อสกัดด้วยเอทานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกที่ 45 และ 60 นาทีสูงสุดและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยปริมาณผลผลิตมีค่าเท่ากับร้อยละ 3.52 ± 0.03 และ 3.56 ± 0.02 ตามลำดับ และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 170.12 ± 0.93 และ 170.63 ± 0.93 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ นอกจากนี้จะเห็นว่าที่เวลาในการสกัดเท่ากันสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์ให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว

จากผลการศึกษาของ Maisuthisakul และ Gordon (2009) ที่รายงานหาปริมาณผลผลิตทั้งหมดของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์ที่สกัดโดยวิธีเตรียมเมล็ดในมะม่วงต่างกันคือเตรียมโดยทำแห้งโดยตากแห้งและอบด้วยความร้อนแล้วนำมาสกัดด้วยเอทานอลและน้ำให้ปริมาณผลผลิตร้อยละ 2.01 ± 0.6 , 2.56 ± 0.12 , 3.19 ± 0.22 และ 3.83 ± 0.21 ตามลำดับ และยังรายงานอีกว่าเมื่อสกัดที่สภาวะที่แตกต่างกันให้ปริมาณผลผลิตแตกต่างกันด้วยคือ การสกัดด้วยวิธีรีฟลักซ์ให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าการย่อยด้วยกรดและการเขย่าตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของเมล็ดในมะม่วงที่ทำแห้งทั้ง 2 วิธีคืออบด้วยความร้อน และการตากแดดแล้วนำไปสกัดด้วยเอทานอลและน้ำให้ผลปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 89.9 ± 0.23 , 68.1 ± 0.13 , 53.7 ± 0.54 และ 44.5 ± 0.36 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแทนนิก ตามลำดับ

Khammuang และ Sarnthima (2011) รายงานว่า ปริมาณผลผลิตของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไทย 4 สายพันธุ์ ที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำได้แก่ ฟาลัน น้ำดอกไม้ โชคอนันต์และแก้ว

มีค่าเท่ากับร้อยละ 12.35, 9.13, 6.87 และ 4.09 ตามลำดับ และพบว่าปริมาณโพลีสีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าสูงสุดรองลงมาคือ ฟาลัน น้ำดอกไม้ และ แก้ว โดยมีค่าเท่ากับ 299.8 ± 8.2 , 293.1 ± 22.5 , 118 ± 0.2 และ 73.8 ± 3.2 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัดตามลำดับ นอกจากนี้ Abdalla และคณะ (2007) รายงานปริมาณโพลีสีนอลทั้งหมดที่พบในเมล็ดในมะม่วงของประเทศอียิปพบว่าปริมาณโพลีสีนอลทั้งหมดเท่ากับ 112 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งเมล็ดในมะม่วง

จากผลการทดลองที่ได้จะเห็นได้ว่าปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีสีนอลทั้งหมดแตกต่างกันจากรายงานของ Maisutisakul และ Pasuk (2007) ได้รายงานปริมาณสารโพลีสีนอลทั้งหมดของเมล็ดมะม่วงสุกของไทย 11 สายพันธุ์ คือ แก้ว น้ำดอกไม้ เขียวสวย พิมพ์เสน ไซคอนันต์ แรด ฟาลัน หัวช้าง มันเดือนแก้ว อกร่อง และ มหาชนก โดยพบว่าเมล็ดมะม่วงแก้วสุกก็มีปริมาณสารโพลีสีนอลทั้งหมดสูงสุดคือ 116.98 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ มะม่วงไซคอนันต์ มะม่วงน้ำดอกไม้ และมะม่วงเขียวสวย ตามลำดับ และในปี 2008 Maisuthisakul ยังได้รายงานอีกว่าปริมาณผลผลิตของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 11 พันธุ์ที่สกัดด้วยเอธานอล คือ แก้ว น้ำดอกไม้ เขียวสวย พิมพ์เสน ไซคอนันต์ แรด ฟาลัน หัวช้าง มันเดือนแก้ว อกร่อง และ มหาชนก โดยที่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงพิมพ์เสนให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดที่ร้อยละ 3.41 ± 0.06

จากตารางที่ 4.1 พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์เมื่อสกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิคสกัดมีปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีสีนอลทั้งหมดสูงกว่าการใช้เอธานอลในการสกัดเพียงอย่างเดียวและเมื่อเพิ่มเวลาในการใช้อัลตราโซนิคยังให้ค่าปริมาณผลผลิตและโพลีสีนอลทั้งหมดยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้ที่ระยะเวลาในการใช้เทคนิคอัลตราโซนิคที่ 45 และ 60 นาทีให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

สอดคล้องกับรายงานของ Cho และคณะ (2006) รายงานว่าการใช้เทคนิคอัลตราโซนิคในการสกัดสารสกัดจากเปลือกองุ่นช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 30 จากการสกัดด้วยตัวทำละลายปกติและมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการใช้อัลตราโซนิคเพิ่มขึ้น Falleh และคณะ (2012) รายงานผลการศึกษาการสกัดดอกไม้พื้นเมืองของประเทศแอฟริกา *Mesembryanthemum edule* L. โดยใช้เทคนิคอัลตราโซนิคในการช่วยสกัดร่วมกับเอธานอลและเมทานอลที่เวลา 5 และ 10 นาที พบว่าที่การสกัด 10 นาที ให้ปริมาณโพลีสีนอลทั้งหมดสูงกว่าการสกัดที่ 5 นาที ทั้งการสกัดด้วยเอธานอล และ เมทานอล

ทั้งนี้ในการสกัดสารโพลีสีนอลจากพืชนั้นมีปัจจัยต่าง ๆ มาเกี่ยวข้องเพื่อให้ได้ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีสีนอลทั้งหมดออกมามากที่สุด คือ สายพันธุ์ สารสกัด ระยะเวลา อุณหภูมิ วิธีและสภาวะในการสกัด (Gonzalez- Montelongo และ Lobo, 2010)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการสกัดสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิก ให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดออกมาสูงกว่าการใช้เอธานอลเพียงอย่างเดียวในการสกัดและสูงเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจึงเลือกใช้เวลา 45 นาที เป็นเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงด้วยวิธีใช้เอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิก และการที่ใช้เอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดออกมาสูงกว่าการใช้เอธานอลสกัดเพียงอย่างเดียวนั้นเนื่องจากเทคนิคอัลตราโซนิกนั้นมีผลให้เยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์พืชแตกออก ทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของตัวทำละลายกับสารพฤษเคมีในเซลล์ได้มากและถูกสกัดออกมาได้ง่ายรวมถึงยังช่วยลดระยะเวลาในการสกัดอีกด้วย (Rostagno และคณะ, 2003) และนอกจากนี้เทคนิคอัลตราโซนิกยังเป็นวิธีสะดวกและง่ายต่อการสกัดสารโพลีฟีนอลออกจากเซลล์พืชอีกด้วย Klejdusa และคณะ (2009)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์

พันธุ์	ตัวอย่างวิธีสกัด	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด)
แก้ว	เอธานอล	1.60±0.06 ^a	71.74±0.97 ^f
	เอธานอล + อัลตราโซนิก 15 นาที	1.71±0.03 ^f	70.93±0.63 ^f
	เอธานอล + อัลตราโซนิก 30 นาที	2.10±0.07 ^e	91.64±0.80 ^e
	เอธานอล + อัลตราโซนิก 45 นาที	2.48±0.03 ^c	137.49±1.15 ^b
	เอธานอล + อัลตราโซนิก 60 นาที	2.49±0.06 ^c	138.71±2.52 ^b
โชคอนันต์	เอธานอล	2.16±0.02 ^e	110.02±1.06 ^d
	เอธานอล + อัลตราโซนิก 15 นาที	2.29±0.04 ^d	110.32±0.93 ^d
	เอธานอล + อัลตราโซนิก 30 นาที	2.73±0.03 ^b	124.36±1.69 ^c
	เอธานอล + อัลตราโซนิก 45 นาที	3.52±0.03 ^a	170.12±1.89 ^a
	เอธานอล + อัลตราโซนิก 60 นาที	3.56±0.02 ^a	170.63±0.93 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ความถี่ของอัลตราโซนิกเท่ากับ 20 KHz

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

4.2.1 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

จากตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง ทั้ง 2 พันธุ์ที่สกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิคให้ผลการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียว โดยสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ผลการต้านออกซิเดชันแบบ DPPH สูงกว่ามะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ 254.64 ± 1.1 และ 197 ± 5.8 มิลลิกรัมสมมูลย์ไทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ เช่นเดียวกับการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียวสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าสูงกว่ามะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ 117.06 ± 4.1 และ 92.61 ± 3.7 มิลลิกรัมสมมูลย์ไทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

4.2.2 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (Ferric reducing antioxidative power assay, FRAP)

จากตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกพบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงที่สกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิคให้ผลการรีดิวซ์เฟอริกสูงกว่าการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียวทั้งมะม่วงแก้วและไซคอนันต์ โดยสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าสูงกว่ามะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ 289.47 ± 3.2 และ 206.32 ± 2.4 มิลลิกรัมสมมูลย์ไทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียวสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าสูงกว่ามะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ 123.43 ± 2.5 และ 91.24 ± 3.3 มิลลิกรัมสมมูลย์ไทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ

4.2.3 ความสามารถในการในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

จากตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงที่สกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิคให้ผลในการในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่าการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียวทั้งมะม่วงแก้วและไซคอนันต์โดยสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าสูงกว่ามะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ 110.2 ± 2.2 และ 108.7 ± 3.0 มิลลิกรัมสมมูลย์ไทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียว สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าสูงกว่ามะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ 60.5 ± 2.8 และ 49.1 ± 4.9 มิลลิกรัมสมมูลย์ไทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

4.2.4 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), (ABTS)

สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้งสองพันธุ์ที่สกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิคให้ผลในการในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่าการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียว โดยสาร

สกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าสูงกว่ามะม่วงแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เท่ากับ 198.68 ± 0.4 และ 92.40 ± 1.5 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ และ 166.74 ± 0.9 และ 82.66 ± 1.1 มิลลิกรัมสมมูลย์โทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด สำหรับการสกัดโดยวิธีใช้เอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกและการสกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียวตามลำดับ

จากรายงานของ Khammuang และ Samthima, (2011) ได้ทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 4 สายพันธุ์ ที่สกัดโดยใช้ น้ำ คือ ไซคอนันต์ ฟาลัน แก้ว และ น้ำดอกไม้ โดยวิธี DPPH และ ABTS พบว่า สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงกว่ามะม่วงแก้ว

Maisutisakul และ Gordon (2009) ได้รายงานความสามารถในการทำลายอนุมูล DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ที่เตรียมเมล็ดในมะม่วงโดยวิธีต่าง ๆ พบว่าการทำแห้งเมล็ดในมะม่วงโดยการตากแดดและสกัดด้วยเอธานอลมีความสามารถในการทำลายอนุมูล DPPH สูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.56 ± 0.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับการทดสอบการทำลายอนุมูล ABTS การทำแห้งเมล็ดในมะม่วงโดยการตากแดดและสกัดด้วยเอธานอลมีความสามารถในการทำลาย ABTS สูงสุดคือ 1.03 ± 0.13 มิลลิโมลโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด

