



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแยกส่วนสารฟีนอลิกจากเมล็ดในมะม่วงและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับ
อาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง
Fractionation of mango seed kernel phenolics and their
bioactivities related to health food and cosmetic

นายประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม

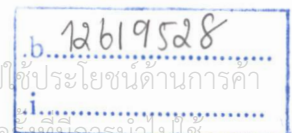
RCH
ป319ค
2556

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 137302
รับเดือนปี 22 ส.ย. 2558

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ(ภาษาไทย) การแยกส่วนสารฟีนอลิกจากเมล็ดในมะม่วงและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง

แหล่งเงิน งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2556 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 380,800 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี

ชื่อ-สกุลหัวหน้าโครงการ รศ. ดร. ประพันธ์ ปันศิริโรดม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

จากการแยกส่วนสกัดของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์โดยคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่ใช้ Sephadex-LH 20 เป็นวัฏภาคนิ่งและเมธานอลเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พบว่าสามารถแยกส่วนสกัดจากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ได้ 3 ส่วน และส่วนที่ 3 จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์มีปริมาณผลผลิตและโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อนำส่วนสกัดที่แยกได้ไปทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธีการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ผลการทดสอบแสดงให้เห็นชัดเจนว่าส่วนที่ 3 จากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ แสดงฤทธิ์การต้านออกซิเดชันทั้ง 4 วิธีสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กว่าส่วนอื่น ๆ ที่แยกได้และยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดอีกด้วย

เมื่อนำส่วนสกัดที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส 5-ไลพอกซีจีเนส ไฮยาลูโรนิเดส และแอลฟา-กลูโคซิเดส พบว่าส่วนที่ 3 ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ทั้ง 4 ชนิดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่น ๆ ที่แยกได้ในขณะที่ส่วนที่ 3 จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสได้สูงกว่าอาร์บูตินและฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้สูงกว่าวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Fractionation of mango seed kernel phenolics and their bioactivities related to health food and cosmetic

Researcher: Assoc. Prof. Dr. Praphan Pinsirodom

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

ABSTRACT

Isolation of the extracts from seed kernel of mango var. Keaw and var. Chock-Anan was performed using column chromatography with Sephadex LH-20 as stationary phase and methanol as mobile phase. The isolation clearly showed 3 fractions of isolate from both Kaew and Chock-Anan mango seed kernel extracts (MSKEs). Fraction 3 of both varieties exhibited highest % yield and total polyphenol content ($P < 0.05$). Moreover, the antioxidant properties measured by DPPH radical scavenging activity, ferric reducing antioxidative power assay, hydrogen peroxide scavenging activity, ABTS radical scavenging activity and positive correlation was also observed between antioxidant properties and total polyphenol content.

Results also showed that the fraction 3 of isolates from MSKEs of the two varieties had the highest inhibitory activity against the tyrosinase, 5-lipoxygenase, hyaluronidase, and α -glucosidase. In addition greater inhibition of tyrosinase and hyaluronidase were observed in the two samples of isolates compared to referent arbutin and vitamin C, respectively ($P < 0.05$).

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

กิติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการแยกส่วนสารฟีนอลิกจากเมล็ดในมะม่วงและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอาง ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากเงินงบประมาณแผ่นดินปี 2556 ผู้วิจัยขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการให้บริการด้วยดีมาตลอด

ประพันธ์ ปันศิริโรดม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

IV
สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
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 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบโพลีฟีนอลสมมะม่วงที่สัมพันธ์กับการ 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 การแยกส่วนสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี.....	23
3.6 การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด.....	23
3.7 การศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง.....	23
3.8 ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพ.....	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	26
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	27
4.1 ผลการวิเคราะห์การแยกส่วนของสารโพลีฟีนอลจากสารสกัดจากเมล็ดใน มะม่วงแก้วและไซคอนันต์.....	27
4.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณผลผลิตและโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัด.....	28
จากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์	
4.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง.....	30
4.4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส.....	32
4.5 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส.....	34
4.6 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส.....	36
4.7 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส.....	38
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	40
เอกสารอ้างอิง.....	42
ภาคผนวก	
ก. การวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด.....	50
ข. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH.....	53
ค. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก.....	57
ง. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	60
จ. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูล ABTS.....	63
ประวัติผู้เขียน.....	66

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ปริมาณสารโพลีฟีนอลในเปลือกมะม่วง.....	10
2.2 สารโพลีฟีนอลและปริมาณในเมล็ดในมะม่วง.....	11
2.3 ค่า ID ₅₀ ของ Quercetin ในการยับยั้งเนื้องอกของอวัยวะต่างๆ.....	13
4.1 ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดหยาบ.....	29
และส่วนที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว	
4.2 ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดหยาบ.....	29
และส่วนที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์	
4.3 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบและส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้.....	31
จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว	
4.4 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบและส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้.....	31
จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์	
4.5 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัด.....	33
มะม่วงแก้วเปรียบเทียบกับสารอาร์บูติน	
4.6 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัด.....	33
มะม่วงโชคอนันต์เปรียบเทียบกับสารอาร์บูติน	
4.7 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้.....	35
จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วเปรียบเทียบกับสารรูติน	
4.8 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้.....	35
จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์เปรียบเทียบกับสารรูติน	
4.9 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้.....	37
จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วเปรียบเทียบกับวิตามินซี	
4.10 ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้.....	37
จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์เปรียบเทียบกับวิตามินซี	
4.11 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของส่วนต่าง ๆ	39
ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วเปรียบเทียบกับอาคาร์โบส	
4.12 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของส่วนต่าง ๆ	39

เอกสารนี้เป็นของที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์เปรียบเทียบกับอาคาร์โบส
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

VII
สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของเซนโรน.....	7
2.2 โครงสร้างของแมงจีเฟอริน.....	7
2.3 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์กลุ่มต่าง ๆ	8
2.4 กลไกการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน.....	14
4.1 ผลการวิเคราะห์การแยกส่วนของสารโพลีฟีนอลของสารสกัดหยาบ จากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์	27
ก.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง ที่ 730 นาโนเมตร	51
ข.1 กราฟมาตรฐานระหว่างกรดโพลีฟีนอลกับร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH.....	55
ค.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลกับค่าการดูดกลืนแสง 593 นาโนเมตร.....	58
ง.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลและร้อยละการทำลาย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	61
จ.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณโพลีฟีนอลและร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS....	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา 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 แมงจีเฟอริน (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 โชคอนันต์ ฟาลัน และ แก้วพบว่าเมล็ดของมะม่วงทุกสายพันธุ์ทั้งผลดิบและผลสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมาคือเปลือกและเนื้อ โดยพบว่ามะม่วงพันธุ์โชคอนันต์และมะม่วงแก้วจะมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ (ประพันธ์, 2550) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดในของมะม่วงโชคอนันต์ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน (Maisuthisakul และ Gordon, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์มีความสนใจในการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของมะม่วงกันอย่างกว้างขวางเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง เนื่องจากผู้บริโภคกำลังให้ความสำคัญดูแลสุขภาพและบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่เป็นสารสกัดจากธรรมชาติ นอกจากนี้ในการผลิตเครื่องสำอางยังต้องการสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอีกด้วย จากงานวิจัยต่าง ๆ จะเห็นว่ามะม่วงอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีที่ใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ธรรมชาติและอุดมไปด้วยสารโพลีฟีนอล งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาการแยกส่วนของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์ เพื่อนำส่วนต่างๆ ที่แยกได้มาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจาก คือ โดยศึกษาเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตของแต่ละส่วนที่แยกได้ ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้และการสร้างเม็ดสีของเซลล์ผิวหนัง การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase) ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการอักเสบ (inflammation) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดริ้วรอยบนผิวหนัง การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (alpha-glucosidase) ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เพื่อนำข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านั้นมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ทั้งอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 ศึกษาการแยกส่วนของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี

1.2.2 ศึกษาปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในส่วนสกัดต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์และแก้ว

1.2.3 ศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของส่วนสกัดต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.4 ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของไทโรซิเนส 5-ไลพอกซีจีเนส ไฮยาลูโรนิเดสและแอลฟา-กลูโคซิเดส ของส่วนสกัดต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับการศึกษาการแยกส่วนของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 2 พันธุ์คือ แก้วและโชคอนันต์ โดยวิธีคอลลัมน์โครมาโตกราฟีและนำส่วนสกัดต่าง ๆ ที่แยกได้มาวิเคราะห์ปริมาณผลผลิต ปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และความสามารถในการทำลายอนุมูล 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) รวมถึงการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องับสุขภาพ และ ผิวพรรณคือ เอนไซม์ไทโรซิเนส เอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส และเอนไซม์อัลฟา-กลูโคซิเดสโดยที่ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางด้านสุขภาพทั้งในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงส่วนสกัดที่แยกได้ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์โดยวิธีคอลลัมน์โครมาโตกราฟี

1.4.2 ทราบถึงปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดที่อยู่ในส่วนสกัดต่าง ๆ ที่แยกได้ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์

1.4.3 ทราบถึงฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของส่วนสกัดต่าง ๆ ที่แยกได้ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่ทดสอบโดยวิธีต่าง ๆ

1.4.4 ทราบถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องับสุขภาพและผิวพรรณคือ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสและเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนสกัดต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคอนันต์เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะม่วง

มะม่วงมีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์คือ *Mangifera Indica* Linn. อยู่ในวงศ์อนาคาร์ดิอาซีอี (Anacardiaceae) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่นิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายทั่วไปในเขตร้อนและร้อนชื้น อินเดียเป็นประเทศที่มีการปลูกมากที่สุดให้ผลผลิตประมาณ 9 ล้านตันต่อพื้นที่ 1 ล้านเฮกตาร์ (6.25 ล้านไร่) ประเทศไทยมีปริมาณมะม่วงที่สามารถเก็บเกี่ยวได้เป็นอันดับ 3 ของประเทศที่สามารถปลูกมะม่วงได้ (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2549) แต่ประเทศไทยมีผลผลิตมะม่วงรวม 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) อะราบินโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucuronic acid) กรดกาแลกตูโรนิก (galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้ยังอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารโพลีฟีนอลกับตัวกันเองหรือโพลีฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) กรดอินทรีย์ (organic acid) เอมีน (amines) และไขมันอีกด้วย (Bravo, 1998) ปริมาณสารโพลีฟีนอลที่พบในพืชแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป นอกจากนี้ในส่วนของเนื้อเยื่อที่ต่างกันของผักและผลไม้ชนิดเดียวกันปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกก็ยังแตกต่างกันอีกด้วย เนื่องจากปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องกับการสร้างสารโพลีฟีนอลของพืช นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการเพาะปลูกไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับความสูง กระบวนการแปรรูปหรือแม้แต่วิธีการเก็บรักษาก็ล้วนมีผลต่อปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งสิ้น สารโพลีฟีนอลถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืช รวมทั้งช่วยปกป้องพืชจากการติดเชื้อหรือถูกทำลายโดยแมลงหรือจุลินทรีย์และยังมีหน้าที่เกี่ยวกับการเกิดสีและกลิ่นรส (Karakaya, 2004) อย่างไรก็ตามหน้าที่ที่แน่นอนของสารโพลีฟีนอลส่วนใหญ่ในพืชนั้นยังเป็นที่สงสัย แต่ทั้งนี้อาจจำแนกหน้าที่ความสำคัญของสารโพลีฟีนอลเป็น 3 ประการ ดังนี้ (จริงแท้, 2541)

2.2.1 การต้านทานโรค สารโพลีฟีนอลหลายชนิดสามารถป้องกันหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบางชนิดได้ เช่นกรดโปรโทคาเทอซอิก (protocatechuic acid) ซึ่งเป็นสารโพลีฟีนอลที่มีมากในหอมหัวใหญ่สีม่วงจะต้านทานต่อโรค smudge ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum circinan* ได้ดี แต่ในหอมพันธุ์สีขาวจะไม่มีสารชนิดนี้จึงอ่อนแอต่อโรคดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่าสารที่สกัดได้จากหัวหอมนี้สามารถป้องกันการงอกและยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ได้

2.2.2 รสฝาด รสฝาดของผลไม้หลายๆ ชนิดขึ้นอยู่กับปริมาณของสารโพลีฟีนอลในผลช่วงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกที่ให้ความฝาดนั้นอยู่ในช่วง 500-3,000 ซึ่งสามารถที่จะรวมตัวกับโมเลกุลของโปรตีนในปากทำให้รู้สึกฝาดได้ เมื่อผลไม้แก่จัด (mature) ปริมาณสารโพลีฟีนอลมักจะลดลง นอกจากนี้สารโพลีฟีนอลยังเกิดการรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่ (polymerization) และการรวมตัวจะเกิดขึ้นเรื่อยๆ จากโมเลกุลที่ละลายน้ำกลายเป็นโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำซึ่งเป็นผลให้ความฝาดลดลงในพืชตระกูลส้มนั้นเป็นผลจากนารินจีน (naringin) ซึ่งพบมากและเป็นสารโพลีฟีนอลที่ให้รสขมสูง ส่วนรสขมของแตงกวานั้นเกิดจากสารคูเคอโบทาซิน (cucurbitacin) หรือรสขมซึ่งเกิดจากลิโมนอยด์ (limonoids) ในพวกส้มไม่ใช่สารโพลีฟีนอลแต่เป็นสารประกอบพวกไตรเตอเพนอยด์ (triterpenoid)

