

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ
และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

(Total polyphenol contents and antioxidant properties of peel, pulp and kernel of mango

(*Mangifera indica* L. cv. Fah Lan))



โดย

นางสาวปรารงค์ทิพย์

ไชยสรณะ

รหัสนักศึกษา 47040161

นายพรินิตร์

พันธุ์สุวรรณ

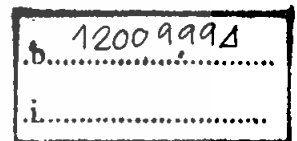
รหัสนักศึกษา 47041107

๒พ.
๒/๑๑๒๒
๒๕๕๐

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 85430

วัน,เดือน,ปี... 1.1. พ.ศ. 2551



รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2550



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยา

ออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

(Total polyphenol contents and antioxidant properties of peel, pulp and kernel of mango (*Mangifera indica* L. cv. Fah Lan))

จัดทำโดย

นางสาวปรารักษ์ทิพย์

ไชยสรณะ

รหัสประจำตัว 47040161

นายพชรนิตร

พันธุ์สุวรรณ

รหัสประจำตัว 47041107

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

(ผศ. ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม)

24 / 03 / 2551

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

นางสาวปรารถน์ทิพย์ ไชยสรณะ และ นายพินิตร์ พันธุ์สุวรรณ : ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น (Total polyphenol contents and antioxidant properties of peel, pulp and kernel of mango (*Mangifera indica* L. cv. Fah Lan))

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม

บทคัดย่อ

ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น โดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มมะม่วงดิบ และกลุ่มมะม่วงสุก พบว่าเปลือกมะม่วงมีค่าความสว่าง ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อสุก เนื้อมะม่วงมีค่าความสว่างลดลง ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อสุก ค่าความเป็นกรดต่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในเนื้อมะม่วงสุก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณความเป็นกรดทั้งหมดที่มีแนวโน้มลดลง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในเนื้อมะม่วงสุก ส่วนปริมาณความชื้นนั้นพบว่า เนื้อมะม่วงสุกเปลือกและเนื้อของมะม่วงมีปริมาณความชื้นลดลง ในขณะที่เมล็ดมะม่วงมีความชื้นเพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก พบว่า เมล็ดในของมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นทั้งสองระดับความสุกมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สูงที่สุดด้วย รองลงมาคือ เปลือก และเนื้อตามลำดับ โดยในเปลือก เนื้อ และเมล็ดของมะม่วงฟ้าลั่นดิบจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีปริมาณสูงกว่าในเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นสุก ในขณะที่ในเปลือก เนื้อ และเมล็ดของมะม่วงสุกมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกได้ดี

ปรารถน์ทิพย์ ไชยสรณะ

พินิตร์ พันธุ์สุวรรณ

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา

วัน/เดือน/ปี

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่อง ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ทั้งนี้ทางคณะผู้จัดทำต้องขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม เป็นอย่างยิ่ง ที่ให้คำปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ และได้สละเวลาอันมีค่าเพื่อให้คำแนะนำในการค้นคว้าหาข้อมูล การจัดทำและเรียบเรียงข้อมูล ทั้งยังให้ช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆจนทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้โดยสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้เสร็จสิ้น ทั้งคุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยให้กำลังใจ กำลังทรัพย์และอื่นๆ ขอขอบคุณพี่ ๆ นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ที่คอยดูแลในการใช้ห้องปฏิบัติการ ตลอดจนบุคคลต่าง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ ทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

นางสาวปรารงค์ทิพย์ ไชยสรณะ

นายพริณิตร พันธุ์สุวรรณ

21 มีนาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์	
บทที่ 2 วารสารปริทรรศน์	2
ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะม่วง	2
ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับอนุมูลอิสระ (free radical)	4
สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant)	5
ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลิก	6
สมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก	7
ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน	8
สารที่มีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พบในมะม่วง	9
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	20
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	33
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก ก	37
ภาคผนวก ข	38
ภาคผนวก ค	41
ภาคผนวก ง	42
ภาคผนวก จ	45
ภาคผนวก ฉ	46

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ข	50
ภาคผนวก ซ	63
ประวัติผู้เขียน	68



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	13
4.1	21
4.2	22
4.3	23
4.4	25
4.5	27
4.6	29
ก.1	37
ข.1	40
ค.1	41
ง.1	44
ฉ.1	46
ฉ.2	48
ฉ.3	48
ช.1	50
ช.2	52
ช.3	54

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ช.4 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเปลือกมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	56
ช.5 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	57
ช.6 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	59
ช.7 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	60
ช.8 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	61
ช.1 การเตรียมหลอดทดลองสำหรับกราฟมาตรฐานของ ไทรอกซ์	64
ช.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐาน ไทรอกซ์	65
ช.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น	66