รายงานของ Maisuthisakul (2008) ได้ทำการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของมะม่วงไทย 11 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยเอธานอล ซึ่งพบว่ามะม่วงไซคอนันต์มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ใกล้เคียงกับมะม่วงแก้วมีค่า IC_{50} เท่ากับ 13.67 ± 0.44 และ 13.06 ± 0.86 ตามลำดับ ทั้งนี้ผลที่แตกต่างกันเกิดจากวิธีการเตรียมเมล็ดในมะม่วงและวิธีสกัดรวมถึงตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแตกต่างกันด้วย (Soong และคณะ, 2004) สอดคล้องกับรายงานของ Ksouri และคณะ (2008) ที่รายงานว่าสารโพลีฟีนอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากพืชนั้นขึ้นอยู่กับสภาวะในการสกัดด้วย

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง แก้ว และไซคอนันต์จากการทดสอบทั้ง 4 วิธีพบว่าสารสกัดที่สกัดโดยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกให้ผลการทดสอบการต้านออกซิเดชันได้สูงกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอธานอลเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้จากผลการทดสอบหาปริมาณผลผลิต และ ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดที่สกัดออกมาได้สูง (ตารางที่ 4.1) และสอดคล้องกับการรายงานของ Lou และคณะ (2011) ได้ทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากใบ burdock ซึ่งพบว่าที่ความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดที่สกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกและเทคนิคไมโครเวฟให้ผลการทำลายอนุมูล DPPH สูงกว่าการสกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคไมโครเวฟ นอกจากนี้ที่ความเข้มข้น 1.5 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดที่สกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกและเทคนิคไมโครเวฟให้ผลการทำลายอนุมูลไฮดรอกซิลได้ดีกว่าการใส่เอธานอลสกัดเพียงอย่างเดียวอีกด้วยและนอกจากนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังพบอีกว่ามะม่วงไซคอนันต์ให้ค่ามากกว่ามะม่วงแก้วซึ่งความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารโพลีฟีนอลที่สกัดได้นั้นขึ้นอยู่กับชนิด ปริมาณ และโครงสร้างที่แตกต่างกันของสารโพลีฟีนอลที่สกัดได้ด้วย (Abdalla และคณะ, 2007) สอดคล้องกับรายงานของ Ksouri และคณะ (2008) ที่รายงานว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชนั้นขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของสารโพลีฟีนอล

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยวิธีต่าง ๆ ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์

พันธุ์	วิธีสกัด	DPPH (มิลลิกรัม สมมูลย์กรดโทโร ลออกต่อกรัมสาร สกัด)	FRAP (มิลลิกรัม สมมูลย์กรดโทโร ลออกต่อกรัมสาร สกัด)	H ₂ O ₂ (มิลลิกรัม สมมูลย์กรดโทโร ลออกต่อกรัมสาร สกัด)	ABTS (มิลลิกรัม สมมูลย์กรดโทโร ลออกต่อกรัมสาร สกัด)
แก้ว	เอธานอล	92.61 ^d ±3.7	91.24 ^d ±3.3	49.15 ^d ±4.9	82.66 ^d ±1.1
แก้ว	เอธานอล+อัลตรา โซนิก 45 นาที	197.00 ^b ±5.8	206.32 ^b ±2.4	108.79 ^b ±3.0	92.40 ^b ±1.5
ไซคอนันต์	เอธานอล	117.07 ^c ±4.1	123.43 ^c ±2.5	60.54 ^c ±2.8	166.74 ^c ±0.9
ไซคอนันต์	เอธานอล+อัลตรา โซนิก 45 นาที	254.64 ^a ±1.1	289.47 ^a ±3.2	110.24 ^a ±2.2	198.68 ^a ±0.4

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

4.3 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน (melanin) ที่เรียกว่า เมลาโนเจเนซิส (melanogenesis) ในร่างกายซึ่งพบในชั้นล่างสุดของหนังกำพร้า (epidermis) ชื่อเมลานินไซต์ (melanocyte) ทำหน้าที่โดยเร่งการเปลี่ยนแปลงจากกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) ให้เปลี่ยนเป็นแอล-โดปา (L-DOPA) และโดปาคิวโนน (DOPA quinone) จนกลายเป็นเม็ดสีเมลานินต่อไป หากร่างกายมีการสร้างเม็ดสีเมลานินผิดปกติไม่ว่าจะเกิดจากปัจจัยภายนอกและภายในร่างกายก็ตาม เป็นสาเหตุให้เกิดรอยดำ ฝ้า กระ อันไม่พึงประสงค์ ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางจึงให้ความสนใจหาสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเพื่อเป็นส่วนประกอบสำหรับผลิตภัณฑ์ทาฝ้าลดเลือนจุดต่างดำและให้เกิดความกระจ่างใส

จากการนำสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์ที่เตรียมโดยสกัดด้วยเอธานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกเวลา 45 นาที ซึ่งเป็นเวลาที่เหมาะสมในการสกัดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากผลการทดลองตารางที่ 4.3 พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ให้ผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสใกล้เคียงกับสารมาตรฐานอาร์บูตินที่นิยมใช้ในเครื่องสำอางโดยให้ค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์ และสารอาร์บูตินที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสลดลงเหลือร้อยละ 50 เท่ากับ 20.63 ± 0.3 , 19.68 ± 1.2 และ 20.45 ± 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์เปรียบเทียบกับสารอาร์บูติน

ตัวอย่างสารสกัด	IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว	$20.63^a \pm 0.3$
สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์	$19.68^a \pm 1.2$
สารอาร์บูติน (สารมาตรฐาน)	$20.45^a \pm 0.2$

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
 IC_{50} หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสลดลงเหลือร้อยละ 50

จากรายงานงานของ Maisuthisakul และ Gordon (2009) รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์ที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธีคือการสกัดด้วยกรดการรีฟลักซ์ และการตากแห้งและสกัดด้วยเอธานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินได้โดยที่การสกัดด้วยกรดให้ผลการยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุดรองลงมาคือ การสกัดด้วยการรีฟลักซ์และการตากแห้ง ตามลำดับโดยค่า IC_{50} เท่ากับ 4.13 ± 0.03 , 6.94 ± 0.04 และ 7.45 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

นอกจากนี้ Nithitanakool และคณะ (2009) ได้รายงานว่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงฟ้าลั่นที่สกัดด้วยเอธานอลอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสได้โดยค่า IC_{50} เท่ากับ 98.63 ± 1.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ Zaveri และ Patel (2012) รายงานว่าสารสกัดด้วยเมธานอลจากเปลือกต้นมะม่วงมีความสามารถในการยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 56.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการที่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสนั้น เนื่องจากในสารสกัดของเมล็ดในมะม่วงประกอบด้วยสารโพลีฟีนอลมากมาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลายชนิด โดยที่ Ahmed และคณะ (2007) รายงานว่าเมล็ดในมะม่วงมีสารโพลีฟีนอลหลายชนิดเช่นแทนนิน กรดแกลลิก คูมาริน กรดคาเฟอิก วานิลิน แมงจีเฟอร์ริน กรดเพอรูริก กรดชินามิก และอื่นๆ สอดคล้องกับรายงานของ Rompel และคณะ (1999), Shimogaki และคณะ (2000) ซึ่งรายงานสารโพลีฟีนอลเช่น กรดแอสลาจิก กรดแทนนิน และ เคอร์เซติน สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสโดยสารโพลีฟีนอลดังกล่าวจะไปจับกับโลหะคอปเปอร์ซึ่งเป็นโคเอ็นไซม์ที่บริเวณเร่ง (active site) ของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส (Kim และคณะ, 1998)

สารสกัดจากพืชที่มีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและส่วนต่างๆ รวมถึงสารที่ใช้ในการสกัดทุกชนิดมีจากพืชออกมาโดยที่ Narayanaswamy และคณะ (2011) รายงานผลการทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสจากพืช 5 ชนิด คือเหง้าของ *Asparagus racemosa* เหง้าของ *Curcuma zedoaria* ใบของ *Lippia nodiflora* ใบของ *Holarrhenna antidysentrica* และใบของ *Pachygone ovata* สกัดโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด พบว่า การสกัดด้วยน้ำให้ผลการยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสได้สูงกว่าการสกัดด้วยเอธานอล และ ปิโตรเลียมอีเทอร์ และตัวอย่างเหง้าของ *Asparagus racemosa* ที่สกัดด้วยน้ำให้ผลยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสสูงสุทธ้อยู่ที่ 43.29

นอกจากนี้ยังมีรายงานเพิ่มเติมอีกว่าการเติมสารต้านออกซิเดชันสามารถชะลอกระบวนการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินได้อีกด้วยโดยมีกลไกไปยับยั้งหรือทำลายอนุมูล Reactive oxygen species (ROS) และ Reactive Nitrogen species (RNS) ที่ไปกระตุ้นการสร้าง O-quinone ซึ่งเป็นสารสื่อกลางในกลไกการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินในปฏิกิริยา oxidative polymerization (Karg และคณะ, 1993)

จากสมบัติดังกล่าวจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์มีความศักยภาพในการยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานอาร์บูติน นอกจากนี้สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงยังมีสมบัติการต้านออกซิเดชันได้ดีตามผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งเป็นแนวทางที่จะนำสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้งสองพันธุ์ไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

4.4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส (5-lipoxygenase)

กระบวนการอักเสบที่เกิดจากกรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid) มีเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องคือเอ็นไซม์ไซคลอออกซีจีเนส และ 5-ไลพอกซีจีเนสโดยที่กรดอะราชิโดนิกจะถูกเมทาบอลไลต์โดยผ่านการทำงานของเอ็นไซม์ 2 ชนิดนี้ได้เป็นสารกลุ่ม อีโคซานอยด์ (eicosanoids) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการอักเสบส่วนเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาชีวเคมีในร่างกายที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบนั้นจะไปเร่งการเปลี่ยนจากกรดอะราชิโดนิกเป็นไฮโดรเปอร์ออกซี-อีโคซาเตตระ

อีโนอิก (hydroperoxy-eicosatetraenoic acid, HPETE's) และลิวโคไตรอีน (leukotrienes, LT's) ซึ่งเป็นสารสื่อกลางในการกระตุ้นการอักเสบของร่างกาย (Alitonou และคณะ, 2006)

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารรูติน (Rutin) ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่ใช้ทดสอบการต้านการอักเสบโดยทั่วไป (ตารางที่ 4.4) พบว่าสารรูตินมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสสูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสลดลงเหลือร้อยละ 50 เท่ากับ 9.31 ± 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์และสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วตามลำดับ IC_{50} เท่ากับ 30.94 ± 0.3 และ 39.77 ± 2.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การที่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้งสองพันธุ์สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสได้นั้นอาจเนื่องจากโพลีฟีนอลมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันโดยที่มีรายงานว่าพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสามารถที่จะยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์เอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสได้อีกด้วย (Ammon และคณะ, 1993) นอกจากนี้ยังไปทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาโบลิซึมของกรดอะร่าซิโนอิกที่เกี่ยวกับการอักเสบอีกด้วย (Trouillas และคณะ, 2003) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสจากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงก่อนหน้านี้จึงอภิปรายเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่น