2.2.3 สีนอกจากแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารโพลีฟีนอลชนิดหนึ่งที่ได้สีกับผักและผลไม้แล้ว สารโพลีฟีนอลอื่นๆ ที่ปกติไม่มีสีอาจทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นได้เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) ซึ่งเปลี่ยนโมเลกุลของฟีนอลไปเป็นควิโนน (quinone) แล้วเกิดโพลีเมอไรเซชัน (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 ไม่ว่าจะเป็นใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างพื้นฐานเป็นแบบไดฟีนีลโพรเพน(diphenylpropanes) (C6-C3-C6) โดยมี A- และ B-ring เป็นวงแหวนฟีนีล (phenyl ring) และ C-ring เป็นวงแหวนแลคโตน (lactone ring) ทำให้โครงสร้างหลักที่ได้เหมือนโครงสร้างหลักของวิตามินอี ที่เป็นโครงสร้างแบบโครแมน (chroman structure)

องค์ประกอบสำคัญที่ทำให้ฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระแตกต่างกันคือ จำนวนและตำแหน่งของหมู่ OH ใน A- และ B-ring โดยเฉพาะที่ B-ring จะมีผลกระทบมากที่สุดฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งตามโครงสร้างพื้นฐานออกเป็นกลุ่มต่างๆได้ 12 กลุ่มย่อยคือ ฟลาโวน (flavone) ไอโซฟลาโวน (isoflavone) ฟลาโวนอล (flavonol) ฟลาวานอน (flavanone) ฟลาวานอนอล (flavanonol) ฟลาวานอล (flavanol) ลูโคแอนโทไซยานิน (lucoanthocyanin) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) ชาลโคน (chalcone) ไดไฮโดรชาลโคน (dihydrochalcone) ออโรน (aurone) และแซนโธน (xanthone)

นอนฟลาโวนอยด์ ที่สำคัญได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ตัวอย่างที่พบมากในผลไม้ทั่วไปคือ กรดแกลลิก (gallic acid) กรดโปรโตแคเทคิควิก (protocatechuic acid) กรดวานิลลิก (vanillic acid) กรดพาราคูมาริก (p-coumaric acid) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) เป็นต้น นอกจากนี้นอนฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ ไฮดรอกซีซินนามेट (hydroxycinnamate) สติลบินเนส (stibinase) เป็นต้น

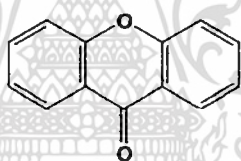
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มกรดฟีนอลิกและเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิกจะขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล สมบัติในการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกในกรดเบนโซอิกจะส่งผลให้ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของไฮดรอกซีเบนโซเอทน้อยลงดังนั้นจะพบว่าสารกลุ่มไฮดรอกซีซินนามิกจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า

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) ซึ่งพบว่ามีส่วนประกอบของ แมงจีเฟอริน (mangiferin) ไอโซแมงจีเฟอริน (isomangiferin) แมงจีเฟอริน แกลเลต (mangiferin gallate) และไอโซแมงจีเฟอริน แกลเลต (isomangiferin gallate) โดยมีปริมาณของแมงจีเฟอรินมากที่สุด (Berardini และคณะ, 2005) สารในกลุ่มฟลาโวนอลกลัยโคไซด์ (flavonol O-glycosides) ซึ่งพบว่ามีส่วนประกอบของส่วนเคอร์ซีตินกาแลคโตไซด์ (quercetin 3-O-glycosides) เคอร์ซีตินกลูโคไซด์ (quercetin 3-O-glucoside) เคอร์ซีตินไซโลไซด์ (quercetin 3-O-xyloside) เคอร์ซีตินอะราบินโนไพราโนไซด์ (quercetin 3-O-arabinopyranoside) เคอร์ซีตินอะราบินโนฟูราโนไซด์ (quercetin 3-O-furanoside) (Soong และคณะ, 2004) แม้ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

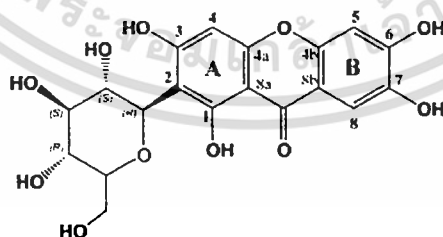
arabinofuranoside) เคอร์ซีติน แรมโนไซด์ (quercetin 3-O-rhamnoside) แคมฟีรอลกลูโคไซด์ (kaempferol 3-O-glucoside) แรมเนตินกาแลคโตไซด์/กลูโคไซด์ (rhamnetin 3-O-galactoside /glucoside) และเคอร์ซีติน (quercetin) โดยมีปริมาณของเคอร์ซีตินกาแลคโตไซด์มากที่สุด (Berardini และคณะ, 2005)

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) เพลาร์โกนินดิน (pelargonidin) และเดลฟินิดิน (delphinidin) โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานินมีชื่อเรียกว่า flavylium cation ซึ่งประกอบด้วยวงแหวน 3 วง คือ วงแหวน A (A-ring) วงแหวน B (B-ring) และวงแหวน C (C-ring) โดยที่แอนโทไซยานินแต่ละชนิดจะแตกต่างกันที่หมู่แทนที่บนคาร์บอนตำแหน่งต่างๆ รูปโพลีฟินอลมะม่วงแสดงดังรูปที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของแซนโทน

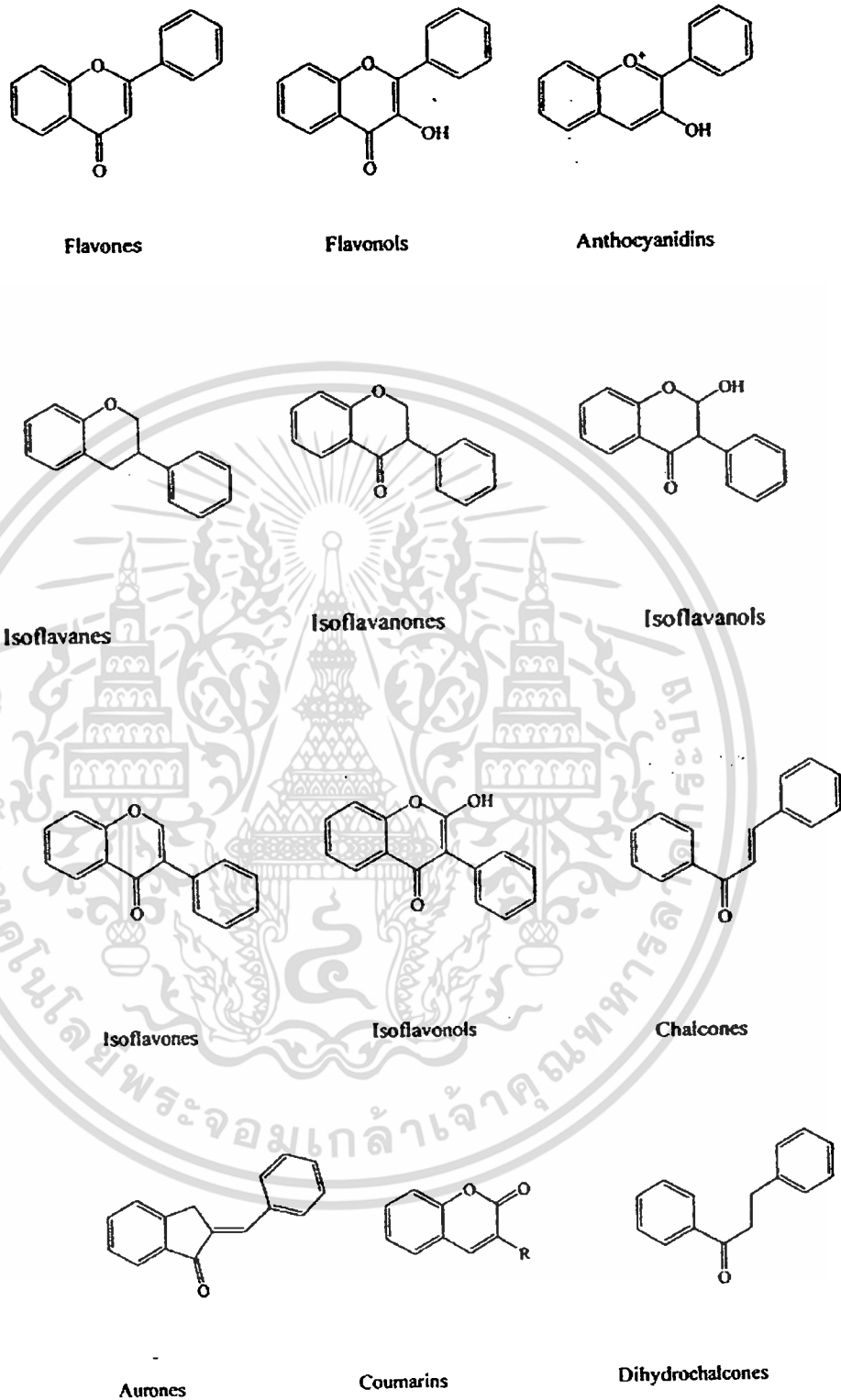
ที่มา: ดัดแปลงจาก Masibo และ He (2008)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของแมงจีเฟอริน

ที่มา: Masibo และ He (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์กลุ่มต่าง ๆ

ที่มา : โภกา และคณะ 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 สารโพลีฟีนอลในเนื้อมะม่วง

Schieber และคณะ, (2006) จำแนกชนิดของสารโพลีฟีนอลในเนื้อมะม่วงพบว่ามีสารแมงจิจิเฟอริน (mangiferin) กรดแกลลิก (gallic acid) แกลโลแทนนิน (gallotannins) เคอร์เซติน (quercetin) ไอโซเคอร์เซติน (iso-quercetin) กรดเอลลาจิก (ellagic acid) และเบต้ากลูโคแกลลิน (β -glucogallin) ในปี 2004 Singh และคณะทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกในเนื้อมะม่วงพันธุ์เศรษฐกิจของประเทศอินเดีย 6 สายพันธุ์ (Deshi, 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 ชนิดหลักที่พบมากที่สุดคือ แมงจิจิเฟอริน (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 ไชคอนันต์ แรด ฟาลัน หัวช้างมันเดือนเกาออกร่อง และมหาชนก) พบว่าเมล็ดมะม่วงแก้วสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดรองลงมาคือเมล็ดมะม่วงไชคอนันต์สุก โดยมีปริมาณคือ 116.98 และ 115.38 มิลลิกรัมแกลลิก/100กรัมน้ำหนักสดตามลำดับ และเมล็ดมะม่วงมันเดือนเกาสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 65.43 มิลลิกรัมแกลลิก/100 กรัมน้ำหนักสด 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) กรดซินามิก (cinanic acid) และส่วนประกอบอื่น ๆ แสดงดังตาราง 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 คุณลักษณะทางชีวภาพของสารประกอบโพลีฟีนอลในมะม่วงที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง

2.4.1 คุณลักษณะทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบันของสารประกอบโพลีฟีนอลคือ สมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติทั้งในอาหารและระบบของสิ่งมีชีวิต รวมถึงการนำมาใช้ประโยชน์ในเครื่องสำอาง โดยที่สารโพลีฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไฮดรอกซิลของโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว จากรายงานข้างต้นพบว่ามะม่วงอุดมไปด้วยสารประกอบโพลีฟีนอลซึ่งได้รับความนิยมที่จะนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารเสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง

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

เอกสารไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิมเสน โชคอนันต์ แรด ฟาลัน หัวช้างมันมันเดือนเก้า อกร่อง และ มหาชนก) พบว่าเมล็ดมะม่วงแก้วสุก มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุดรองลงมาคือ เมล็ดมะม่วงโชคอนันต์สุกโดยมี EC_{50} เท่ากับ 13.06 และ 13.67 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมล็ดมะม่วงมันเดือนเก้าสุกให้ผลการทดลองต่ำที่สุดมีโดยมี 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 ไมโครโมลกรดโทรลออกซ์พร้อมทั้งรายงานผลการต้านอนุมูลอิสระแบบ ATBS พบว่าพันธุ์ Xiaoji ให้ผลสูงสุดคือ 1551 ไมโครโมลโทรลออกซ์ และพันธุ์ Guifei ให้ผลต่ำสุดคือ 600 ไมโครโมลโทรลออกซ์

2.4.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการป้องกันและรักษามะเร็ง

โรคมะเร็งคือ กลุ่มของโรคที่เกิดขึ้นเนื่องจากเซลล์ของร่างกายมีการแบ่งตัวผิดปกติที่ DNA หรือสารพันธุกรรมส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว และมากกว่าปกติ ดังนั้นจึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อผิดปกติและในที่สุดก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์นั้น เนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง การเรียกชื่อมะเร็งก็จะขึ้นอยู่กับอวัยวะนั้น เช่นมะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม ซึ่งการรักษามะเร็งแต่ละชนิดจึงไม่เหมือนกันขึ้นอยู่กับอวัยวะ ระยะ และสภาพร่างกายของผู้ป่วยด้วย

มีรายงานว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถช่วยป้องกันและทำลายเซลล์มะเร็งได้ เนื่องจากในพืชสมุนไพรเหล่านี้มีสารโพลีฟีนอลมากมายหลายชนิดที่มีผลต่อเซลล์มะเร็ง จากรายงานวิจัยพบว่ามะม่วงมีสารโพลีฟีนอลมากมายหลายชนิด ดังนั้นจึงมีการศึกษาที่จะนำมะม่วงมาใช้ในการป้องกัน และรักษาโรคมะเร็ง Woude และคณะ (2003) รายงานว่า quercetin ที่มีความเข้มข้นสูงๆ สามารถยับยั้งมะเร็งลำไส้ได้ จากการทดสอบโดยเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็ง 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 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากกว่า 40% นอกจากนี้ยังมีรายงานต่ออีกว่า mangiferin ยังสามารถใช้เป็นเคมีบำบัดจากธรรมชาติได้อีกด้วย

นอกจากนี้ยังมีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้รายงานผลทดสอบการยับยั้งเนื้องอกหลายชนิด ในหลอดทดลองจาก Quercetin แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2.3 ค่า ID₅₀ ของ Quercetin ในการยับยั้งเนื้องอกของอวัยวะต่างๆ

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

LD = Dose lethal to 50% of cultured cells.