การทดลองของ Akula และ Odhav (2008) รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสของพืชในแอฟริกาใต้ 18 ชนิดเทียบกับสารรูตินและนอร์ติโดไฮโดรกวอะเรติก (Nordihydroguaiaretic) เป็นสารมาตรฐานพบว่านอร์ติโดไฮโดรกวอะเรติกสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส ได้สูงสุดรองลงมาคือรูติน โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 4.1 และ 7.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดจากต้น *Bidens pilosa* มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสได้สูงสุด IC_{50} เท่ากับ 21.8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในขณะที่ Karunaseree และคณะ (2012) รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสของสารสกัดจากเปลือกต้น *Soymida febricfuca* พบว่าการสกัดด้วยเมธานอลให้ผลการยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสสูงสุด รองลงมาคือสกัดด้วยน้ำและคลอโรฟอร์มตามลำดับโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.05, 4.75 และ 37.10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Silvia และคณะ (2012) รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสของสารสกัดจากพืช 8 ชนิดพบว่าสารสกัดจากต้น *Foeniculum vulgare* ให้ผลการยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสสูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 27.4 ± 0.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากต้น *Thymus camphorates* มีค่า IC_{50} เท่ากับ 33.1 ± 0.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ให้ผลการทดลองต่ำกว่าสารมาตรฐานทั้งนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของสารโพลีฟีนอลในสารสกัดดังกล่าวอาจแตกต่างกันไปจากพืชชนิดอื่น หรือมีส่วนส่วนของโพลีฟีนอลที่สามารถยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสไม่สูงมากจนไม่สามารถแสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ดังกล่าวเด่นชัด

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์การยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์ เปรียบเทียบกับสารรูติน

ตัวอย่างสารสกัด	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว	39.77 ^c ±2.4
สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์	30.94 ^b ±0.3
สารรูติน (สารมาตรฐาน)	9.31 ^a ±0.4

หมายเหตุ : แสดงค่าการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสลดลงเหลือร้อยละ 50

4.5 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase)

เอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเป็นเอ็นไซม์ที่มีความสำคัญเกี่ยวกับการเกิดริ้วรอยที่ผิวหนังโดยมีสมบัติในการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิก (Hyaluronic acid) ซึ่งเป็นของเหลวที่อยู่ระหว่างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในชั้นผิวหนังระหว่างคอลลาเจนและเส้นใยอีลาสติน กรดไฮยาลูโรนิกเป็นสารที่ชอบน้ำ และสามารถคงปริมาณน้ำภายในเซลล์ได้ดีช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้เนื้อเยื่อโดยไปลดการสูญเสียน้ำทำให้ผิวหนังคงสภาพสมบูรณ์แลดูเต่งตึงและสดใส (Sadick และคณะ, 2009)

จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับวิตามินซีที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน (ตารางที่ 4.5) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มีผลการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้สูงกว่ามะม่วงแก้วและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวิตามินซี โดยมีค่า IC₅₀ ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสลดลงเหลือร้อยละ 50 เท่ากับ 37.28±0.22 และ 39.29±0.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วให้ผลการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสต่ำที่สุดมีค่า IC₅₀=47.61±2.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เนื่องจากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสจากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงยังไม่มียางานการศึกษามาก่อนจึงอภิปรายเปรียบเทียบกับผลการศึกษานี้ของพืชชนิดอื่น Sahasrabudhe และ Deodhar (2010) รายงานผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดจากต้น *Garcinia indica* พบว่าสารสกัดที่ผ่านการแยกส่วนสกัดเพื่อทำให้บริสุทธิ์ด้วยเอทริลอะซิเตต (EAF) สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้สูงถึงร้อยละ 88.33-90.40 ที่ความเข้มข้น 25-500 ไมโครกรัม ในขณะที่การแยกส่วนสกัดด้วยน้ำให้ผลการยับยั้งไม่สูงมาก

Sumantran และคณะ (2007) รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสจากสมุนไพรอินเดียซึ่งประกอบด้วยพืช 2 ชนิด คือ *Triphala guggulu* (TG) และ *Triphala shodhit guggulu* (TSG) จากการทดสอบพบว่าสารสกัดด้วยน้ำร่วมกับเอธานอลของ TSG ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ร้อยละ 100 ± 29.19 และสารสกัดด้วยน้ำร่วมกับเอธานอลของ TSG ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ร้อยละ 88.60 ± 9.55

จากผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดจาก *Terminalia arjunar* (TA) Satardekar และ Deodhar, (2010) รายงานว่า ที่ความเข้มข้น 25-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ร้อยละ 47.18 ± 5.4 ถึง 67.59 ± 5.8 *Terminalia chebular* (TC) ที่ความเข้มข้น 25-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ร้อยละ 25.46 ± 5.9 ถึง 89.65 ± 3.9

จะเห็นได้ว่าความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์ให้ผลการยับยั้งแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับสายพันธุ์ และส่วนประกอบของสารโพลีฟีนอลที่สกัดออกมาได้ และนอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นก็ให้ผลการทดลองออกมาต่างกัน นอกจากนี้ฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสก็ยังขึ้นกับ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดอีกด้วย Girish และ Kemparaju, (2005) รายงานว่าสารโพลีฟีนอลเช่น เคอร์เซติน กรดแทนนิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ และยังยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสในเสปิมได้อีกด้วย (Garg และคณะ, 2005) Girish และ Kemparaju (2005) ยังได้รายงานเพิ่มอีกว่าสารสกัดจากพืชที่มี เคอร์คูมิน เคอร์เซติน และกรดอาริสโตโลซิค ยังสามารถยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสจากงูได้อีกด้วย

ตารางที่ 4.5 การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารวิตามินซี

ตัวอย่างสารสกัด	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว	47.61 ^a ± 2.9
สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์	37.28 ^b ± 1.6
วิตามินซี (สารมาตรฐาน)	39.29 ^b ± 0.2

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
IC₅₀ หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสลดลงเหลือร้อยละ 50

4.6 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase)

โรคเบาหวานเป็นความผิดปกติของร่างกายที่มีการผลิตฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงหรือต่ำเกินไปจนส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดผิดปกติ โดยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 นั้นร่างกายยังคงมีการสร้างอินซูลินแต่ทำงานไม่เป็นปกติเนื่องจากภาวะการดื้ออินซูลินทำให้น้ำตาลกลูโคสที่ถูกย่อยสลายจากอาหารด้วยเอ็นไซม์อะไมเลสถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดมากเกินไป ในการรักษาจำเป็นจะต้องควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ให้สูงเกินไปโดยการควบคุม อาหารและรับประทานยาเพื่อการลดการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลในเลือดโดยที่เอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสดังนั้นจึงมีความสำคัญต่อผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งต้องการควบคุมอาหารและระดับน้ำตาลในเลือด

จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอาร์คาร์โบสจากตารางที่ 4.6 พบว่าสารอาร์คาร์โบสสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดรองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ และมะม่วงแก้วตามลำดับโดยมีค่า IC₅₀ ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสลดลงเหลือร้อยละ 50 เท่ากับ 104.42±5.5, 113.51±5.8 และ 163.19±2.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มีฤทธิ์การยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสใกล้เคียงกับสารมาตรฐานอาร์คาร์โบสที่นิยมใช้ในควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มีโพลีฟีนอลรวมสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วจึงทำให้

มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว จากรายงานของ McDougall และคณะ (2005) แสดงให้เห็นว่าสารโพลีฟีนอลจากพืชสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส อีกด้วย นอกจากนี้ li และ Seeram (2010) ได้รายงานอีกว่าสารสกัดจากเมเบิลไทร์ที่สกัดด้วยบิวทานอลมีสารโพลีฟีนอลและสารพฤกษเคมีสูงกว่าการสกัดด้วยเอธิลอะซิเตตทำให้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงและเนื่องจากฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงยังไม่มีรายงานก่อนหน้านี้จึงอภิปรายเปรียบเทียบผลการทดลองกับพืชชนิดอื่น

Reshma และคณะ (2012) รายงานผลการศึกษาศักยภาพในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากสารสกัดจากกากงาดำที่เหลือจากการสกัดน้ำมันงาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอาร์คาโบส ผลการศึกษพบว่าสารสกัดจากกากงาดำที่สกัดด้วยเมธานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงกว่าสารมาตรฐานอาร์คาโบสมีค่า IC_{50} เท่ากับ 375 ± 5 และ 444.30 ± 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

Apostolidis และคณะ (2011) รายงานการทดสอบสารสกัดโพลีฟีนอลจากเมเบิลไทร์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต เพื่อการควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่า สารสกัดเมเบิลไทร์ที่สกัดด้วยบิวทานอลให้ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากยีสต์สูงกว่าการสกัดด้วยเอธิลอะซิเตต โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 68.38 และ 107.9 ไมโครกรัมฟีนอลิกต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และยังรายงานเพิ่มเติมว่าเมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากหนู พบว่าสารสกัดเมเบิลไทร์ที่สกัดด้วยบิวทานอลให้ผลการยับยั้งสูงกว่าการสกัดด้วยเอธิลอะซิเตตเช่นกันโดยมี ค่า IC_{50} เท่ากับ 135 และ 187 ไมโครกรัมฟีนอลิกต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Xiao-Ping และคณะ (2010) รายงานผลการทดสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากพืชที่มีสรรพคุณทางยาพบว่าสารสกัดชนิด ginsenoside Rg₁, Rb₁, Rg₃, Re และ notoginsenoside R₁, purarin, soyasaponin I, dioscin, timosaponin A₃, taraxasterol และ ursolic สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ ซึ่งสนับสนุนว่าโสมสายพันธุ์ *Panax ginseng* สามารถนำไปใช้สำหรับควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ได้

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานอาร์คาโบส จึงมีศักยภาพที่จะนำไปประยุกต์เพื่อใช้รักษาผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ในการช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดควบคู่กับการควบคุมการรับประทานอาหาร

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารอาร์คาโบส

ตัวอย่างสารสกัด	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว	163.19 ^a ±2.3
สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์	113.51 ^b ±5.8
สารอาร์คาโบส (สารมาตรฐาน)	104.42 ^c ±5.5

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
IC₅₀ หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสลดลงเหลือร้อยละ 50



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์ที่สกัดโดยการใช้อุณหภูมิต่ำร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดที่สกัดโดยใช้เอทานอลเพียงอย่างเดียวจากมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ โดยที่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าต่าง ๆ สูงกว่าสารสกัดจากมะม่วงแก้วและเมื่อระยะเวลาในการใช้เทคนิคอัลตราโซนิกเพิ่มขึ้นยังมีผลทำให้ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นด้วย โดยระยะเวลาที่ให้ค่าดังกล่าวสูงคือที่ระยะเวลาในการใช้เทคนิคอัลตราโซนิก 45 และ 60 นาที ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการสกัดโดยใช้เอทานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกที่เวลา 45 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

ผลการทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันทั้ง 4 วิธี พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่สกัดโดยใช้เอทานอลร่วมกับเทคนิคอัลตราโซนิกมีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงที่สกัดด้วยเอทานอลเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้สมบัติการออกซิเดชันที่ทดสอบทั้ง 4 วิธีสูงกว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วอีกด้วย

สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่เตรียมโดยเอทานอลร่วมกับอัลตราโซนิกยังมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินในเซลล์ผิวหนังของมนุษย์ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอาร์บูตินโดยมีค่า IC_{50} สำหรับสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ มะม่วงแก้วและสารอาร์บูติน เท่ากับ 19.68 ± 1.2 , 20.63 ± 0.3 และ 20.45 ± 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-โลพอกซีจีเนสที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบจากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ให้ผลการทดลองต่ำกว่าสารรูติน ซึ่งสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ มะม่วงแก้ว และสารรูตินมีค่า IC_{50} เท่ากับ 30.94 ± 0.3 , 39.77 ± 2.4 และ 9.31 ± 0.4 ตามลำดับโดยที่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าสูงกว่ามะม่วงแก้วและฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารไฮยาลูโรนิกที่เป็นส่วนประกอบในผิวหนังซึ่งทำหน้าที่อุ้มน้ำให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวจากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ มะม่วงแก้ว และวิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 37.28 ± 1.6 , 47.61 ± 2.9 และ 39.29 ± 0.2 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าไม่แตกต่างจากวิตามินซี ส่วนฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์อัลฟา-กลูโคซิเดสที่ทำหน้าที่ย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลจากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ มะม่วงแก้ว และสารอาร์คาโบสมีค่า IC_{50} เท่ากับ 113.51 ± 5.8 , 163.19 ± 2.3 และ 104.42 ± 5.5 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยที่สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ให้ค่าใกล้เคียงกับสารอาร์คาโบส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากข้อมูลฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน และการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพ และผิวพรรณซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสได้ดีเช่นเดียวกับกับสารอาร์บูตินที่นิยมใช้ในเครื่องสำอาง จึงสามารถที่จะนำสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส ใกล้เคียงกับวิตามินซี รวมถึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์อัลฟา-กลูโคซิเดสใกล้เคียงกับ สารอาร์คาโบสที่ใช้เป็นยาสำหรับควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ดังนั้นสารสกัดจาก มะม่วงไซคอนันต์จึงมีศักยภาพที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเสริมสุขภาพและ เครื่องสำอางต่อไป

อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้ยังเป็นข้อมูลจากสารสกัดหยาบเพื่อให้ได้ข้อมูลฤทธิ์ทางชีวภาพของสาร สกัดจากเมล็ดในมะม่วงที่เด่นชัดขึ้นรวมถึงเพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม ควรจะมีการแยกส่วนสกัดและการทำให้สารสกัดบริสุทธิ์ขึ้นรวมถึงควรทดสอบความเป็นพิษ กว้าง และระคายเคืองต่อผิวหนังก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- จริงแท้ ศิริพาณิชย์. 2541. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. พิมพ์ครั้งที่ 2.
กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 396 หน้า.
- ประพันธ์ ปันศิริโรตม. 2550. ปริมาณกรดฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการ
ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ ที่ระดับความสูง
ต่างกัน. งานวิชาการวิจัยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี
งบประมาณ 2550. คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง. 87 หน้า.
- โสภา วัชรคุปต์ ปรีชา บุญจุง จันทนา ยุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2551. สารต้านอนุมูล
อิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์. 280 หน้า.
- สถาบันคีนันแห่งเอเชีย. 2549. โครงการจัดทำแผนที่เครือข่ายวิสาหกิจ (Cluster Mapping) เพื่อ
ยกระดับความสามารถในการแข่งขันของภาคการผลิตและบริการ. กรุงเทพฯ : หจก. อุดมรัตน์
การพิมพ์และดีไซน์. หน้า 33-35.
- โสภา วัชรคุปต์ ปรีชา บุญจุง จันทนา ยุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2551. สารต้านอนุมูล
อิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: นิวไทยมิตรการพิมพ์. 280 หน้า.
- Abdalla, A.E.M., Darwish, S.M., Ayad, E.H.E. and El-Hamahmy, R.M. 2007. Egyptian mango
byproduct 1. Compositional quality of mango seed kernel. Food Chemistry. 103:
1134-1140.
- Agullo, G., Gamet, L. and Besson, C. 1944. Quercetin exert a preferential cytotoxic effect on
active dividing colon carcinoma HT29 And Caco-2 cells. Cancer Lett. 87:55-63
- Ahmed, A., Saeid, D., Eman, A. and Rheham, E. 2007. Egyptain mango by-product 1.
Compositional quality of mango seed kernel. Food Chem. 103 : 1141-1152.
- Ahmed, I., Lakhani, M.S., Gillett, M., John, A. and Raza, H., 2001, Hypotriglyceridemic and
Hypocholesterolemic Effects of Anti-Diabetic *Momordica charantia* (Karela) Fruit
Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, Diabetes Research and Clinical
Practice. 51: 61-155.
- Ajila, C.M., Bhat, S.G. and Prasada Rao, U.J.S. 2007a. Valuable components of raw and ripe
peels from two Indian mango varieties. Food Chemistry. 102: 1006-1011.
- Ajila, C.M., Naidu, K.A., Bhat, S.G. and Prasada Rao, U.J.S. 2007b. Bioactive compounds
and antioxidant potential of mango peel extract. Food Chemistry. 105: 982-988.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Akula, U.S., and Odhav, B. 2008. In vitro 5-lipoxygenase inhibition of polyphenolic antioxidants from undomesticated plants of South Africa. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2: 207-212.
- Alitonou, G.A., Avlessi, F. Sohounhloue, DK., Agnani, H., Bessiere, JM. And Menut, C. 2006. Investigation on essential oil of cymbopogon giganteus from benin for its potential use as anti-inflammatory agent. *Int.Journal Aromatherapy*. 16: 113-119.
- Ammon, P.T., Safayhi, H., Mack, T. and Sabieraj, J. 1993. Mechanism of anti-inflammatory actions of curcumin and boswellic acids. *Journal Ethnopharmacol*. 38: 113-119.
- Apostolidis, E., Li, L., Lee, C. and Seeram, N.P. 2011. In vitro evaluation of phenolic-enriched maple syrup extracts for inhibition of carbohydrate hydrolyzing enzymes relevant to type 2 diabetes management. *Journal of Functional Foods*. 3: 100-106.
- Avila MA., Velasco JA., Cansado J. and Notario V.1994. Quercetin mediates the down-regulation of mutant p53 in the human breast cancer cell line MDA-MB468. 54: 2424-2428
- Basu, T.K., Temple, N.J. and Gars, M.L. 1999. Antioxidants in human health and disease. London:CABI.
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidative power assay : Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version of simultaneous measurement of antioxidant power and ascorbic acid concentration. In *Methods in enzymology*, vol.299 (Packer, L., ed.). New York : Academic Press, Inc. 15-27.
- Berardini, N., Knödler, M., Schieber, A. and Carle, R. 2005. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 6: 442-452.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 56: 317-333.
- Burns, J., Gardner, P.T., O'Neil, J., Crawford, S., Morecroft, I. and McPhail, D.B. 2000. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity and phenolic content of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 220-230.

- Caltagirone S., Ranelletti F.O. And Rinelli A. 1997. Interaction with type II estrogen binding sites and antiproliferative activity of tamoxifen and quercetin in human non-small-cell lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 17:51-59
- Castillo, M.H, Perkins, E. and Campbell, J.H. 1989. The effects of the bioflavonoid quercetin on squamous cell carcinoma of head and neck origin. *Am J Surg.* 158: 351-355.
- Cho, Y.J., Hong, J.Y., Chun, H.S., Lee, S.K. and Min, H.Y. 2006. Ultrasonication-assisted extraction of reveratrol from grapes. *Journal food eng.* 77: 725-730.
- Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M.E., Abdelly, C. and Mangne, C. 2012. Ultrasound-assisted extraction: effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. *Aizoaceae* shoots. *Trop Journal Pharm Res.* 11: 243-249
- Garbino, G., Deyarina, G., Yeny, L., Dagmar, G., Litz, L., Gypsy, Q., Carla, D., Alberto, J., Nunez-selles and Rene, D. 2004. In vivo and invitro anti-inflammatory activity of *mangifera indica* L. extract (VIMANG). *Pharmacological research.* 50: 143-149.
- Garg, A., Anderson, R., Zaneveld, L. and Garg, S. 2005. Biological activity assessment of a novel contraceptive anti microbial agent. *J. Androl.* 26 : 414-421.
- Ghafoor, K., and Choi, Y.H. 2009. Optimization of Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from Grape peel through response surface methodology. *Journal Korean Soc. Appl. Biol Chem.* 52: 295-300.
- Gorinstein, S., Zemser, M., Haruenkit, R., Chuthakorn, R., Grauer, F., Martin-Belloso, O. and Trakhtenberg, S. 1999. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. *Journal of Nutrition and Biochemistry.* 10: 367-371
- Gonzalez-Montelogo, R., Lobo, M.G. and Gonzalez, M. 2010. The effect of extraction temperature, time and number of steps on the antioxidant capacity of methanolic banana peel extracts. *Sep Purif Technol.* 71: 347-55.
- Grish, K. and Kemparaju, K. 2005. Inhibition of *Naja naja* venom hyaluronidase by plant derived bioactive components and polysaccharides. *Biochemistry.* 70: 1145-1150.
- Hoffman, R., Graham, L. and Newlands E.S. 1989. Enhance anti-proliferative action of busulphan by quercetin on the human leukaemia cell line K562 Br. *J. cancer.* 59: 347-348.
- Kabuki, T., Nakajima, H., Arai, M., Ueda, S.I., Kuwabara, Y. And Dosako, S. 2000.

- Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. *Food chemistry*. 71: 61-66.
- Kandaswami, C., Perkins, E. and Soloniuk, DS. 1991. Antiproliferative effects of citrus flavonoids on a human squamous cell carcinoma in vitro. *Cancer Lett*. 56: 147-152.
- Karakaya, S. 2004. Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* . 44: 453-464.
- Karioti, A., Protopappa, A., Megoulas, N. and Skaltsa, H. 2007. Identification of tyrosinase inhibitors from *Marrubium velutinum* and *Marrubium cullenum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 15: 2708-2714.
- Karunasree, V., Veeresham, C., Krothapalli, R.S., Rao, S., and Asres, K. 2012. Antioxidant, 5-lipoxygenase inhibitory and anticancer activities of *Soymida febrifugar* A. Juss. *Molecular&Clinical Pharmacology*. 3: 134-142.
- Khammuang, S., and Sarnthima, K. 2011. Antioxidant and antibacterial activities of selected varieties of Thai mango seed extract. *Journal Pharm. Sci*. 24: 37-42.
- Kim, J.H., Sapers, G.M. and Choi, S.W. 1998. Isolation and identification of tyrosinase inhibitor from *Galla rhois*. *Food science Biotechnol*. 7: 56-59.
- Kraipinit, Y., Chaisawadi, S., and Kaewboonruang, S. 2008. Preliminary study of antimicrobial activities on mango (*Mangifera indica* L.) seed kernels. Pilot plant development and training institute, King mongkut University, 34th Congress on Science and Technology of Thailand. 1-5.
- Klejduša, B., Kopecký, J., Benesová, L. and Vacek, J. Solid-phase/supercritical-fluid extraction for liquid chromatography of phenolic compounds in freshwater microalgae and selected cyanobacterial species. *J Chromatogr*. 1216 : 763-771.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A. and Abdelly, C. 2008. Influence of biological, environmental and technical factors of phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Compt. Rend. Biol*. 331 : 865-873.
- Kuo, SM. 1996. Antiproliferative potency of structurally distinct dietary flavonoids on human colon cancer cells. *Cancer Lett*. 110: 41-48.
- Larocca, L.M., Teofili, L. and Leone, G. 1991. Antiproliferative activity of quercetin on normal bone marrow and leukaemic progenitors. *Br J. Haematol*. 79: 562-566.
- Lamson, D. and Brignall, M. 2001. Antioxidant and cancer. III: Quercetin. *Altern Med Rev*. 5:

- 196-209. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 51(3): 61-155.
- Lee, K.K., Cho, J.J., Park, E.J., Choi, J.D. 2001. Anti-elastase and anti-hyaluronidase activity of phenolic substance from *Areca catechu* as a new anti-ageing agent, *Int J Cosmet Sci*; 23(6): 341-346.
- Li, L. and Seeram, N.P. 2010. Maple syrup phytochemicals include lignans, coumarins, stilbene, and other previously unreported antioxidant phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*. 58: 11673-11679.
- Long, Z. P., Park, H.R., Park, Y. K., Lee, S. K., park, J.H. and park, M. K.. 2002. Mushroom Tyrosinase Inhibition Activity of Some Chromones. *J. Chem. Pharm. Bull.* 50 : 309-311.
- Lou, Z., Wang, H., Li, J., Zhu, S. Lu, W. and Ma C. 2011. Effect of simultaneous ultrasonic/microwave assisted extraction on the antioxidant and antibacterial activities of burdock leaves. *Journal of Medicinal Plants research*. 5: 5370-5377.
- Maisuthisakul, P. 2008. Antiradical scavenging activity and polyphenolic compounds extracted from Thai mango seed kernel. *Journal. Food Ag-Ind.* 1: 87-96.
- Maisuthikul, P. and Gordon, M.H. 2009. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of Mango seed kernel by product. *Food chemistry*. 117: 332-341.
- Maisuthikul, P. and Pasuk, S. 2007. Antioxidant properties and phenolics phytochemicals from various cultivars of Thai mango seed. The 9th Agro-Industrial Conference. Food Innovation Asia 2007: "Q" Food for Good Life. 14-15 June 2007. BITEC Bangkok, Thailand.
- Mcdougail, G.J., Shipiro, F., Dobson, P., Smith, P., Blake, A. and Stewart, D. 2005. Different polyphenolic component of soft fruit inhibit alpha-amylase and alpha glucosidase. *J. agric. Food. Chem.* 53: 2760-2766.
- Miodini P., Fioravanti L., Di Fronzo G. and Cappelletti V. 1999. The two phyto-oestrogen genistein and quercetin exert different effects on oestrogen receptor function. *Br J cancer*. 80: 1150-1155
- Miura T., Iwamoto N., Kato M., Ichiki H., Kubo M., Komatsu Y., Ishida T., Okada T. and Tanigawa K., 2001. The suppressive effect of mangiferin with exercise on blood lipid in type 2 diabetes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 24: 1091-1092
- Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H. and Matoba, T. 2004. Effect of thermal treatment

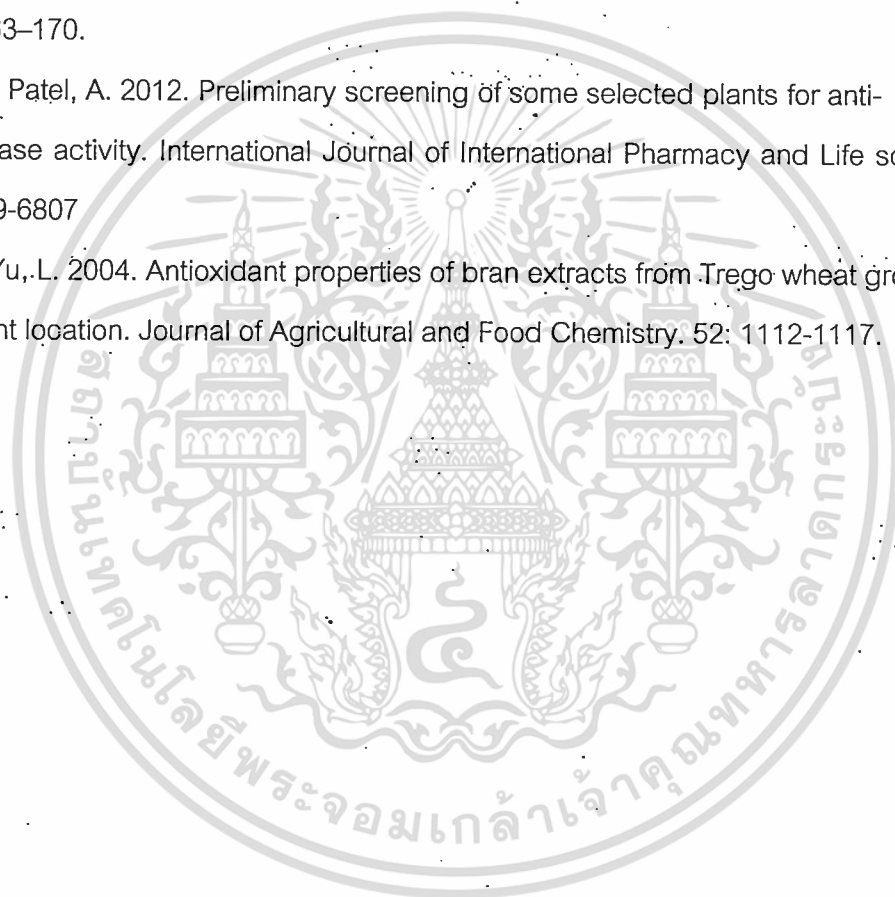
- on radical scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. *Journal of food science*. 69(1): FCT7-FCT10.
- Narayanaswamy, N., Duraisamy, A., and Balakrishnan, K.P. 2011. Screening of some medicinal plants for their antityrosinase and antioxidant activities. *International Journal of PharmTech Research*.3: 1107-1112.
- Nithitanakool, S., Pithayanukul, P., Bavovada, R. and Sapaikorn, P. 2011. Molecular docking studies and anti-tyrosinase activity of Thai mango seed kernel extract. *Molecules*. 14 : 257-265.
- Piantelli, M., Maggiano N. and Ricci R. 1995. Tamoxifen and quercetin interact with type II estrogen binding sites and inhibit the growth of human melanoma cells. *J Invest Dermatol*. 105:248-253.
- Prashanth, D., Amit, A., Samiulla, Ds., Asha, MK. and Padmaja, R., 2001. α -glucosidase inhibitory Activity of mangiferin indica bark. *Fitoterapia*. 72: 686-688
- Prota, G. 1980. Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals. *Journal Invest. Dermatol*. 75: 122-127
- Qui, Y.W., Hu, H.G., Wang, M.J., Zhao, O.J., Chong, S. and Lui, C.M. 2007. Synthesis of mangiferin derivatives and study their potent PT1B inhibitory activity. *Chinese chem. Lett*. 18: 1323-1326.
- Reshma, M.V., Namitha, L.K., Sundaresan, A. and Kiran C.R. 2012. Total phenol content, antioxidant activities and α -glucosidase inhibition of sesame cake extracts. *Journal of food Biochemistry*. 1-9.
- Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Knodler, M. and Schieber, A. 2008. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*. 110: 620-626.
- Ribriro, S.M.R., Queiroz, J.H., Queiroz, M.E.L.R., Campos, F.M. and Sant'ana, H.M.P. 2007. Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. *Plant Foods for Human Nutrition* 62: 13-17.
- Roberts-Thomson SJ, Wilkinson AS., Monteith GR., Shaw PN., Lin C. and Gidley MJ. 2008. Effects of the mango components mangiferin and quercetin and the putative mangiferin metabolite norathyriol on the transactivation of peroxisome proliferator-activated receptor isoform isoforms. *J Agric Food Chem*. 56: 3037-42.

- Rostagno, M.A. Palma, M. and Barroso, C.G. 2003. Ultra-sound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal chromatogr A*. 1012: 119-128.
- Rompel, A., Fischer, H., Meiwes, D., Buldt-Karentzopoulos, K., Magrini, A. and Eickken, C. 1999. Substrate specificity of catechol oxidase from *Lycopus europaeus* and characterization of the bioproduct of enzymic caffeic acid oxidation. *FEBS Letter*. 445: 103-110.
- Sadick, NS., Karcher C., Palmisano L. 2009. Cosmetic dermatology of the aging face. *Clin Dermatol*. 27: 3-12.
- Sahasrabudle, A., and Deodhar, M. 2010. Anti-hyaluronidase, Anti-elastase activity of *Garcinia indica*. *International Journal of Botany*, 6: 299-303.
- Safardekar, K.V. and Deodhar, M.A. 2010. Anti-ageing ability of *Terminalia* Species with special reference to hyaluronidase, elastase inhibition and collagen synthesis in vitro. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical research*. 2: 30-34.
- Scambia G., Ranelletti FO. and Benedetti Panici P. 1990. Inhibitory effect of quercetin on OVCA 433 cells and presence of type II oestrogen binding sites in primary ovarian tumours and culture cells. *Br. J. cancer*. 62: 942-946
- Schieber, A., Ullrich, W. & Carle, R. 2000. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 1: 161-166.
- Shimogaki, H., Tanaka, Y., Tamai, H. and Masuda, M. 2000. In vitro and in vivo evaluation of ellagic acid on melanogenesis inhibition. *International Journal of Cosmetic Science*. 22: 291-303.
- Singhal, RI., Yeh, Y.A. and Prajda, N. 1995. Quercetin down-Regulates signal transduction in human breast carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 208 : 425-431
- Singh, U.P., Singh, M., Maurya, S., Srivastava, J.S., Singh, R.B. and Singh S.P. 2004. Characterization of Phenolic compound in somev Indian mango cultivars. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 55: 163-169
- Singleton, V.L. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178.
- Silvia, M., Albano, A. Lima, S. Graca Miguel, M., Luis, G., Jose, Barroso, G., and Figueiredo,