2.4.3 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

เมลานินหรือเม็ดสีสร้างจากเซลล์ผิวหนังที่เรียกว่าเมลานोไซต์ (melanocyte) ซึ่งแทรกตัวอยู่ชั้นหนังกำพร้าส่วนล่างสุดโดยเซลล์เมลานอไซต์ 1 เซลล์จะสร้างเมลานินบรรจุในแคปซูลที่เรียกว่า เอกซอสอมเป็นเอกซอสอมที่ส่งออกไปสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เมลาโนโซมเมื่อสร้างเสร็จจะส่งไปตามร่างแหเข้าสู่เซลล์ผิวหนังสารเมลานินสามารถแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ ไม่ว่าจะกินใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คิดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยูเมลานิน (eumelanin) เป็นเม็ดสีเข้มเพราะมีเมลานินบรรจุในแคปซูลจำนวนมากและฟีโอมเมลานิน (pheomelanin) เป็นเม็ดสีเหลืองหรือแดงเพราะมีเมลานินน้อยการสังเคราะห์เมลานินนั้นเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเปลี่ยนจากกรดอะมิโนไทโรซีนเป็นเม็ดสีเมลานินถ้าเกิดการสังเคราะห์มากผิดปกติเป็นสาเหตุให้เกิดฝ้า กระ และจุดต่างดำอันไม่พึงประสงค์ (Karioti และคณะ, 2007) ขั้นตอนการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินแสดงดังรูป 2.4



ภาพที่ 2.4 กลไกการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน

ที่มา : Prota, 1980

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันเครื่องสำอางช่วยให้ผิวขาวกระจ่างใสจากสารสกัดธรรมชาติกำลังเป็นที่นิยม เนื่องจากมีความปลอดภัยและไม่มีผลข้างเคียง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเพื่อใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากพืชเหล่านั้นเพื่อเป็นแหล่งวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับผิวขาวกระจ่างใสต่อไป

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

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

2.4.4 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการยับยั้งการอักเสบ

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

การอักเสบเฉียบพลันจะใช้ยาที่ไปช่วยลดการบวม แดง ร้อน ปวด และสูญเสียหน้าที่ของอวัยวะที่เกิดการอักเสบ ส่วนการอักเสบเรื้อรังจะใช้ยาที่ไปมีผลต่อกระบวนการอักเสบ เช่นยับยั้งการทำงานของเม็ดเลือดขาวที่จะไปทำลายเนื้อเยื่อ การใช้ยามีจุดมุ่งหมายในการบรรเทาอาการอักเสบไม่ได้หวังรักษาให้หายขาด ยาที่นิยมใช้คือกลุ่มสเตียรอยด์แต่ก็พบว่ายากลุ่มนี้อาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงได้

ปัจจุบันได้มีการศึกษาสารสกัดสมุนไพรและพืชต่าง ๆ ในการบรรเทาอาการอักเสบในขณะที่มีรายงานว่ามะม่วงนั้นอุดมไปด้วยสารโพลีฟีนอลที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการอักเสบด้วยเช่นกัน

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Gabino และคณะ (2004) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะม่วงต่อการอักเสบ ในหนูพบว่าหนูที่ได้รับสารสกัดจากมะม่วง 0.5-2 มิลลิกรัมที่เบาหูสามารถลดการอักเสบโดยการกระตุ้นด้วยกรด Arachinoic (AA) และ Phorbol myristate acetate (PMA) ให้ค่า ED₅₀ เท่ากับ 1.1 มิลลิกรัมต่อเบาหู 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 ในการรักษาจำเป็นต้องควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ให้สูงเกินไปโดยการควบคุมอาหารและรับประทานยาเพื่อการลดการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลในเลือดเพื่อรักษาผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จากการศึกษาในหลอดทดลองของ Prashanth และคณะ (2001) พบว่าสารสกัดแมงจีเฟอรินด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ในขณะที่ Yoshikawa และคณะ (2001) พบว่าแมงจีเฟอรินสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์กลุ่มกลูโคซิเดสในหนูทดลองได้เช่น เอนไซม์ซูเครส ไอโซเมอเรส และมอลเทส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลกลูโคส และยังมีความสามารถในการลดการดูดซึมกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือดในลำไส้เล็กได้อีกด้วย นอกจากนี้แมงจีเฟอรินยังสามารถลดน้ำหนักของหนูทดลองด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Miura และคณะ (2011) รายงานว่าจากการทดสอบให้หนูกินแมงจิเฟอร์ริน 90 ไมโครกรัม ต่อ กิโลกรัมเป็นเวลา 7 ชั่วโมงพบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดลดลงร้อยละ 56 และเมื่อ ทดสอบโดยให้หนูกินแมงจิเฟอร์ริน 30 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมต่อกิโลกรัมวันละ 1 ครั้ง หลังจากนั้นให้หนู วิ่งด้วยเครื่องเป็นเวลา 120 นาที 2 สัปดาห์ พบว่าระดับคลอเรสเตอรอลในเลือดลดลงร้อยละ 40 และ ไตรกลีเซอไรด์ลดลงร้อยละ 70

จากการศึกษาของ Qui และคณะ (2007) พบว่าแมงจิเฟอร์รินสามารถยับยั้งการทำงานของ PTP1B ในหนูทดลองซึ่งพบว่าการลดการทำงานของ PTP1B ทำให้มีระดับไตรกลีเซอไรด์ต่ำกว่าหนู ปกติที่ไม่ได้รับแมงจิเฟอร์รินและมีอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวน้อยมากเมื่อได้รับอาหารที่มีไขมันสูง PTP1B ซึ่งเป็นโปรตีนที่จัดอยู่ในกลุ่ม PTP ที่พบในเนื้อเยื่อหลายชนิดซึ่งการทำงานของ PTP1B มีผลต่อความไว ของระดับน้ำตาลในเลือดและกระบวนการติดต่อฮอร์โมนอินซูลิน

2.4.6 ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการยับยั้งจุลินทรีย์

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในอาหารเป็นปัญหาใหญ่ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียคุณภาพและ อาจไม่ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษบางชนิดซึ่งสาเหตุสำคัญเกิดจากการขาดการ จัดการด้านสุขลักษณะในกระบวนการผลิตและจัดเก็บอาหารที่ถูกต้อง นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษา นำสารสกัดจากธรรมชาติมาลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ซึ่งมีพืชหลายชนิดที่มีสมบัติในการต้าน แบคทีเรียเช่น ขมิ้น ข่า ตะไคร้ กระเทียม เป็นต้น รวมทั้งมะม่วงซึ่งให้สารสกัดที่ต้านแบคทีเรียได้หลาย ชนิด

Kabuki และคณะ (2000) ศึกษาสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงมายับยั้งแบคทีเรียก่อโรคอาหาร เป็นพิษ พบว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงมีปริมาณโพลีฟีนอลรวมร้อยละ 79 สามารถต้านการ เจริญเติบโตของ *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดมีค่า MIC = 50 ppm

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

Khammuang และ Sarnthima (2011) รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ajila และคณะ (2007a) ศึกษาปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ปริมาณ แคโรทีนอยด์ ปริมาณแอนโทไซยานินในมะม่วง 2 สายพันธุ์ คือ Raspuri และ Badami พบว่ามะม่วงดิบ ทั้ง 2 สายพันธุ์มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในส่วนของเปลือกสูงกว่ามะม่วงสุก ในขณะที่ปริมาณ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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 กรดเฟอร์ริก กรดคลอโรจีนิก 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

มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง 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 ฟาลัน หัวช้างมันเดือนเก้ อกร่อง และมหาชนก) พบว่าเมล็ดมะม่วงแก้วสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือเมล็ดมะม่วงโชคอนันต์สุกโดยมีปริมาณคือ 116.98 และ 115.38 มิลลิกรัมแกลลิก/100 กรัมน้ำหนักสดตามลำดับ และเมล็ดมะม่วงมันเดือนเก้สุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดต่ำที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 65.43 มิลลิกรัมแกลลิก/100 กรัมน้ำหนักสด

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 มีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดโดยมีปริมาณ 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 มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุดรองลงมาคือ Tommy atkins, Haden และ Palmer ตามลำดับ ในเนื้อของมะม่วงทั้ง 4 สายพันธุ์ แสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าใน BHA และกรดแกลลิก

ประพันธ์ (2550) ศึกษาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของเปลือกเนื้อและเมล็ดในของมะม่วง 6 สายพันธุ์ ทั้งผลดิบและผลสุก คือพันธุ์เขียวเสวย น้ำดอกไม้ แรด โชคอนันต์ ฟาลัน และแก้ว พบว่าเมล็ดของมะม่วงทุกสายพันธุ์ทั้งผลดิบและผลสุกมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงสุดรองลงมาคือเปลือกและเนื้อ โดยพบว่ามะม่วงพันธุ์โชคอนันต์และมะม่วงแก้วจะมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ

ยังมีรายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดในของมะม่วงไซคอนันต์ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน (Maisuthisakul และ Michael, 2009) รายงานว่าสภาวะของการสกัดสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงมีผลต่อการยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนส จากรายงานพบว่า การสกัดด้วยวิธีการย่อยด้วยกรดให้ผลการยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด โดยมีค่า ID_{50} ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งแอกติวิตีของเอ็นไซม์ได้ 50 % เท่ากับ 4.13 ± 0.03 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือ การสกัดด้วยวิธีการ reflux โดยค่า ID_{50} เท่ากับ 6.91 ± 0.04 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และการสกัดด้วยการเขย่าซึ่ง ID_{50} เท่ากับ 7.45 ± 0.06 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

Maisuthisakul (2011) ทดลองแยกส่วนสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ที่สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในเอธานอล โดยใช้เทคนิคเจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟี และใช้คอลัมน์ Sephadex LH-20 พบว่า สารสามารถแยกส่วนสารฟีนอลิกออกเป็น 2 ส่วนย่อย โดยสารที่แยกได้ส่วนที่ 2 ซึ่งมีผลผลิต (yield) 93.68 % แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ATBS ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก และความสามารถในการจับกับไอออนโลหะได้ดีกว่ากรดแทนนิก (tannic acid) และ เมทิล แกลเลท (methyl gallate)

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุประสงค์

เมล็ดมะม่วงในการทดลองครั้งนี้ใช้เมล็ดในของมะม่วง 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์แก้วดำ และ พันธุ์โชคอนันต์ โดยเก็บตัวอย่างมะม่วงดิบ จากอำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา นำมาแยกเอาเฉพาะเมล็ดมาเก็บรักษาโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำ -18 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลอง และเมื่อต้องการใช้จะนำเมล็ดมะม่วงมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง และ กะเทาะเอาเปลือกหุ้มออก เอาแต่เมล็ดในเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

3.2 สารเคมีในการวิเคราะห์

- กรดแกลลิก	Sigma	เยอรมัน
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical	Sigma	เยอรมัน
- ไทโรลิก	Aldrich	เยอรมัน
- กรดอะซิติก	Merck	เยอรมัน
- เอทานอล 95 %	LAB-Scan	ไอร์แลนด์
- เมทานอล	LAB-Scan	ไอร์แลนด์
- โซเดียมคาร์บอเนต	Merck	เยอรมัน
- Folin-Ciocateau reagent	BDH	อังกฤษ
- เอ็นไซม์ไทโรซิเนส	Fluka	สวิสเซอร์แลนด์
- เอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส	Bioscense	นอร์เวย์
- เอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส	Sigma	สหรัฐอเมริกา
- เอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส	Sigma	สหรัฐอเมริกา
- โซเดียมไฮยาลูโรเนท	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

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แคลเซียมคลอไรด์	Sigma	เยอรมัน
- โซเดียมบอร์เรต	Sigma	เยอรมัน
- โซเดียมไฮดรอกไซด์	Sigma	เยอรมัน
- Sephadex LH 20	Sigma	เยอรมัน

3.3 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

- เครื่องยูวีส-วิสิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์	Shimadzu UV-1601	ญี่ปุ่น
- เครื่องอัลตราโซนิก	Sonics	สหรัฐอเมริกา
- 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)	Wiggen Hauser	มาเลเซีย
- บีเปดอัตโนมัติ	Gilson	ฝรั่งเศส
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ	Memmert	เยอรมัน
- เครื่องปั่นเหวี่ยง	Allegra 64R	สหรัฐอเมริกา
- เครื่องระเหยความดันแบบหมุน	Buchi AG, R-200	สวิสเซอร์แลนด์
- Microplate Reader DTX880,Beckman coulter	Multimode detector	สหรัฐอเมริกา
-96 well plate reader	Sero-Wel,Bibby sterilin	อังกฤษ