- C. 2012. Antioxidant, anti-5-lipoxygenase and antiacetylcholinesterase activities of essential oils and decoction waters of some aromatic plants. *Rec. Nat. Prod.* 6 : 35-48.
- Sumantran, V.N., Kulkarni, A.A., Harsulkar, A., Wele, A., Koppikar, S.J., Chandwaskar, R., Vishakha, G., Dalvi, M. and Wagh U.V. 2007. Hyaluronidase and collagenase inhibitory activities of the herbal formulation *Triphala guggulu*. *J.Biosci.* 32: 755-761.
- So, F.V., Guthrie, N. and Chambers A.F. 1996. Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices, *Nutr Cancer.* 26: 167-181.
- So, F.V., Guthrie, N., Chambers A.F. and Carrol KK. Inhibition of proliferation of estrogen receptorpositive MCF-7 human breast cancer cell by flavonoids in the presence and absence of excess estrogen. *Cancer Lett.* 112: 127-133.
- Someya, S., Yoshiki, Y. and Okubo, K. 2002. Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*). *Food Chemistry.* 79(3): 351-354.
- Soong, Y.Y. and Barlow, P.J. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry.* 88: 411-417.
- Trouillas, P. Calliste, CA., Allais, DP., Simon, A., Marfak, A., Delage C., and Durox JL. 2003. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative properties of sixteen water plant extracts used in the limousine countryside as herbal tea. *Food Chem.* 80: 399-407.
- USDA. 2007. National Nutrient Database for Standard Reference. Washington, DC : United States Dept. of Agriculture.
- Woude HVD., Gliszczynska-Swiglo A., Struijs K., Smeets A., Alink G. and Rietjens I. 2003. Biphasic modulation of cell proliferation by quercetin at concentrations physiologically relevant in humans. *Cancer Lett* 200:41-7.
- Xiao-Ping, Y., Chun-Quing, S., Ping, Y. and Ren-Gang, M. 2010. α -glucosidase and α -amylase inhibitory activity of common constituents from traditional Chinese medicine use for diabetes mellitus. *Chinese journal of natural medicines.* 8: 0349-0352.
- Xiaowei Ma., Hongxia Wu., Liqin Liu., Quansheng Yao, Songbiao Wang, Rulin Zhan, Shanshan Xing and Yigang Zhou .2011. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae.* 129 :102-107.
- Yen, G.C. and Chen, A.Y. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 43: 27-37.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Youshikawa, M., Nishida, N., Takada, M. and Kawahara, Y. 2001. Polyphenol constituents from salacia species: quantitative analysis of mangiferin with glucosidase and aldose reductase inhibitory activities. *J pharmacy soc jap.* 121: 371-378.
- Yoshida, M., Sakai, T. and Hoosokawa, N. 1990. The effect of quercetin on cell cycle progression and growth of human gastric cancer cells. *FEBS Lett.* 260: 10-13.
- Yoshimura N., Matsunaga K., Katayama M., Yamada Y., Kuno T., Qiao Z., Hara A., Yamahara J. and Morita H. 2001. The inhibitory effects of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, in bowel carcinogenesis of male F344 rats. *Cancer Lett* 163:163-170.
- Zaveri, M. and Patel, A. 2012. Preliminary screening of some selected plants for anti-tyrosinase activity. *International Journal of International Pharmacy and Life sciences.* 2: 2249-6807
- Zhou, K. and Yu, L. 2004. Antioxidant properties of bran extracts from Trego wheat grown at different location. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 52: 1112-1117.



ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol content)

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu
2. โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
3. สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 และ 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร

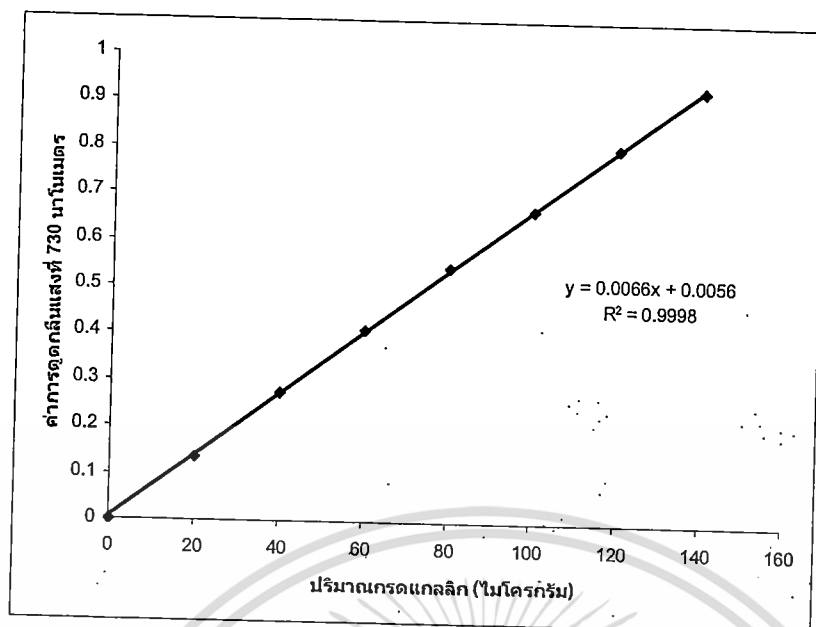
2. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

3. เติมสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

4. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยให้น้ำกลั่นเป็น blank

5. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม

การวิเคราะห์ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงวิธีการวิเคราะห์ทำโดยดูดสารสกัดที่เจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมมา 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมเป็น 10 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในมะม่วง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดแกลลิก และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร

การคำนวณ

การคำนวณปริมาณสารโพธิ์ฟีนอลทั้งหมดจากสมการจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

$$Y=0.0066x+0.0056, R^2=0.9998$$

เมื่อ

y = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

x = ปริมาณสารโพธิ์ฟีนอลทั้งหมด (ไมโครกรัม/0.5 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

c = จุดตัดแกน y

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดจากตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

ปริมาณสารสกัดตัวอย่างเปลือกมะม่วงเขียวเสวยดิบ 0.5 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร เท่ากับ 0.246

แทนค่าในสูตรจะได้

$$0.246 = 0.0066x+0.0056$$

$$X = 36.424 \text{ ไมโครกรัม} / 0.5 \text{ มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่างสารสกัดตัวอย่าง}$$

มีปริมาณโพธิ์ฟีนอลทั้งหมด = 36.424 ไมโครกรัม /0.5 มิลลิลิตรของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด = 7284 ไมโครกรัม /100 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร เตรียมได้สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

0.1 กรัม ดังนั้นสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 1 กรัมปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด = 72840 ไมโครกรัมกรด

แกลลิก / กรัมสารสกัด = 72.84 มิลลิกรัมกรดแกลลิก / กรัมสารสกัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH scavenging activity)

สารเคมี

1. สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาณรวมให้เป็น 50 มิลลิลิตร

2. เอทานอล ความเข้มข้น ร้อยละ 40

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ 0.12 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

2. ปิเปตสารสกัด และ เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยปริมาตร

3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

4. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 40

เป็น blank

5. คำนวณร้อยละ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยแทนค่าในสมการดังนี้

$$1 - \left(\frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม}} \right) \times 100$$

การเตรียมกราฟมาตรฐานไทรอลอกซ์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานสารละลาย DPPH โดยให้ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ปริมาณรวมด้วยเอทานอลให้ปริมาณรวมเป็น 50 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานไทรอลอกซ์ โดยให้ความเข้มข้นโดยรวมในหลอดทดลองเป็น 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเตรียมไทรอลอกซ์ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งไทรอลอกซ์ 0.025 กรัม ปริมาณรวมด้วยเอทานอล ให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยปิเปตมา 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.12 และ 0.14 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้มีปริมาณรวมในแต่ละหลอด เป็น 0.2 มิลลิลิตร

3. ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ปริมาณรวมในหลอดเป็น 5.4 มิลลิลิตร

4. เติมสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ในที่มีด
6. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็น blank
7. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายในหน่วย ไมโครกรัม

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง วิเคราะห์ทำโดยดูดสารสกัดที่เจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม มาปรับปริมาตรด้วยเอธานอลร้อยละ 95 ให้ปริมาตรรวมเป็น 5.4 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาทีในที่มีด นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณหาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างเปลือกเนื้อและเมล็ดในของมะม่วง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์

การคำนวณ

คำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารสกัด สมมูลไทโรลอกซ์ โดยคำนวณร้อยละความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ตามสมการต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH} = \left[1 - \left(\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \right] \times 100$$

โดยที่ A_{sample} = ค่าดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาของตัวอย่างสารสกัด

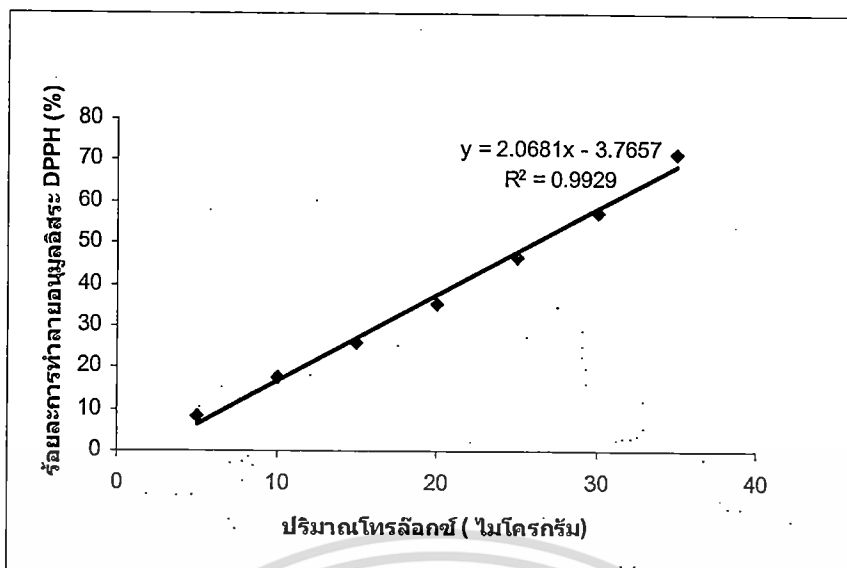
A_{control} = ค่าดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

ค่าดูดกลืนแสงที่ได้ มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานไทโรลอกซ์ดังรูปที่ ๑.1 สมการจากกราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์

$$Y = 2.0681x - 3.7657, R^2 = 0.9929$$

- เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร
 x = ค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (ไมโครกรัม/0.5 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง)
 c = จุดตัดแกน y

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด โดยใช้กราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์



รูปที่ 1.1 กราฟมาตรฐานระหว่างกรดคลอโรฟิลล์กับร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดจากตัวอย่างเปลือกมะม่วงเขียวเสวยดิบ ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างเปลือกมะม่วงเขียวเสวยดิบ 0.5 มิลลิลิตร ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เท่ากับ 0.350 และ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของตัวอย่างควบคุมเท่ากับ 0.700 แทนค่าสมการจะได้

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH} &= 1 - \left(\frac{0.350}{0.700} \right) \times 100 \\ &= 50 \end{aligned}$$

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

$$50 = 2.0681x - 3.7657$$

$$x = 25.9976 \text{ ไมโครกรัมสมมูลย์ของโทรลอกซ์} / 0.5 \text{ มิลลิลิตรของสารสกัด}$$