3.4 การเตรียมสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

สกัดโดยเทคนิคอัลตราโซนิกพร้อมกับเอธานอล (ดัดแปลงจาก Gharfoor และ Choi, 2009) ซึ่งเมล็ดในมะม่วงที่บดละเอียดแล้ว 0.5 กรัม ผสมกับเอธานอลความเข้มข้น 95 % 100 มิลลิลิตรบดผสมด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็วสูงสุด 2 นาที และนำไปใส่เครื่องอัลตราโซนิกตั้งความถี่สูงสุด 20 KHz ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ในอ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และคนทุก 10 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 และระเหยด้วยเครื่องระเหยความดันเป็นเวลา 45 นาทีที่อุณหภูมิ 50 °C และวิเคราะห์ปริมาณผลผลิต และนำไปวิเคราะห์ต่อไปโดยที่ก่อนวิเคราะห์ให้ละลายตัวอย่างด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การแยกส่วนสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี

การแยกส่วนสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงใช้วิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Maisuthikul (2011) นำสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์มาแยกโดยผ่านคอลัมน์ Sephadex LH-20 โดยใช้เมธานอลเป็นตัวชะใช้ความเร็ว 60 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง เก็บตัวอย่างส่วนสกัดที่แยกได้หลอดละ 15 มิลลิลิตร แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงช่วงของโพลีฟีนอลด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร จากนั้นนำส่วนสกัดในแต่ละส่วนที่แยกได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด โดยที่ใช้หลอดที่มีค่าการดูดกลืนแสงเป็นร้อยละ 80 ของหลอดที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของแต่ละส่วนที่แยกได้เพื่อศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชัน วิธีต่าง ๆ และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ต่อไป

3.6 การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents)

การวิเคราะห์สารโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol content) (ตามวิธีของ Singleton และ Lamuela, 1999) วิเคราะห์โดยให้สารโพลีฟีนอลทำปฏิกิริยากับสาร Folin-Ciocalteu และติดตามปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่ดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก ก)

3.7 การศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

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

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

3.7.2 วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก Ferric reducing antioxidative power assay (FRAP)

วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ตามวิธีของ Benzie และคณะ (1999) โดยวัดความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันภายใต้สภาวะเป็นกรด โดยสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (FeIII-TPTZ) จะถูกรีดิวซ์ได้เป็น ferrous tripyridyltriazine (FeII-TPTZ) ซึ่งให้สารสีน้ำเงินและสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการอ้างอิงเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

593 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก ค)

3.7.3 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 รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก ง)

3.7.4 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 นาโนเมตรโดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ หลังจากทำปฏิกิริยาไป 6 นาที รายงานค่าในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (กราฟมาตรฐานตามภาคผนวก จ)

3.8 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.8.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\%inhibition = [Acontrol - Asample] / Acontrol \times 100$$

Acontrol = ค่าการดูดกลืนแสงชุดควบคุม

Asample = ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดเมล็ดในมะม่วงที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) จากกราฟระหว่างร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสและความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.8.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส (5-lipoxygenase)

วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงตามวิธีที่รายงานโดย Akula และ Odhav (2008) โดยนำสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงความเข้มข้นต่างๆ กัน มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Rutin โดยที่เอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสสามารถคะตะไลซ์ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่มี 1-4 diene เป็นส่วนประกอบโดยเร่งการเปลี่ยนกรดไลโนเลอิก (linoleic) เป็นกรด 13 ไฮโดรเปอร์ออกซีไลโนเลอิก (13-hydroperoxylinoleic) วิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส 1000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และวัดการเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีวิสซิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 234 นาโนเมตร และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสดังนี้

$$\%inhibition = [Acontrol - Asample] / Acontrol \times 100$$

Acontrol = ค่าการดูดกลืนแสงชุดควบคุม

Asample = ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดเมล็ดในมะม่วงที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส ได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) จากกราฟระหว่างร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส และความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.8.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase)

วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงตามวิธีที่รายงานโดย Lee และคณะ (2001) โดยนำสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงความเข้มข้นต่างๆ กัน มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี โดยที่เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสสามารถเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮยาลูโรเนต (sodiumhyaluronate) เป็นเอ็น-อะซีติลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine) วิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ 3000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และวัดการเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยาโดยวัดค่าการดูดกลืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสงด้วยเครื่องยูวีวิสซิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ 585 นาโนเมตร และคำนวณหาค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสตามสมการดังนี้

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

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงชุดควบคุม

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดเมล็ดในมะม่วงที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) จากกราฟระหว่างร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสและความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

3.8.4 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 และวัดความเปลี่ยนแปลงของสารละลายปฏิกิริยาโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีวิสซิเบิลสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 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

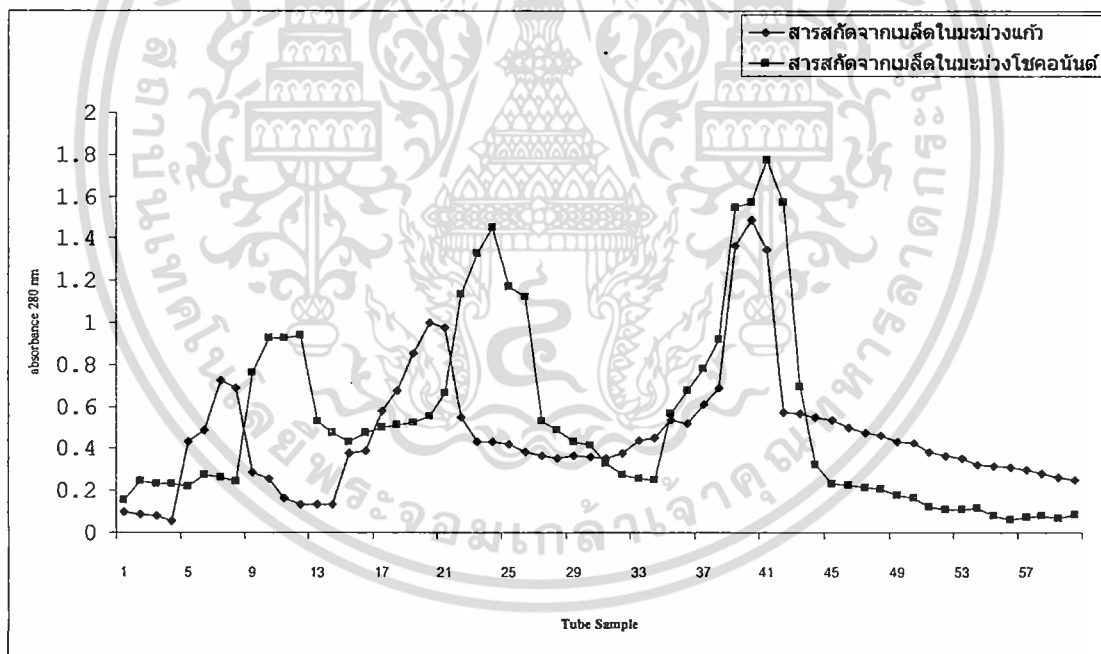
3.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

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

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 ผลการวิเคราะห์การแยกส่วนของสารโพลีฟีนอลของสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์

จากการแยกส่วนสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์ โดยผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่ใช้ Sephadex LH-20 เป็นวัฏภาคหนึ่งและให้เมธานอลเป็นตัวชะที่อัตราการไหล 60 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง และเก็บตัวอย่างส่วนสกัดที่แยกได้หลอดละ 15 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อติดตามปริมาณโพลีฟีนอลด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ สามารถแยกส่วนของสารสกัดหยาบได้ 3 ส่วน ดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตรของการแยกส่วนสกัดของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์

จากการรายงานก่อนหน้านี้ Maisuthisakul และคณะ (2011) ได้รายงานผลการแยกส่วนของสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ ที่สกัดโดยเอธานอลร่วมกับเขย่าและการใช้กรดสกัด โดยแยกส่วนด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่ใช้ Sephadex LH-100 เป็นวัฏภาคหนึ่งและเมธานอลเป็นตัวชะ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยวิธีเขย่าสามารถแยกส่วนจากสารสกัดหยาบได้ 5 ส่วน และสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ที่สกัดโดยใช้กรดสามารถแยกส่วนจากสารสกัดหยาบได้ 2 ส่วน

นอกจากนี้จากรายงานของ Zahradnikova และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดจากเอธานอลและเอธิลอะซิเตทของเนื้อเมล็ดอีฟเวนนิงพริมโรสที่ผ่านการแยกส่วนโดยคอลัมน์โครมาโตกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจลเป็น วัฏภาคหนึ่งและใช้เมทานอลเป็นตัวชะ พบว่าสารสกัดจากเอธานอลของเนื้อเมล็ดอีฟเวนนิงพริมโรสสามารถแยกได้ 6 ส่วนและสารสกัดจากเอธิลอะซิเตทแยกได้ 5 ส่วน

ความแตกต่างจากผลการทดลองดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากชนิดของวัฏภาคหนึ่งและวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เลือกใช้ในคอลัมน์รวมถึงชนิดของตัวอย่าง สายพันธุ์พืชตัวอย่าง สารที่ใช้สกัด และวิธีการสกัดตัวอย่างอีกด้วย

4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณผลผลิต (%yield) และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol) จากส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์

จากตารางที่ 4.1 สารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงแก้วที่นำมาแยกส่วนได้ 3 ส่วนและนำมาหาปริมาณผลผลิตพบว่าส่วนที่ 3 มีปริมาณผลผลิตสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) คือร้อยละ 17.10 ± 0.16 รองลงมาคือส่วนที่ 2 และส่วนที่ 1 โดยมีปริมาณร้อยละ 9.44 ± 0.14 และ 6.41 ± 0.23 ตามลำดับ และส่วนที่ 3 มีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือส่วนที่ 2 สารสกัดหยาบ และส่วนที่ 1 ตามลำดับโดยมีปริมาณโพลีฟีนอล 251.93 ± 1.03 , 174.86 ± 5.03 , 132.82 ± 2.05 และ 130.82 ± 1.36 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัม โดยที่ส่วนที่ 3 มีค่ามากกว่าสารสกัดหยาบ 1.54 เท่า

ตารางที่ 4.2 จากการนำสารสกัดหยาบของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มาแยกส่วนได้ทั้งหมด 3 ส่วน โดยส่วนที่ 3 มีปริมาณผลผลิตสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือส่วนที่ 2 และส่วนที่ 1 ตามลำดับ โดยมีปริมาณร้อยละ 27.90 ± 0.22 , 16.29 ± 0.42 และ 9.59 ± 0.33 ตามลำดับ นอกจากนี้ส่วนที่ 3 ยังมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อีกด้วย รองลงมาคือ ส่วนที่ 2 สารสกัดหยาบ และส่วนที่ 1 ตามลำดับ โดยมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดคือ 272.04 ± 9.24 , 206 ± 10.61 , 175.62 ± 5.29 และ 154.16 ± 2.35 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัม โดยมีค่าสูงกว่าสารสกัดหยาบถึง 1.55 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพสทีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดหยาบและส่วนที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ปริมาณโพสทีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัม)
สารสกัดหยาบ	-	132.82±2.05 ^c
ส่วนที่ 1	6.41±0.23 ^c	130.82±1.36 ^c
ส่วนที่ 2	9.44±0.14 ^b	174.86±5.03 ^b
ส่วนที่ 3	17.10±0.16 ^a	251.93±1.03 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณผลผลิตและปริมาณโพสทีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดหยาบและส่วนที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์

ส่วนสกัด พันธุ์ไซคอนันต์	ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)	ปริมาณโพสทีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อกรัม)
สารสกัดหยาบ	-	175.62±5.29 ^c
ส่วนที่ 1	9.59±0.33 ^c	154.16±2.35 ^d
ส่วนที่ 2	16.29±0.42 ^b	206.34±10.61 ^b
ส่วนที่ 3	27.90±0.22 ^a	272.04±9.24 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