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 25.9976 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโทรลอกซ์ / 0.5 มิลลิลิตรของสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 5199.52 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโทรลอกซ์ / 100 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร มาจากตัวอย่างสารสกัดเมล็ดในมะม่วง 0.1 กรัม ดังนั้น

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 5199.52 ไมโครกรัม
สมมูลย์ของโทรลอกซ์ / กรัมสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 51.99 มิลลิกรัมสมมูลย์
ของโทรลอกซ์ / กรัมสารสกัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (Ferric reducing antioxidative potential, FRAP)

สารเคมี

1. อะซิเตต บัฟเฟอร์ (acetate buffer) pH 3.6 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งโซเดียมอะซิเตต ไตรไฮเดรต 3.1 กรัม ผสมกับ กรดแกลเทียมอะซิติก 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร
2. สารละลาย TPTZ (2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ TPTZ 0.156 กรัม ละลายใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร
3. สารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ซึ่ง $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.27 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร
4. FRAP reagent ผสมสารละลายที่เตรียมไว้ทั้งหมดดังที่กล่าวมาข้างต้น โดยให้มี อัตราส่วนของอะซิเตต บัฟเฟอร์ : สารละลาย TPTZ : สารละลาย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เป็น 10:1:1 โดยปริมาตรซึ่งจะต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

การเตรียมกราฟมาตรฐานไทรอลอกซ์

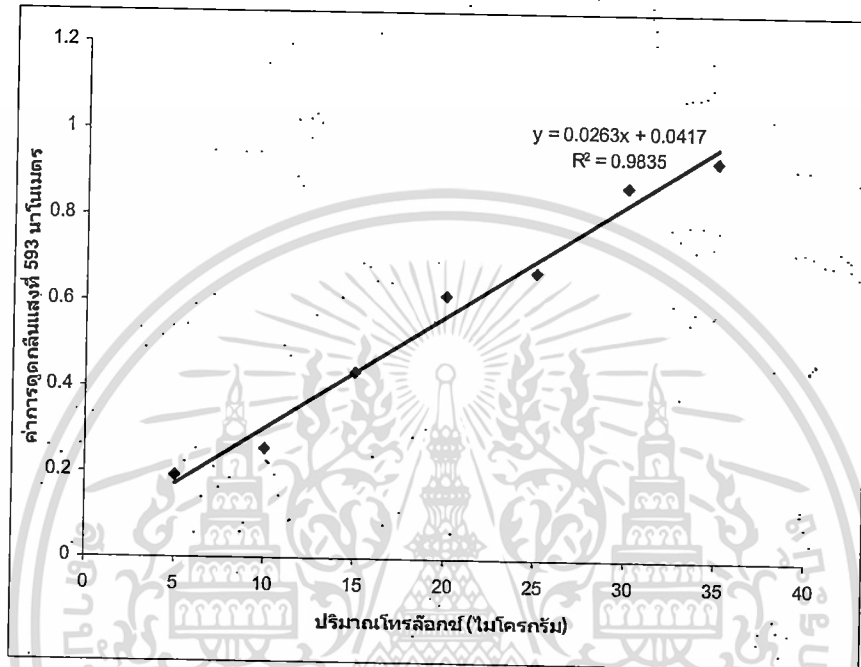
1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไทรอลอกซ์ใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเตรียมไทรอลอกซ์ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยซึ่งไทรอลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยปิเปตมา 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 และ 0.06 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรในแต่ละหลอดเป็น 0.1 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที
4. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร
5. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณไทรอลอกซ์ในหน่วยไมโครกรัม

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ของตัวอย่างสารสกัด

1. ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตรประมาณ 0.1 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร



รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์กับค่าการดูดกลืนแสง 593 นาโนเมตร การคำนวณ

คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารสกัด สมมุติคลอโรฟิลล์ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานคลอโรฟิลล์ ดังรูปที่ ค.1 โดยมีตัวอย่างการคำนวณดังนี้

สมการจากกราฟมาตรฐานของคลอโรฟิลล์

$$y = 0.0263x + 0.0417, R^2 = 0.9835$$

เมื่อ y = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

x = ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (ไมโครกรัม/ 0.1 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

c = จุดตัดแกน y

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมุติคลอโรฟิลล์ต่อกรัมตัวอย่างสด โดยใช้กราฟมาตรฐานคลอโรฟิลล์

ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

ปริมาณสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.08 มิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เท่ากับ 0.500

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานของโพลลอกซ์

$$0.500 = 0.0263x + 0.0417$$

$$x = 17.4258 \text{ ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลลอกซ์ / 0.1 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง}$$

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก = 17.4258 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลลอกซ์ / 0.1 มิลลิลิตรสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก = 17425.8 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลลอกซ์ / 100 มิลลิลิตรสารละลายสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.1 กรัม ดังนั้น

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก = 17425.80 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลลอกซ์ / กรัมสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก = 174.25 มิลลิกรัมสมมูลย์โพลลอกซ์ / กรัมสารสกัด

ภาคผนวก ง

ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2 scavenging activity)

สารเคมี

1. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 90 มิลลิโมลาร์ โดยปีเปตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ

30 มา 0.92 มิลลิลิตร ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต 1.38 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร ผสมกับ ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต 6.7008 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 250 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 7.4 โดยใช้อัตราส่วน โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรตร้อยละ 80

การเตรียมกราฟมาตรฐานไทโรลอกซ์

1. ปีเปตสารละลายมาตรฐานไทโรลอกซ์ใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, และ 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยซึ่งไทโรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยซึ่งไทโรลอกซ์ 0.05 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้มีปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร โดยปีเปตมา 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 2 มิลลิลิตร

2. ปีเปตน้ำกลั่น ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

3. เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 90 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร

4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

5. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร

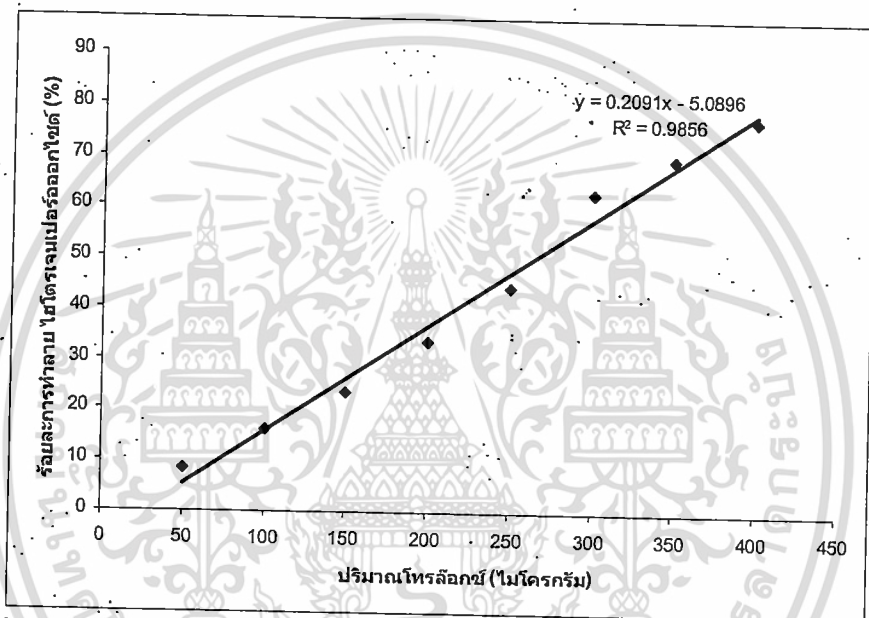
6. สำหรับ blank ให้ใช้ตัวอย่างที่วิเคราะห์ผสมกับ phosphate buffer โดยไม่ต้องมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

7. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังรูปที่ ง.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างสารสกัด

1. ปิเปิดตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 2 มิลลิลิตร
2. ปิเปิดน้ำกลั่น ปริมาตร 2 มิลลิลิตร
3. เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 90 มิลลิลิตร ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร
4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
5. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตรสำหรับ blank ให้ใช้ตัวอย่างที่วิเคราะห์ผสมกับ phosphate buffer โดยไม่ต้องมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์



รูปที่ 1.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และร้อยละการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การคำนวณ

คำนวณความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของตัวอย่างสารสกัด สมมุติไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์มาแทนค่าในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของตัวอย่างสารสกัดโดยแทนค่าในสมการดังนี้

$$1 - \left(\frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม}} \right) \times 100$$

แล้วนำค่าที่ได้จากการคำนวณมาแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

$$Y = 0.2091x - 5.0896, R^2 = 0.9856$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ y = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร

x = ค่าความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ไมโครกรัม/0.1 มิลลิลิตร สารละลายสารสกัด)

c = จุดตัดแกน y

ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด โดยใช้กราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์

ตัวอย่างการคำนวณ

สารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

ปริมาณสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 2 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร เท่ากับ 0.200

$$\begin{aligned} \text{ร้อยละความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์} &= 1 - \left(\frac{0.200}{0.400} \right) \times 100 \\ &= \text{ร้อยละ } 50 \end{aligned}$$

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์

$$50 = 0.2091x - 5.0896$$

$$x = 263.4605 \text{ ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 2 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง}$$

สารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงมีความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ = 263.4605 ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 2 มิลลิลิตรของสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ = 13173.0273 ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 100 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.1 กรัม ดังนั้น

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ = 131.73 มิลลิกรัมสมมูลย์ไทโรลอกซ์ / กรัมสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ = 12.73 ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 1 กรัมตัวอย่าง

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

สารเคมี

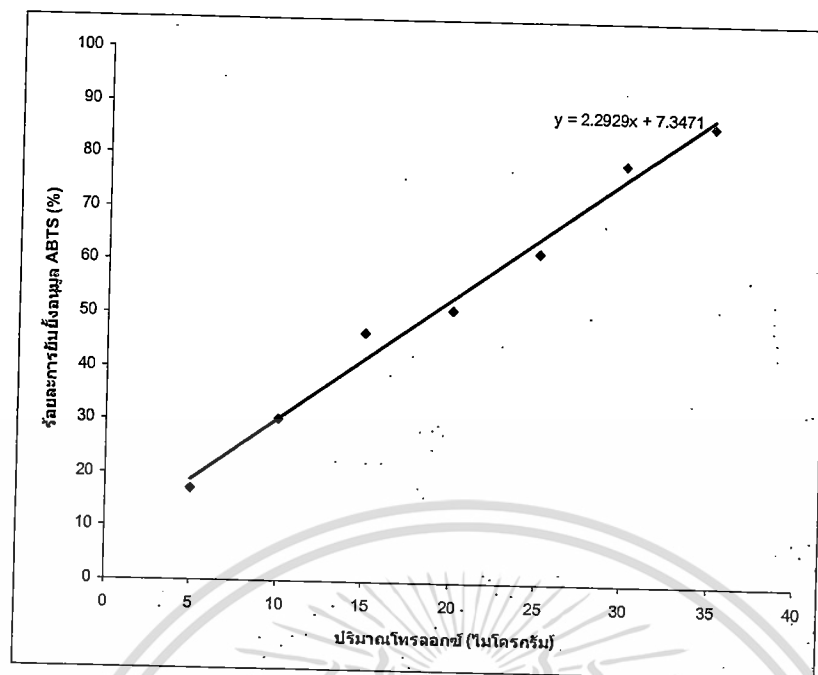
1. สาร 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)
2. เอทานอล
3. สารมาตรฐานไทโรลอกซ์