จากรายงานของ Zahradnikova และคณะ (2008) ที่รายงานว่าสารสกัดจากเอธานอลและเอธิลอะซิเตทของเนื้อเมล็ดอีฟเวนนิ่งพรีมโรสที่ผ่านการแยกส่วนโดยคอลัมมนีโครมาโตกราฟีโดยใช้ซิลิกาเจลเป็นวัฏภาคหนึ่งและใช้เมทานอลเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ พบว่าสารสกัดจากเอธานอลของเนื้อเมล็ดอีฟเวนนิ่งพรีมโรสสามารถแยกได้ 6 ส่วน โดยส่วนที่ 4 มีปริมาณโพสทีฟีนอลสูงที่สุดและสูงกว่าสารสกัดหยาบ 1.26 เท่า โดยที่สารสกัดจากเอธิลอะซิเตทแยกได้ 5 ส่วนโดยส่วนที่ 5 มีปริมาณโพสทีฟีนอลทั้งหมดสูงสุดและสูงกว่าสารสกัดหยาบ 1.55 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองการแยกส่วนทั้งสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว และเมล็ดในมะม่วงโชคนันต์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี จะเห็นได้ว่าในแต่ละส่วนที่แยกได้มีปริมาณผลผลิต และปริมาณโพลีฟีนอลที่แตกต่างกัน เนื่องจากการแยกส่วนสารโดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟีนั้นอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันทำให้สารที่มีโมเลกุลใหญ่กว่าถูกชะออกมาก่อน และสารที่มีโมเลกุลเล็กถูกชะออกมาทีหลัง ส่งผลให้สามารถแยกสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงได้เป็นส่วนต่าง ๆ ตามน้ำหนักโมเลกุล ของสารที่ประกอบอยู่ในส่วนนั้นๆ โดยจะเห็นได้ว่าส่วนที่ 3 ของสารสกัดที่แยกได้จากมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ มีทั้งปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าส่วนอื่น ๆ ที่แยกได้ ในขณะที่เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่ามีความสัมพันธ์กันโดยที่ส่วนที่ 3 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงกว่าส่วนอื่น ๆ ที่แยกได้เช่นกันและนอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การแปดคอลัมน์และวิฤภาคเคลื่อนที่ยังมีผลต่อปริมาณผลผลิตและปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดอีกด้วย (Schmidt และคณะ, 2003)

4.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีจากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและโชคนันต์

จากการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบและส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้โดยวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging (DPPH) วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก, (FRAP) วิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และการวิเคราะห์ ความสามารถในการทำลายอนุมูล 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4

ตารางที่ 4.3 แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบและส่วนต่างๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วทั้งหมด 4 วิธีโดยพบว่า การทดสอบการต้านออกซิเดชันโดยวิธี DPPH ส่วนที่ 3 ให้ผลการทดลองสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือส่วนที่ 2 และส่วนที่ 1 ซึ่งผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการทดสอบด้วยวิธี FRAP, การทำลายอนุมูล H_2O_2 และ วิธี ABTS ในตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นชัดเจนว่าส่วนที่ 3 แสดงฤทธิ์การต้านออกซิเดชันทุกวิธีสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามการทดสอบแบบ FRAP และ ABTS สารสกัดหยาบให้ผลการทดสอบสูงกว่าส่วนที่ 1 เล็กน้อย

ส่วนตารางที่ 4.4 แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ และส่วนต่างๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคนันต์ให้ผลการทดสอบในทิศทางเช่นเดียวกับสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วโดยที่ส่วนที่ 3 แสดงฤทธิ์การต้านออกซิเดชันทั้ง 4 วิธีสูงสุด รองลงมาคือส่วนที่ 2 ในขณะที่การทดสอบการต้านออกซิเดชันโดยวิธีการทำลายอนุมูล H_2O_2 ของสารสกัด หยาบและส่วนที่ 1 ให้ผลการ

ด้านออกซิเดชันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) และผลการทดสอบแบบการทำลายอนุมูล ABTS พบว่าสารสกัดหยาบให้ค่าสูงกว่าส่วนที่ 1 เล็กน้อย

ตารางที่ 4.3 สมบัติด้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ และ ส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	DPPH (มิลลิกรัมสมมูลย์ กรดโทรลอคต่อกรัม)	FRAP (มิลลิกรัมสมมูลย์ กรดโทรลอคต่อกรัม)	H ₂ O ₂ (มิลลิกรัมสมมูลย์ กรดโทรลอคต่อกรัม)	ABTS (มิลลิกรัมสมมูลย์ กรดโทรลอคต่อกรัม)
สารสกัดหยาบ	187.25±2.63 ^c	209.76±3.83 ^c	95.31±1.91 ^d	163.39±1.53 ^c
ส่วนที่ 1	188.62±3.54 ^c	204.04±6.05 ^d	103.91±3.38 ^c	155.12±2.95 ^d
ส่วนที่ 2	201.24±1.91 ^b	224.06±2.76 ^b	120.54±0.82 ^b	171.35±3.93 ^b
ส่วนที่ 3	227.77±1.77 ^a	322.42±5.58 ^a	141.19±3.95 ^a	184.85±2.24 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.4 สมบัติด้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ และ ส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	DPPH (มิลลิกรัมสมมูลย์ กรดโทรลอคต่อกรัม)	FRAP (มิลลิกรัมสมมูลย์ กรดโทรลอคต่อกรัม)	H ₂ O ₂ (มิลลิกรัมสมมูลย์ กรดโทรลอคต่อกรัม)	ABTS (มิลลิกรัมสมมูลย์ กรดโทรลอคต่อกรัม)
สารสกัดหยาบ	209.09±2.65 ^d	229.77±2.36 ^d	112.92±3.52 ^c	177.11±1.73 ^c
ส่วนที่ 1	239.45±2.88 ^c	234.20±2.53 ^c	113.53±3.11 ^c	175.85±2.01 ^d
ส่วนที่ 2	252.25±1.44 ^b	254.99±3.06 ^b	125.56±2.71 ^b	184.65±1.71 ^b
ส่วนที่ 3	262.03±0.17 ^a	341.17±2.38 ^a	158.72±3.67 ^a	191.45±0.97 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

เมื่อพิจารณาปริมาณโพลีฟีนอลในส่วนที่ 3 ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ที่มีค่าสูงที่สุด (ตารางที่ 4.1 และ 4.2) จะเห็นได้ว่ามีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงสุดด้วยเช่นกัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรายงานของ Maisuthisakul (2011) ที่รายงานผลการศึกษาศักยภาพในการต้านออกซิเดชันของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ที่สกัดโดยใช้เอธานอลโดยวิธีเขย่าและใช้กรดสกัด แล้วผ่านการแยกโดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี พบว่าส่วนที่ 3 และส่วนที่ 2 ของสารสกัดจากเอธานอลโดยวิธีเขย่าและการใช้กรดสกัดมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณโพลีฟีนอลที่มีสูงสุดเช่นกัน

4.4 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน (melanin) ที่เรียกว่าเมลานोजีเนซิส (melanogenesis) ในร่างกายซึ่งพบในชั้นล่างสุดของหนังกำพร้า (epidermis) ชื่อเมลานโนไซต์ (melanocyte) ทำหน้าที่โดยเร่งการเปลี่ยนแปลงจากกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) ให้เปลี่ยนเป็นแอล-โดปา (L-DOPA) และโดปาคิวโนน (DOPA quinone) จนกลายเป็นเม็ดสีเมลานินต่อไป หากร่างกายมีการสร้างเม็ดสีเมลานินผิดปกติไม่ว่าจะเกิดจากปัจจัยภายนอกและภายในร่างกายก็ตาม เป็นสาเหตุให้เกิดรอยดำ ฝ้า กระ อันไม่พึงประสงค์ ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางจึงให้ความสนใจหาสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเพื่อเป็นส่วนประกอบสำหรับผลิตภัณฑ์ทำฝ้าลดเลือนจุดต่างดำและให้เกิดความกระจ่างใส

จากการนำสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์นำไปผ่านการแยกส่วนโดยวิธีการคอลัมน์โครมาโตกราฟีสามารถแยกส่วนได้ออกเป็น 3 ส่วน จากเมล็ดมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ และนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และ 4.6 จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ส่วนที่ 3 ให้ผลการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่าสารมาตรฐานอาร์บูตินที่นิยมใช้ในเครื่องสำอางแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ และสารอาร์บูตินที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสลดลงเหลือร้อยละ 50 เท่ากับ 18.13 ± 0.71 , 17.62 ± 0.49 และ 20.13 ± 0.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ สารสกัดหยาบ ส่วนที่ 1 ส่วนที่ 2 ของเมล็ดมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ มีฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) กับสารมาตรฐานอาร์บูติน

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วเปรียบเทียบกับสารอาร์บูติน

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบ	20.71±0.73 ^a
ส่วนที่ 1	21.35±0.53 ^a
ส่วนที่ 2	20.38±0.86 ^a
ส่วนที่ 3	18.13±0.71 ^b
อาร์บูติน	20.13±0.43 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสให้ลดลงเหลือร้อยละ 50

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์เปรียบเทียบกับสารอาร์บูติน

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบ	21.41±0.26 ^a
ส่วนที่ 1	20.58±0.42 ^a
ส่วนที่ 2	20.16±0.37 ^a
ส่วนที่ 3	17.62±0.49 ^b
อาร์บูติน	20.13±0.43 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนสให้ลดลงเหลือร้อยละ 50

จากผลการทดลองพบว่าส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้ผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ไทโรซิเนสแตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นกับสายพันธุ์ และส่วนประกอบของสารโพลีฟีนอลที่อยู่ในส่วนต่าง ๆ ที่แยกออกมาได้ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าในสารสกัดของเมล็ดในมะม่วงประกอบด้วยสารโพลีฟีนอลไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากมายหลายชนิด โดยที่ Ahmed และคณะ (2007) รายงานว่าเมล็ดในมะม่วงมีสารโพลีฟีนอลหลายชนิดเช่น แทนนิน กรดแกลลิก คูมาริน กรดคาเฟอิก วานิลิน แมงจีเฟอร์ริน กรดเฟอร์ริก กรดชินนามิก และอื่นๆ นอกจากนี้ Rompel และคณะ (1999) และ Shimogaki และคณะ (2000) รายงานว่าสารโพลีฟีนอลเช่น กรดแกลลิก กรดแทนนิน และ เคอร์เซติน สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส โดยสารโพลีฟีนอลดังกล่าวจะไปจับกับโลหะคอปเปอร์ซึ่งเป็นโคเอ็นไซม์ที่บริเวณเร่ง (Active site) ของเอ็นไซม์ไทโรซิเนส (Kim และคณะ, 1998) ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าในส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้น่าจะมีสารโพลีฟีนอลเหล่านี้อยู่ในแต่ละส่วนแตกต่างกันไป

4.5 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส (5-lipoxygenase)

การอักเสบที่เกิดจากกรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid) มีเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องคือ เอ็นไซม์ไซโคลออกซีจีเนส (cyclooxygenase) และ 5-ไลพอกซีจีเนส โดยที่กรดอะราชิโดนิกจะถูกเมทาบอลไลต์โดยผ่านการทำงานของเอ็นไซม์ 2 ชนิดนี้ได้เป็นสารกลุ่ม อีโคซานอยด์ (eicosanoids) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการอักเสบ ส่วนเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาชีวเคมีในร่างกายที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบนั้นจะไปเร่งการเปลี่ยนจากกรดอะราชิโดนิกเป็นไฮโดรเปอร์ออกซี-อีโคซาเตตระอีโนอิก (hydroperoxy-eicosatetraenoic acid, HPETE's) และลิโคไตรอีน (leukotrienes, LT's) ซึ่งเป็นสารสื่อกลางในการกระตุ้นการอักเสบของร่างกาย (Alitonou และคณะ, 2006)

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส ของสารสกัดหยาบและส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้โดยการผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟีของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารรูติน (Rutin) ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่ใช้ทดสอบการต้านการอักเสบโดยทั่วไป ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.8 และ 4.9 จะเห็นได้ว่าสารรูตินมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบและส่วนต่างๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ โดยมีค่า IC_{50} ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสลดลงเหลือร้อยละ 50 เท่ากับ 11.13 ± 0.36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และส่วนที่ 3 ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส สูงกว่า ส่วนที่ 2 ส่วนที่ 1 และสารสกัดหยาบ ในขณะที่ ส่วนที่ 1 และสารสกัดหยาบให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) การที่สารสกัดหยาบและส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากคอลัมน์โครมาโตกราฟีของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้งสองพันธุ์สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสได้แตกต่างกันนั้นเนื่องจากองค์ประกอบของโพลีฟีนอลในแต่ละส่วนที่แยกได้แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการที่สารสกัด และส่วนต่างๆ ที่แยกได้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส นั้น เนื่องจากสารโพลีฟีนอลมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน โดยที่มีรายงานว่าพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสามารถที่จะยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์เอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสได้ด้วย (Ammon และคณะ, 1993) นอกจากนี้ยังไปทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะร่าซิโนอิกที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบอีกด้วย (Trouillas และคณะ, 2003)

ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส ของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารอาร์บูติน

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบ	39.11±0.45 ^a
ส่วนที่ 1	41.12±1.07 ^a
ส่วนที่ 2	34.98±0.52 ^b
ส่วนที่ 3	29.59±0.93 ^c
รูติน	11.23±0.36 ^d

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์

5-ไลพอกซีจีเนสให้ลดลงเหลือร้อยละ 50

ตารางที่ 4.8 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนส ของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารรูติน

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบ	38.28±0.92 ^a
ส่วนที่ 1	39.62±1.63 ^a
ส่วนที่ 2	32.48±0.21 ^b
ส่วนที่ 3	21.11±0.52 ^c
รูติน	11.23±0.36 ^d

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์

5-ไลพอกซีจีเนสให้ลดลงเหลือร้อยละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่มอบให้ใช้ฟรีโดยไม่คิดค่าลิขสิทธิ์ของเอกสารฉบับนี้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase)

เอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเป็นเอ็นไซม์ที่มีความสำคัญเกี่ยวกับการเกิดริ้วรอยที่ผิวหนังโดยมีสมบัติในการย่อยสลายกรดไฮยาลูโรนิก (Hyaluronic acid) ซึ่งเป็นของเหลวที่อยู่ระหว่างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในชั้นผิวหนังระหว่างคอลลาเจนและเส้นใยอีลาสติน กรดไฮยาลูโรนิกเป็นสารที่ชอบน้ำและสามารถคงปริมาณน้ำภายในเซลล์ได้ดีช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้เนื้อเยื่อโดยไปลดการสูญเสียน้ำ ช่วยให้ผิวหนังคงสภาพสมบูรณ์แลดูเต่งตึงและสดใส (Sadick และคณะ, 2009)

จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของสารสกัดหยาบและส่วนสกัดต่างๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้ว และไซคอนันต์เปรียบเทียบกับวิตามินซีที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน (ตารางที่ 4.9 และ 4.10) พบว่าส่วนที่ 3 ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์มีผลการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้สูงกว่าวิตามินซีซึ่งเป็นสารมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือ ส่วนที่ 2 และส่วนที่ 1 จากพันธุ์ไซคอนันต์ โดยให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ในขณะที่สารสกัดหยาบให้ผลการทดลองต่ำที่สุด นอกจากนี้ส่วนที่ 3 จากพันธุ์แก้วให้ผลการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสสูงกว่าวิตามินซีซึ่งเป็นสารมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รองลงมาคือ ส่วนที่ 2 และสารสกัดหยาบและส่วนที่ 1 ตามลำดับ โดยที่ส่วนที่ 1 และสารสกัดหยาบให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

จากผลการทดลองพบว่าส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้ผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสนั้นแตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นกับสายพันธุ์ และส่วนประกอบของสารโพลีฟีนอลที่อยู่ในส่วนต่าง ๆ ที่แยกออกมาได้อย่างไรก็ตาม Girish และ Kemparaju (2005) รายงานว่าสารโพลีฟีนอล เช่น เคอร์เซติน กรดแทนนิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสได้ และยังยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสในสเปิร์มได้อีกด้วย (Garg และคณะ, 2005) Girish และ Kemparaju (2005) ยังได้รายงานเพิ่มอีกว่าสารสกัดจากพืชที่มี เคอร์คูมิน เคอร์เซติน และกรดอาริสโตโลซิก ยังสามารถยับยั้งเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสจากงูได้อีกด้วย จากรายงานข้างต้นเป็นไปได้ว่าในส่วนต่างๆที่แยกได้มีโอกาสที่จะมีสารโพลีฟีนอลที่ได้รายงานนั้นอยู่ด้วยในชนิดและปริมาณที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.9 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วเปรียบเทียบกับวิตามินซี

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบ	41.29±0.63 ^a
ส่วนที่ 1	42.55±0.66 ^a
ส่วนที่ 2	38.97±0.84 ^b
ส่วนที่ 3	32.9±1.05 ^d
วิตามินซี	35.27±0.57 ^c

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสให้ลดลงเหลือร้อยละ 50

ตารางที่ 4.10 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงโชคอนันต์เปรียบเทียบกับวิตามินซี

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบ	38.25±1.64 ^a
ส่วนที่ 1	35.55±0.98 ^b
ส่วนที่ 2	35.67±0.61 ^b
ส่วนที่ 3	29.9±0.37 ^d
วิตามินซี	35.27±0.57 ^c

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาลูโรนิเดสให้ลดลงเหลือร้อยละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (alpha-glucosidase)

โรคเบาหวานเป็นความผิดปกติของร่างกายที่มีการผลิตฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอ ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงหรือต่ำเกินไปจนทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดผิดปกติ โรคเบาหวานชนิดที่ 2 นั้น ร่างกายยังคงมีการสร้างอินซูลินแต่ทำงานไม่เป็นปกติ เนื่องจากภาวะการดื้ออินซูลินทำให้น้ำตาลกลูโคสที่ถูกย่อยสลาย จากอาหารด้วยเอนไซม์อะไมเลสถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดมากเกินไป ในการรักษาจำเป็นจะต้องควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ให้สูงเกินไปโดยการควบคุม อาหารและรับประทานยาเพื่อการลดการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลในเลือดโดยที่เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคสดังนั้นจึงมีความสำคัญต่อผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งต้องการควบคุมอาหารและระดับน้ำตาลในเลือด

จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของสารสกัดหยาบและส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานอาร์คานิโอสผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.11 และ 4.12 จะเห็นได้ว่าสารอาร์คานิโอสสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้สูงสุดรองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงที่แยกได้ส่วนที่ 3 ส่วนที่ 2 ส่วนที่ 1 และสารสกัดหยาบตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าส่วนที่ 3 ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ดีที่สุด แต่ไม่สูงเท่ากับสารอาร์คานิโอส ที่นิยมใช้ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

จากรายงานของ McDougall และคณะ (2005) แสดงให้เห็นว่าสารโพลีฟีนอลจากพืชสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสอีกด้วย ในขณะที่ Reshma และคณะ (2012) รายงานผลการศึกษาศักยภาพในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสจากสารสกัดจากกากงาดำที่เหลือจากการสกัดน้ำมันงาเปรียบเทียบกับ สาร มาตรฐานอาร์คานิโอส ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากกากงาดำที่สกัดด้วยเมธานอลสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงกว่าสารมาตรฐานอาร์คานิโอสโดยที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 375 ± 5 และ 444.30 ± 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าส่วนที่แยกได้โดยผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟีจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์ มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสได้ใกล้เคียงกับสารมาตรฐานอาร์คานิโอส จึงน่าจะมีศักยภาพที่จะนำไปประยุกต์เพื่อใช้รักษาผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ในการช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในกระแสเลือดควบคู่กับการควบคุมการรับประทานอาหารต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วเปรียบเทียบกับอาคาร์โบส

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบ	155.06±1.43 ^a
ส่วนที่ 1	131.41±2.84 ^b
ส่วนที่ 2	119.98±3.21 ^c
ส่วนที่ 3	110.45±2.87 ^d
อาคาร์โบส	104.42±5.55 ^e

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์
แอลฟา-กลูโคซิเดสลดลงเหลือร้อยละ 50

ตารางที่ 4.12 ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์เปรียบเทียบกับอาคาร์โบส

ส่วนของสารสกัดที่แยกได้	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบ	157.46±1.26 ^a
ส่วนที่ 1	133.67±1.29 ^b
ส่วนที่ 2	115.98±0.34 ^c
ส่วนที่ 3	107.56±0.84 ^d
อาคาร์โบส	104.42±5.55 ^e

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
IC 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์
แอลฟา-กลูโคซิเดสลดลงเหลือร้อยละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์ที่นำมาแยกส่วนสกัดโดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีที่ใช้ Sephadex LH20 เป็นวัฏภาคหนึ่งและใช้เมธานอลเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่สามารถแยกส่วนสกัดต่าง ๆ ได้เป็น 3 ส่วนจากมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนที่ 3 ของทั้ง 2 พันธุ์ยังมีปริมาณผลผลิต และปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุดอีกด้วย โดยปริมาณผลผลิตมีความสัมพันธ์โดยแปรผันตรงกับปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

ผลการทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันทั้ง 4 วิธีดังนี้คือ ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และความสามารถในการทำลายอนุมูล ABTS จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงในส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้พบว่าส่วนที่ 3 จากมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันทั้ง 4 วิธีสูงกว่าส่วนอื่น ๆ และสารสกัดหยาบ รองลงมาคือ ส่วนที่ 2 และส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงไซคอนันต์ยังให้สมบัติการต้านออกซิเดชันที่ทดสอบทั้ง 4 วิธีสูงกว่าส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วอีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันมีสัมพันธ์ในลักษณะแปรผันตรงกับปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด

ผลการวิเคราะห์สมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของส่วนสกัดต่างๆ ที่แยกได้ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ เปรียบเทียบกับสารอาร์บูตินพบว่าส่วนที่ 3 จากพันธุ์ไซคอนันต์และพันธุ์แก้วให้ผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุดมีค่า IC_{50} คือ 17.62 ± 0.49 และ 18.13 ± 0.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับโดยสูงกว่าอาร์บูตินซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางซึ่งมีค่า IC_{50} คือ 20.13 ± 0.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ส่วนอื่น ๆ และสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ยังมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานอาร์บูติน

ผลการวิเคราะห์สมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสซินเนส ของส่วนสกัดต่างๆ ที่แยกได้ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ เปรียบเทียบกับสารรูตินพบว่าสารรูตินให้ผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสซินเนสสูงกว่าส่วนต่าง ๆ ที่แยกได้รวมถึงสารสกัดหยาบจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ในขณะที่ส่วนที่ 3 จากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 5-ไลพอกซีจีเนสสูงกว่าส่วนอื่น ๆ ที่แยกได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ผลการวิเคราะห์สมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสของส่วนสกัดต่างๆ ที่แยกได้จากสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์เปรียบเทียบกับวิตามินซีพบว่าส่วนที่ 3 จากเมล็ดในไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะม่วงไซคอนันต์และแก้ว มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไฮยาไลวโรนินเดสสูงที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) มีค่า IC_{50} คือ 32.9 ± 1.05 และ 29.9 ± 0.37 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสูงกว่าวิตามินซีที่ใช้เป็นสารมาตรฐานโดยมีค่า IC_{50} คือ 35.27 ± 0.57 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ผลการวิเคราะห์สมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส ของส่วนสกัดต่างๆ ที่แยกได้ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ เปรียบเทียบกับอาคารโบสพบว่าสารอาคารโบสแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่ส่วนที่ 2 และส่วนที่ 3 ของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ แสดงฤทธิ์การยับยั้งเอ็นไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสสูงกว่าส่วนอื่น ๆ ที่แยกได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นของฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากการแยกส่วนสกัดของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงแก้วและไซคอนันต์โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เด่นชัดขึ้นรวมถึงเพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมควรมีการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารที่อยู่ในแต่ละส่วนที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงควรทดสอบความเป็นพิษ การแพ้ และระคายเคืองต่อผิวหนังก่อนการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพาณิชย์. 2541. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. พิมพ์ครั้งที่ 2.

กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 396 หน้า.

ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม. 2550. ปริมาณกรดฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ ที่ระดับความสูงต่างกัน. งานรายงานการวิจัยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปีงบประมาณ 2550. คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 87 หน้า.

สถาบันคีนันแห่งเอเชีย. 2549. โครงการจัดทำแผนที่เครือข่ายวิสาหกิจ (Cluster Mapping) เพื่อยกระดับความสามารถในการแข่งขันของภาคการผลิตและบริการ. กรุงเทพฯ : หจก. อุดมรัตน์ การพิมพ์และดีไซน์. หน้า 33-35.

โสภา วัชรคุปต์ ปรีชา บุญจุง จันทนา ยุญะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2551. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: นิเวศมิตรการพิมพ์. 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. Egyptian 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.

Akula, U.S., and Odhav, B. 2008. In vitro 5-lipoxygenase inhibition of polyphenolic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

antioxidants from undomesticated plants of South Africa. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2: 207-212.

Alitonou, G.A., Avlessi, F. Sohounhloue, DK., Agnaniet, H., Bessiere, JM. And Menut, C.

2006. Investigation on essential oil of *cymbopogon giganteus* from benin for it 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 curcumine and boswellic acids. *Journal Ethnopharmacol*. 38: 113-119.

Avila MA., Velasco JA., Cansado J. and Notario V.1994. Quercetin mediates the down-regulation of mutant p35 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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
- 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 ona 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 sfrom *Marrubium velutinum* and *Marubium cyllenum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 15: 2708-2714.
- 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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.
- 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.
- 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.
- Maisuthikul, P. 2011. Antioxidant capacity of extract and fractions from mango (*Mangifera indica* Linn.) seed kernels. *International food Research Journal* 18: 520-525.
- Maisuthisakul, P. 2008. Antiradical scavenging activity and polyphenolic compounds extracted from Thai mango seed kernel. *Journal.Food Ag-Ind.* 1: 87-96.
- Maisuthisakul, P. and Gordon, M.H. 2009. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of Mango seed kernel by product. *Food chemistry.* 117: 332-341.
- Maisuthisakul, 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.
- Masibo, M. and He, Q. 2008. Major mango polyphenols and their potential significance to human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 7: 309-319.
- 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.
- Nithitanakool, S., Pithayanukul, P., Bavovada, R. and Saparkorn, 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 derivates 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.
- Ribeiro, 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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.
- 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.
- 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 cultured 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.
- Schmidt, S., Niklova, I., Pokony, J. and Farkas, P. 2003. Antioxidant activity of evening primrose phenolics in sunflower and rapeseed oils. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 105: 427-435.
- 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, R.I., 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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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. 1997. 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.
- 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.