การเตรียมกราฟมาตรฐานไทโรลอกซ์

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไทโรลอกซ์ใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, และ 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งไทโรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งไทโรลอกซ์ 0.05 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้มีปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร โดยปิเปตมา 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 2 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสารมาตรฐานไทโรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 600 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง
3. เติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 6 มิลลิลิตร
4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที
5. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ในตัวอย่างสารสกัด

1. ปิเปตตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 600 ไมโครลิตร
 2. ปิเปตสารละลาย ABTS 600 ไมโครลิตร
 3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที
- วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร



รูปที่ ๑.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS

การคำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูล ABTS

คำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ตัวอย่างสารสกัด คำนวณเป็นสมมุทธ์ ไทโรลอกซ์ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์มาแทนค่าในการคำนวณหาร้อยละความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ของตัวอย่างสารสกัดโดยแทนค่าในสมการดังนี้

$$1 - \left(\frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม}} \right) \times 100$$

แล้วนำค่าที่ได้จากการคำนวณมาแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานไทโรลอกซ์ ดังรูปที่ ๑.1

เมื่อ y = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

x = ค่าความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS (ไมโครกรัม/0.6 มิลลิลิตร

สารละลายสารสกัด)

c = จุดตัดแกน y

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมุทธ์ของไทโรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด โดยใช้กราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์

ตัวอย่างการคำนวณ

สารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

ปริมาณสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.6 มิลลิลิตร
ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เท่ากับ 0.200

$$\text{ร้อยละความสามารถในการทำละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์} = 1 - \left(\frac{0.200}{0.400} \right) \times 100$$

$$= 50 \%$$

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานของโพลีฟีนอล

$$50 = 2.2929x - 7.3471$$

$$x = 25.01 \text{ ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลีฟีนอล} / 0.6 \text{ มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง}$$

ตัวอย่าง

สารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงมีความสามารถในการทำละลายอนุมูลอิสระ ABTS = 25.01

ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลีฟีนอล / 0.6 มิลลิลิตรของสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำละลายอนุมูลอิสระ ABTS = 4168.333

ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลีฟีนอล / 100 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณสารสกัดจากเมล็ดใน
มะม่วง 0.1 กรัม ดังนั้น

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำละลายอนุมูลอิสระ ABTS = 41.68 มิลลิกรัมสมมูลย์
โพลีฟีนอล / กรัมสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถทำละลายอนุมูลอิสระ ABTS = 41.68 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลี
ฟีนอล / 1 กรัมตัวอย่าง

ข้อมูลประวัติผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล นาย ประพันธ์ ปินศิริโรดม

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.บ.	เคมี	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2531
วท.ม.	เทคโนโลยีการอาหาร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2534
Ph.D.	Food Science	University of Wisconsin-Madison, USA	2543

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

- Food Chemistry and Biochemistry

- Food Enzymology

- Functional Foods and Nutraceuticals

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ

1. สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดส้มสายพันธุ์ต่างๆ (ทุนเงินรายได้ ปี 2545)
2. สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน (ทุนงบประมาณปี 2547)
3. โยอาหารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากผลไม้และวัสดุเหลือทิ้งจากผลไม้ (ทุนงบประมาณปี 2548)
4. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของกล้วยน้ำว้าและผลิตภัณฑ์ (ทุนงบประมาณปี 2549)
5. ปริมาณกรด ฟีนอลิกสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ ที่ระดับความสุกต่างกัน(ทุนงบประมาณปี 2550)
6. สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงและผลของน้ำตาลชนิดต่างๆ ต่อประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์กุนเชียงและหมูแผ่น (ทุนงบประมาณปี 2551)
7. การใช้พืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ในการเพิ่มมูลค่าเชิงพาณิชย์และคุณค่าเชิงสุขภาพของน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลิ่น (ทุน สกว.-สสว. ปีงบประมาณ 2551)

8. การตรวจหาอะคริลาไมด์ในตัวอย่างอาหารไทยที่ใช้วัตถุดิบที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตสูง และผ่านกระบวนการแปรรูปโดยวิธีการทอด (ทุนงบประมาณปี 2552)

9. ผลของการเตรียมขั้นต้นและการทอดภายใต้สภาวะสุญญากาศต่อคุณภาพหลักทางเคมีกายภาพ และโภชนาการของกล้วยทอดกรอบแผ่นบาง (ทุนงบประมาณปี 2553)

10. ขนมอบสูงบางส่วนแช่แข็ง : ผลของสภาวะในการอบและการเปลี่ยนแปลง คุณภาพในระหว่างการเก็บรักษา (ทุนเงินรายได้ ปี 2554)

11. การเสริมกรดโฟลิกในผลิตภัณฑ์ขนมจีน (ทุนงบประมาณปี 2555)

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

1. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม และวันทนีย์ ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในประเทศไทย. *อาหาร*. 32(4): 300-307.
2. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม. 2546. ผลของกรรมวิธีแปรรูปต่อการสูญเสียปริมาณไลโคปีนในมะเขือเทศ. *อาหาร*. 33(2): 111-117.
3. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม. 2546. ผลของอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และเกลือสังกะสีคลอไรด์ต่อความคงตัวของสีเขียวของสารสกัดใบเตย. *อาหาร*. 33(4): 277-282.
4. ศิริวรรณ จำแนกสาร และ ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม. 2552. ผลของระดับความสุกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกและเนื้อกล้วยหอมทองและกล้วยไข่. *วารสารอุตสาหกรรมเกษตรพระจอมเกล้า*. 1(1): 49-60.
5. Anderson, C., Pinsirodom, P. and Parkin, K.L. 2002. Hydrolytic selectivity of patatin (lipid acyl hydrolase) from potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers toward various lipids. *J. Food Biochem*. 26(1): 63-74.
6. Pinsirodom, P. and Intaporn, C. 2004. Composition and positional distribution of fatty acids in triacylglycerols of papaya seed oil. *Proceedings of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development*. 25-26 August, Bangkok, Thailand. Vol. 2. 349-351
7. Pinsirodom, P.; Watanabe, Y.; Nagao, T.; Sugihara, A.; Kobayashi, T. and Shimada,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Y. 2004. Critical temperature for production of MAG by esterification of different FA with glycerol using *Penicillium camembertii* lipase. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 81(6): 543-547.
8. Watanabe, Y.; Pinsiroadom, P.; Nagao, T.; Kobayashi, T.; Nishida, Y.; Takagi, Y. and Shimada, Y. 2005. Production of FAME from acid oil model using immobilized *Candida antarctica* lipase. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 82(11): 825-831.
9. Watanabe, Y., Pinsiroadom, P., Nagao, T., Yamaichi, A., Kobayashi, T., Nishida, Y., Takagi, Y., Shimada, Y. 2007. Conversion of acid oil by-produced in vegetable oil refining to biodiesel fuel by immobilized *Candida Antarctica* lipase. *J. Mol. Cat. B: Enzymatic.* 44: 99-105.
10. Pinsiroadom, P., Rungcharoen, J., Liumminful, A. 2008. Quality of commercial wine vinegars evaluated on the basis of total polyphenol content and antioxidant properties. *As. J. Food Ag-Ind.* 1(4):232-241.
11. Parinyapatthanaboot, T. and Pinsiroadom, P. 2011. Evaluation of oxidative stability and some quality characteristics of Chinese-style sausage as affected by the addition of roselle extract and different sweeteners. *Thai J. Agric. Sci.* 44: 311-340.

การเสนอผลงานวิชาการ

1. เกียรติศักดิ์ ภูษิต และ ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2548. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโยเกิร์ตจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากเปลือกมะม่วง. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 7: เทคโนโลยีอาหารก้าวไกลนำไทยสู่ครัวโลก. วันที่ 22-24 มิถุนายน ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร. 9 หน้า.
2. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม ทิพนตร ปริณามโสด และกรวิทย์ พงษ์ประเสริฐ. 2548. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของถั่วเขียวและถั่วเหลืองในระหว่างการงอก. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 7: เทคโนโลยีอาหารก้าวไกลนำไทยสู่ครัวโลก. วันที่ 22-24 มิถุนายน ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร. 9 หน้า.
3. นกชัช ยอดพรหม ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม และ อติศร เสวตวิวัฒน์. 2549. สมบัติการต้านจุลินทรีย์

ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียแลคติก. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 8: นวัตกรรมทางอาหาร. วันที่ 15-16 มิถุนายน ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร. 7 หน้า.

4. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม. 2549. ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวขัดขาว ข้าวกล้อง และข้าวที่มีสีเข้ม. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 8: นวัตกรรมทางอาหาร. วันที่ 15-16 มิถุนายน ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร. 7 หน้า.
5. Pinsirotom, P. and Intaporn, C. 2004. Composition and positional distribution of fatty acids in triacylglycerols of papaya seed oil. Proceedings of the 1st KMITL Interanational Conference on Inte- gration of Science & Technology for Sustainable Delvelopment. 25-26 August, Bangkok, Thailand. Vol. 2. 349-351.
6. Angsujinda, S., Swetwivathana, A., Surapunpisid, Y. and Pinsirotom, P. 2005. Antimicrobial effect of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract against bacterial pathogens associated in Thai fermented meat (Nham). The 51st International Congress of Meat Science and Technology. 7-12 August, Baltimore, Maryland, USA. 6 pp.
7. Pinsirotom, P., Akkarapolkul, M., Suksawad, S. 2007. Assays of Fibrinolytic enzyme activity in Thai traditional fermented foods. International Conference on Integration of Science & Technoloty for Sustainable Development, 26-27 April, Bangkok, Thailand. 166-169.
8. Parinyapatthanaboot, T. and Pinsirotom, P. 2010. Effect of anthocyanins from different plant source on the oxidative stability of vacuum packed Chinese-style sausage during storage. *The 56th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*, Jeju International Convention Center, Jeju Island, Republic of Korea, 15-20 August.
9. Parinyapatthanaboot, T. and Pinsirotom, P. 2010. Antioxidant properties of roselle extract and its antilipoperoxidant efficiency in meat products as affected by sucrose. *The 56th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*, Jeju International Convention Center, Jeju Island, Republic of Korea, 15-20 August.
10. Parinyapatthanaboot, T. and Pinsirotom, P. 2011. Effect of xylitol concentration on

oxidative stability and quality parameters of roselle anthocyanin added Chinese-style sausage. *The 12th ASEAN Food Conference*, 16-18 June, BITEC Bangna, Bangkok, Thailand, pp: 586-589.

11. Parinyapatthanaboot, T. and Pinsirodom, P. and Tai, P.J. 2011. Thermal stability and kinetic degradation of anthocyanin extracted from nanoparticled roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in model system. *The 12th ASEAN Food Conference*, 16-18 June, BITEC Bangna, Bangkok, Thailand.