- Yoshimia N., Matsunagaa K., Katayamaa M., Yamadaa Y., Kunoa T., Qiaoa Z., Haraa A., Yamaharab J. and Moria H. 2001. The inhibitory effects of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone, in bowel carcinogenesis of male F344 rats. *Cancer Lett* 163:163–170.
- Zahradnikova, L., Schmidt, S., Sekelyova, Z. and Sekretar, S. 2008. Fractionation and identification of some phenolics extracted from evening primrose seed meal. *Czech J. Food Sci.* 1: 58-64.
- 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.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol content)

สารเคมี

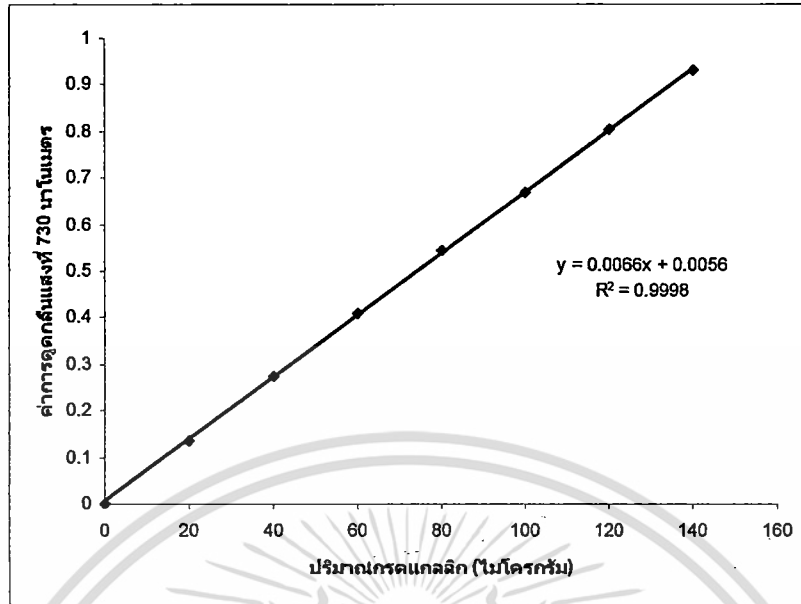
1. Folin-Ciocalteu
2. โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
3. สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

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

การวิเคราะห์ปริมาณปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงวิธีการวิเคราะห์ทำโดยดูดสารสกัดที่เจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมมา 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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดแกลลิก และ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร

การคำนวณ

การคำนวณปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดจากสมการจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

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

เมื่อ

y = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

x = ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมด (ไมโครกรัม/0.5 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

c = จุดตัดแกน y

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดจากตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

ปริมาณสารสกัดตัวอย่างเปลือกมะม่วงเขียวเสวยดิบ 0.5 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร เท่ากับ 0.246

แทนค่าในสูตรจะได้

$$0.246 = 0.0066x+0.0056$$

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

มีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด = 36.424 ไมโครกรัม / 0.5 มิลลิลิตรของสารสกัด

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด = 7284 ไมโครกรัม /100 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร เตรียมได้สารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.1 กรัม ดังนั้นสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 1 กรัมปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด = 72840 ไมโครกรัมกรดแกลลิก / กรัมสารสกัด = 72.84 มิลลิกรัมกรดแกลลิก / กรัมสารสกัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH scavenging activity)

สารเคมี

1. สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตรรวมให้เป็น 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 ปริมาตรด้วยเอทานอลให้ปริมาตรรวมเป็น 50 มิลลิลิตร
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานไทรอลอกซ์ โดยให้ความเข้มข้นโดยรวมในหลอดทดลองเป็น 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเตรียมไทรอลอกซ์ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งไทรอลอกซ์ 0.025 กรัม ปริมาตรด้วยเอทานอล ให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยปิเปตมา 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.12 และ 0.14 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้มีปริมาตรรวมในแต่ละหลอด เป็น 0.2 มิลลิลิตร

3. ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ปริมาตรรวมในหลอดเป็น 5.4

เอกสาร มิลลิลิตรกรสารที่ส่งวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เติมนสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตร
5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ในที่มีด
6. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็น blank
7. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายในหน่วยไมโครกรัม

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

การคำนวณ

คำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างสารสกัด สมมูลโทรลอคท์ 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 มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานโทรลอคท์ดังรูปที่ ข.1 สมการจากกราฟมาตรฐานของโทรลอคท์

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

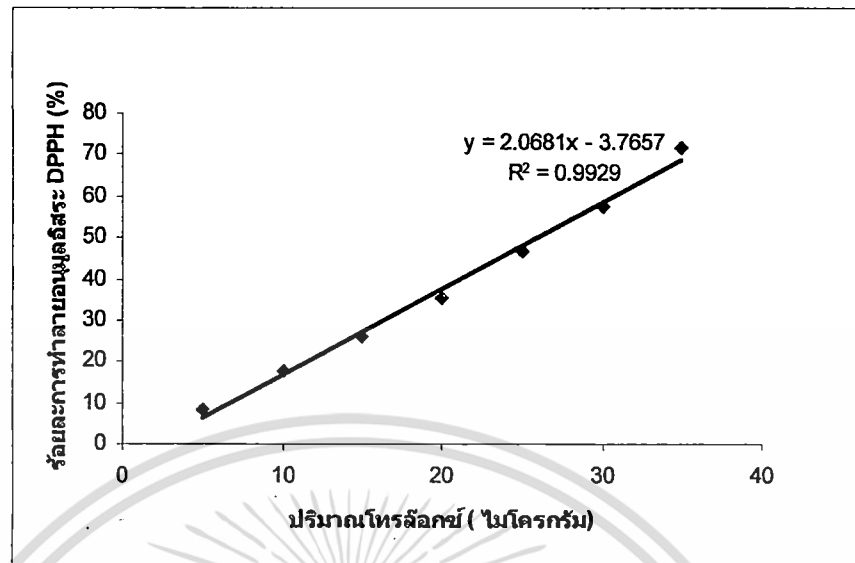
เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

x = ค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (ไมโครกรัม/0.5 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

c = จุดตัดแกน y

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลย์ของโทรลอคท์ต่อกรัมสารสกัด โดยใช้กราฟมาตรฐานของโทรลอคท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.1 กราฟมาตรฐานระหว่างกรดโพลีฟีนอลกับร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

ตัวอย่างการคำนวณ

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

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

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานโพลีฟีนอล

$$50 = 2.0681x - 3.7657$$

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

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 25.9976 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลีฟีนอล / 0.5 มิลลิลิตรของสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 5199.52 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลีฟีนอล / 100 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร มาจากตัวอย่างสารสกัดเมล็ดใน
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 5199.52 ไมโครกรัม
สมมูลย์ของโทรลอคซ์ / กรัมสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH = 51.99 มิลลิกรัมสมมูลย์
ของโทรลอคซ์ / กรัมสารสกัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative potential, FRAP)

สารเคมี

1. อะซิเตต บัฟเฟอร์ (acetate buffer) pH 3.6 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งโซเดียมอะซิเตท ไตรไฮเดรต 3.1 กรัม ผสมกับ กรดแกลเชียมอะซิติก 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 ละลายใน น้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 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 โดยปริมาตรซึ่ง จะต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

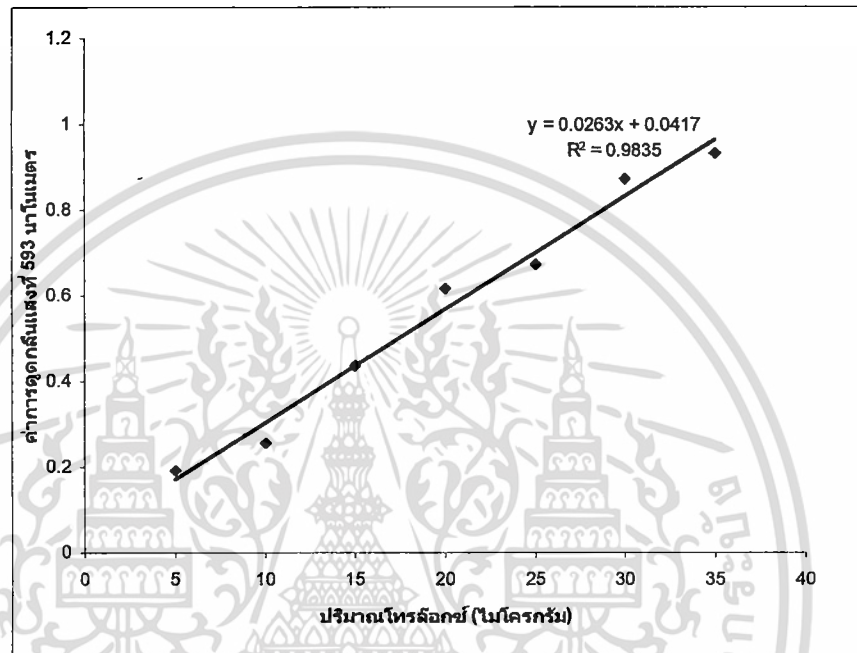
การเตรียมกราฟมาตรฐานโพลลอกซ์

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพลลอกซ์ใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยเตรียมโพลลอกซ์ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยซึ่งโพลลอกซ์ 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. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณโพลลอกซ์ในหน่วยไมโครกรัม

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก ของตัวอย่างสารสกัด

1. ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตรประมาณ 0.1 มิลลิลิตร
 2. เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ยกเว้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และต้องยกย่องเกียรติของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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



รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณทรลอคกซ์กับค่าการดูดกลืนแสง 593 นาโนเมตร การคำนวณ

คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกของตัวอย่างสารสกัด สมมุติทรลอคกซ์ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์มาแทนค่าในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานทรลอคกซ์ ดังรูปที่ ค.1 โดยมีตัวอย่างการคำนวณดังนี้

สมการจากกราฟมาตรฐานของทรลอคกซ์

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

เมื่อ y = ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

x = ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (ไมโครกรัม/ 0.1 มิลลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

c = จุดตัดแกน y

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมุติทรลอคกซ์ต่อกรัมตัวอย่างสด โดยใช้กราฟมาตรฐานทรลอคกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

ตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

ปริมาณสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.08 มิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เท่ากับ 0.500

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานของโพลีฟีนอล

$$0.500 = 0.0263x + 0.0417$$

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

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก = 17.4258 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลีฟีนอล / 0.1 มิลลิลิตรสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก = 17425.8 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลีฟีนอล / 100 มิลลิลิตรสารละลายสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.1 กรัม ดังนั้น

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก = 17425.80 ไมโครกรัมสมมูลย์ของโพลีฟีนอล / กรัมสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก = 174.25 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดโพลีฟีนอล / กรัมสารสกัด

ภาคผนวก ง

ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2 scavenging activity)

สารเคมี

1. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 90 มิลลิโมลาร์ โดยปิเปตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ

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 โดยใช้ อัตราส่วน โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อ ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรตร้อยละ 80

การเตรียมกราฟมาตรฐานไทรลอกซ์

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานไทรลอกซ์ใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, และ 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งไทรลอกซ์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งไทรลอกซ์ 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. ปิเปตน้ำกลั่น ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

3. เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 90 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร

4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

5. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร

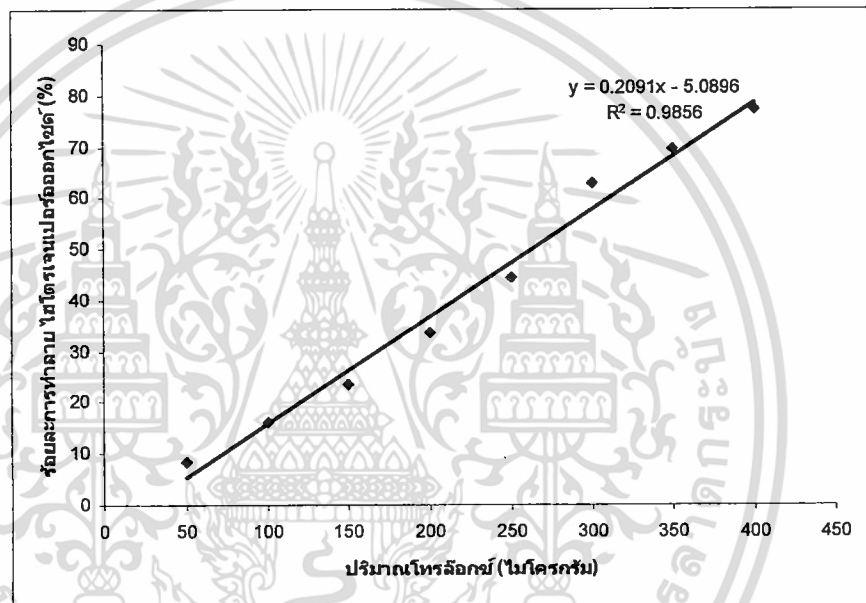
6. สำหรับ blank ให้ใช้ตัวอย่างที่วิเคราะห์ผสมกับ phosphate buffer โดยไม่ต้องมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

7. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังรูปที่ ง.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างสารสกัด

1. ปิเปตตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 2 มิลลิลิตร
2. ปิเปตน้ำกลั่น ปริมาตร 2 มิลลิลิตร
3. เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 90 มิลลิลิตร ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร
4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
5. วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตรสำหรับ blank ให้ใช้ตัวอย่างที่วิเคราะห์ ผสมกับ 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 = ค่าความสามารถในการทำละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ไมโครกรัม/0.1มิลลิลิตร
สารละลายสารสกัด)

c = จุดตัดแกน y

ความสามารถในการทำละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลย์
ของไทโรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด โดยใช้กราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์

ตัวอย่างการคำนวณ

สารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

ปริมาณสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 2 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร เท่ากับ 0.200

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

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์

$$50 = 0.2091x - 5.0896$$

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

สารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงมีความสามารถในการทำละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ =
263.4605 ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 2 มิลลิลิตรของสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ = 13173.0273

ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 100 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณสารสกัดจากเมล็ดใน
มะม่วง 0.1 กรัม ดังนั้น

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ = 131.73 มิลลิกรัม
สมมูลย์กรดไทโรลอกซ์ / กรัมสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ = 12.73 ไมโครกรัมสมมูลย์ของ
ไทโรลอกซ์ / 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

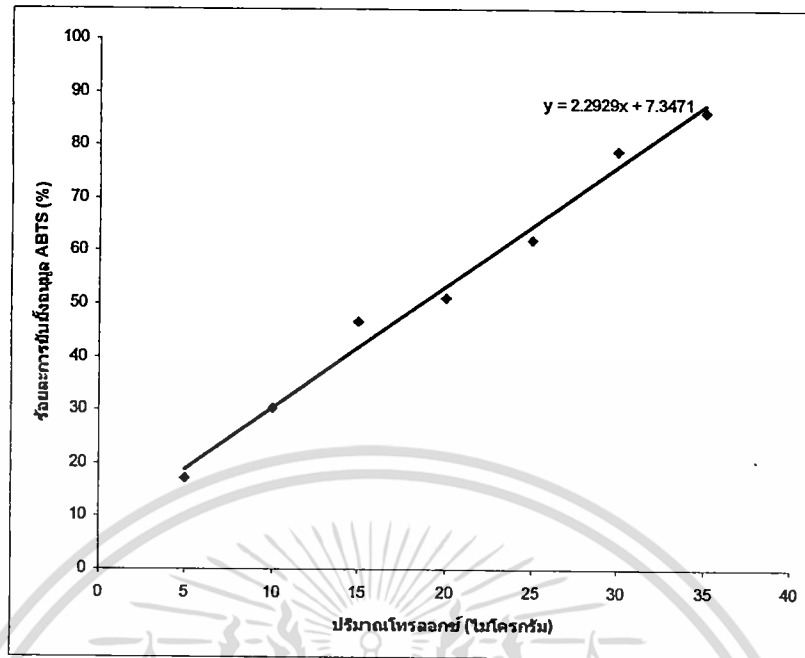
การเตรียมกราฟมาตรฐานไทโรลอกซ์

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.1 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS

การคำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูล ABTS

คำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ตัวอย่างสารสกัด คำนวณเป็นสมมูลย์คลอโรฟิลล์ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์มาแทนค่าในการคำนวณหาร้อยละความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS ของตัวอย่างสารสกัดโดยแทนค่าในสมการดังนี้

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

แล้วนำค่าที่ได้จากการคำนวณมาแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานคลอโรฟิลล์ ดัง

รูปที่ 1.1

เมื่อ $y =$ ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

$x =$ ค่าความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS (ไมโครกรัม/0.6 มิลลิลิตร

สารละลายสารสกัด)

$c =$ จุดตัดแกน y

ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS จะรายงานในหน่วยของมิลลิกรัมสมมูลย์ของคลอโรฟิลล์ต่อกรัมสารสกัด โดยใช้กราฟมาตรฐานของคลอโรฟิลล์

ตัวอย่างการคำนวณ

สารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.6 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เท่ากับ 0.200

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

$$= 50 \%$$

แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์

$$50 = 2.2929x - 7.3471$$

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

ตัวอย่าง

สารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วงมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS = 25.01

ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 0.6 มิลลิลิตรของสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS = 4168.333

ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 100 มิลลิลิตรของสารสกัด

ในสารละลายสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 100 มิลลิลิตร มีปริมาณสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง 0.1 กรัม ดังนั้น

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS = 41.68 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดไทโรลอกซ์ / กรัมสารสกัด

สารสกัดตัวอย่างมีความสามารถทำลายอนุมูลอิสระ ABTS = 41.68 ไมโครกรัมสมมูลย์ของไทโรลอกซ์ / 1 กรัมตัวอย่าง

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย (ปรับได้ตามความเหมาะสม)

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล นาย ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph.D. (Food Science)	University of Wisconsin-Madison สหรัฐอเมริกา	2543
วท.ม. (เทคโนโลยีการอาหาร)	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2534
วท.บ. (เคมี)	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	2531

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา).....

Food chemistry, Food Enzymology, Functional food and Nutraceutical.....

ทุนวิจัยที่เคยได้รับ

1. สมบัติการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดส้มสายพันธุ์ต่างๆ (ทุนเงินรายได้ ปี 2545)
2. สมบัติการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ด ส้มเขียวหวาน (ทุนงบประมาณปี 2547)
3. โยอาหารด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากผลไม้และวัสดุเหลือทิ้งจากผลไม้ (ทุนงบประมาณปี 2548)
4. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของกล้วยน้ำว้า และผลิตภัณฑ์ (ทุนงบประมาณปี 2549)
5. ปริมาณกรดฟีนอลิกสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ ที่ระดับความสุกต่างกัน(ทุนงบประมาณปี 2550)
6. สมบัติการด้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงและผลของน้ำตาลชนิดต่างๆต่อประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์กุนเชียงและ หมูแผ่น (ทุนงบประมาณปี 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การใช้พืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ในการเพิ่มมูลค่าเชิงพาณิชย์และคุณค่าเชิงสุขภาพของน้ำส้มสายชูกลั่น (ทุน สกว.-สสว. ปีงบประมาณ 2551)
8. การตรวจหาอะคริลาไมด์ในตัวอย่างอาหารไทยที่ใช้วัตถุดิบที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตสูงและผ่านกระบวนการแปรรูปโดยวิธีการทอด (ทุนงบประมาณปี 2552)
9. ผลของการเตรียมขั้นต้นและการทอดภายใต้สภาวะสุญญากาศต่อคุณภาพหลักทางเคมีกายภาพและโภชนาการของกล้วยทอดกรอบแผ่นบาง (ทุนงบประมาณปี 2553)
10. การเสริมกรดโฟลิกในผลิตภัณฑ์ขนมจีน (ทุนงบประมาณปี 2554)
11. การประเมินสมบัติการต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง (ทุนเงินรายได้ปี 2555)

ผลงานเผยแพร่ในวารสารระดับชาติ

1. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม และวันทิพย์ ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในประเทศไทย. อาหาร. 32(4): 300-307.
2. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2546. ผลของกรรมวิธีแปรรูปต่อการสูญเสียปริมาณไลโคปีนในมะเขือเทศ. อาหาร. 33(2): 111-117.
3. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2546. ผลของอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และเกลือสังกะสีคลอไรด์ต่อความคงตัวของสีเขียวของสารสกัดใบเตย. อาหาร. 33(4): 277-282.
4. เขียวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ และ ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2550. การใช้สารสกัดจากเมล็ดส้มเขียวหวานเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์หมูแผ่นและกุนเชียงดิบ. อาหาร. 37(1): 73-81.
5. รุจิรา ตาปราบ, จันทร์เพ็ญ มะลิพันธ์ และ ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2551. สมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากขิงและผลิตภัณฑ์ขิงในระหว่างกระบวนการแปรรูป. อาหาร. 38(1): 74-84.
6. วรธนมณฑน์ ชาญจารุจิตร, ตะวัน แสงสว่าง, กริฎญา แกะประจักษ์ และประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2551. การศึกษาลักษณะเฉพาะของใยอาหารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากเปลือกมะม่วงและผลต่อคุณภาพของขนมปัง. อาหาร. 38(3): 241-253.
7. ศิริวรรณ จำแนกสาร และ ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2552. ผลของระดับความสุกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือกและเนื้อกล้วยหอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่และกลั้วไข.วารสารอุตสาหกรรมเกษตรพะจอมเกล้า. 1(1): 49-60. ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ขวัญฤทัย บุษผาราม, ปวินท์ ตันติวรมาตย์, พูลทรัพย์ บุญยงกุล, ทนาวุฒิ ปริญาพัฒน์บุตร และ ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2554. การพัฒนาเครื่องต้มเพื่อสุขภาพจากน้ำส้มสายชูกลั่นแช่ชาเขียว ผสมเกลือหิวย. วารสารอุตสาหกรรมเกษตรพระจอมเกล้า. 3(2): 37-52.

ผลงานเผยแพร่ในวารสารระดับนานาชาติ

1. Pinsiroadom, P. and Parkin, K.L. 1999. Fatty acid and product selectivities of potato tuber lipid acyl hydrolase in esterification reactions with glycerol in organic media. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 76: 1119-1125.
2. Pinsiroadom, P. and Parkin, K.L. 2000. Selectivity of celiteimmobilized patatin (lipid acyl hydrolase) from potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers in esterification reactions as influenced by water activity and glycerol analogues as alcohol acceptors. *J. Agri. Food Chem.* 48: 155-160.
3. Anderson, C., Pinsiroadom, 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.
4. Pinsiroadom, P.; Watanabe, Y.; Nagao, T.; Sugihara, A.; Kobayashi, T. and Shimada, 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.
5. 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.
6. 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.
7. Pinsiroadom, P., Rungcharoen, J., Liumminful, A. 2008. Quality of commercial wine vinegars evaluated on the basis of total polyphenol content and antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. Parinyapatthanaboot, T., Pinsirotom, 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.

ผลงานเผยแพร่ในที่ประชุมวิชาการระดับชาติ

1. เกียรติศักดิ์ ภูษิต และ ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2548. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโยอาหารด้านปฏิกริยาออกซิเดชันจากเปลือกมะม่วง. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 7: เทคโนโลยีอาหารก้าวไกลนำไทยสู่ครัวโลก. วันที่ 22-24 มิถุนายน ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร. 9 หน้า.
2. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม, ทิพนตร ปริณามโอสถ และกรวิทย์ พงษ์ประเสริฐ. 2548. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของถั่วเขียวและถั่วเหลืองในระหว่างการงอก. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 7: เทคโนโลยีอาหารก้าวไกลนำไทยสู่ครัวโลก. วันที่ 22-24 มิถุนายน ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร. 9 หน้า.
3. นภาพลัช ยอดพรหม, ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม และ อติศร เสวตวิวัฒน์. 2549. สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียแลคติก. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 8: นวัตกรรมทางอาหาร. วันที่ 15-16 มิถุนายน ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร. 7 หน้า.
4. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2549. ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวขัดขาว ข้าวกล้อง และข้าวที่มีสีเข้ม. การประชุมสัมมนาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตรครั้งที่ 8: นวัตกรรมทางอาหาร. วันที่ 15-16 มิถุนายน ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร. 7 หน้า.
5. ภัทริยา ยิ่งเลิศรัตนะกุล, นันทยา จงใจเทศ, นภาพรรณ วิริยะอุตสาหกรรม และประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม. 2556. ขนมะจีนเสริมโฟเลตจากใบโหระพา. การประชุมวิชาการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ครั้งที่ 6 พ.ศ. 2556. วันที่ 4-6 กันยายน ณ ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุมอิมแพคเมืองทองธานี จังหวัดนนทบุรี.

ผลงานเผยแพร่ในที่ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. Pinsirotom, P. and Parkin, K.L. 2000. Unique properties of potato tuber lipid acyl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- hydrolase (patatin) in ester synthesis reaction. Oral presentation at the JOCS-AOCS World Congress, 22-27 October, Kyoto International Exhibition Hall, Kyoto, Japan.
2. Pinsiroadom, 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 Integration of Science & Technology for Sustainable Develoipment. 25-26 August, Bangkok, Thailand. Vol. 2. 349-351.
 3. Angsujinda, S., Swetwiwathana, A., Surapunpisid, Y. and Pinsiroadom, P. 2005. Antimicrobial effect of Roselle (*Hibicus 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.
 4. Pinsiroadom, P., Akkarapolkul, M., Suksawad, S. 2007. Assays of Fibrinolytic enayme activity in Thai traditional fermented foods. International Conference on Integration of Science & Technoloty for Sustainable Development, 26-27 April, Bangkok, Thailand. 166-169.
 5. Parinyapatthanaboot, T., Pinsiroadom, 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.
 6. Parinyapatthanaboot, T., Pinsiroadom, 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.
 7. Parinyapatthanaboot, T., Pinsiroadom, 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.

8. Parinyapatthanaboot, T., Pinsirotom, P., 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.
9. Parinyapatthanaboot, T., Pinsirotom, P. 2011. *In vitro* scavenging ability of roselle anthocyanin extract against reactive nitrogen species and its potential use for nitrite reduction in meat products. 1st International Conference on Food Factors (ICoFF), 20th-23th November, Taipei International Convention Center, Taipei, Taiwan.
10. Munesritraram, R., Parinyapatthanaboot, T., Pinsirotom, P. 2012. Effect of processing methods and storage conditions on the total phenolic content and antiradical properties of dehydrated banana. *Food Innovation Asia Conference 2012: Green and sustainable food technology for all*, 14-15 June, BITEC Bangna, Bangkok, Thailand.
11. Munesritraram, R., Parinyapatthanaboot, T., Pinsirotom, P. 2012. Changes of total polyphenol content and antioxidant activity of banana chips during processing and storage. *Food Innovation Asia Conference 2012: Green and sustainable food technology for all*, 14-15 June, BITEC Bangna, Bangkok, Thailand.
12. Maneechai, T., Pinsirotom, P. 2013. Optimisation of sucrose hydrolysis in sugarcane juice by invertase for the production of fructose syrup with high antioxidant activity. *The 13th ASEAN Food Conference*, 9-11 September, MAX ATRIA Singapore EXPO, Singapore.

ผลงานเผยแพร่ในลักษณะอื่น ๆ

1. Pinsirotom, P. and Parkin, K.L. 2001. Lipolytic enzymes: Lipase assays. *In Current protocols in food analytical chemistry*. (Wrolstad, R.E., Acree, T.E., An, H., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Sporns, P. eds.). New York: John Wiley & Sons, Inc. C3.1.1-C3.1.13.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้