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของแซนโทน	10
2.2 โครงสร้างของแมนจิเฟอร์ริน	10
2.3 โครงสร้างของสารในกลุ่มของฟลาโวนอลบางชนิด	11
2.4 โครงสร้างของสารในกลุ่มของแคโรทีนอยด์บางชนิด	12
2.5 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานินมีชื่อเรียกว่า flavylium cation	13
2.6 โครงสร้างของวิตามินอี	14
2.7 โครงสร้างของวิตามินซี	14
3.1 มะม่วงฟ้าลั่นที่ใช้ในการทดลอง	16
4.1 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น	24
4.2 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป 1/EC ₅₀ ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น	26
4.3 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น	28
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป 1/EC ₅₀ ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น	30
4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น	31
4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป 1/EC ₅₀ และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น	32
ง.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	43
ฉ.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร	47

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ช.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย DPPH และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	51
ช.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเปลือกมะม่วงฟ้าล้นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	54
ช.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเปลือกมะม่วงฟ้าล้นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	56
ช.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเนื้อมะม่วงฟ้าล้นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	58
ช.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเนื้อมะม่วงฟ้าล้นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	59
ช.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเมล็ดในของมะม่วงฟ้าล้นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	60
ช.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเมล็ดในของมะม่วงฟ้าล้นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH	62
ช.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไทรอกซ์และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร	64

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันสารสำคัญต่างๆที่อยู่ในผักและผลไม้ได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากสารเหล่านั้นมีบทบาทสำคัญในการช่วยป้องกันการเกิดโรคร้ายไข้เจ็บต่างๆได้ สารชีวกิจกรรม (bioactive compounds) หลายชนิดในผักและผลไม้มีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสามารถยับยั้งหรือทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์ อนุมูลอิสระดังกล่าวเป็นสาเหตุของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในโมเลกุลของสารชีวเคมีต่างๆในเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน กรดนิวคลีอิก เป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุเบื้องต้นที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง, โรคหัวใจ, โรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด และโรคไขข้ออักเสบ เป็นต้น ดังนั้นการบริโภคผักและผลไม้เป็นประจำจึงช่วยป้องกันโรคต่างๆได้ (Ajila และคณะ, 2007a)

มะม่วงเป็นผลไม้เมืองร้อนชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากมะม่วงเป็นผลไม้ที่มีในทุกฤดูกาลจึงทำให้ได้รับความนิยมทั้งบริโภคสด และนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น เนื้อมะม่วงบด (mango puree) น้ำมะม่วง มะม่วงดอง มะม่วงแช่อิ่ม มะม่วงบรรจุกระป๋อง มะม่วงกวน เป็นต้น มะม่วงสามารถจำแนกออกได้เป็น 8 กลุ่ม คือ กลุ่มแก้ว กลุ่มเขียวเสวย กลุ่มน้ำดอกไม้ กลุ่มหนังกกลางวัน กลุ่มมอกร่อง กลุ่มพราหมณ์ กลุ่มผลกลม และกลุ่มเบ็ดเตล็ด (เกียรติเกษตร, 2547) มะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นเป็นมะม่วงมันที่นิยมรับประทานเมื่อผลยังดิบ ซึ่งจัดอยู่ในมะม่วงกลุ่มเขียวเสวย มะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นนั้นถือว่าเป็นมะม่วงที่ได้รับความนิยมปลูกอยู่ใน 10 อันดับแรก และยังมีข้อมูลเกี่ยวกับสารชีวกิจกรรมและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันค่อนข้างน้อย โดยทั่วไปมะม่วงประกอบด้วยสารชีวกิจกรรมต่างๆ เช่น สารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ แอนโทไซยานิน วิตามิน และเส้นใยอาหาร เป็นต้น ซึ่งสารประกอบดังกล่าวมีสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี (Ajila และคณะ, 2007b) ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้จึงสนใจที่จะศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นที่ระดับความสุกต่างกัน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในส่วนของเปลือก เนื้อ และเมล็ดของมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นดิบและสุก
2. เพื่อศึกษาสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดของมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นดิบและสุก

บทที่ 2

วารสารปริทรรศน์

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมะม่วง

ชื่อพฤกษศาสตร์ของมะม่วงคือ *Mangifera indica* L. วงศ์ ANACARDIACEAE ชื่อพื้นเมือง ไทยเรียก มะม่วง อังกฤษเรียก แมงโก้ (MANGO) อินโดนีเซียเรียก แมงก่า แมงโก และ ปาโฮ พม่าเรียก Thryetthi เขมรเรียกสวาย เวียดนามเรียก เสวย (ไพโรจน์, 2545)

2.1.1 แหล่งกำเนิดและการกระจาย

ไม้พวกมะม่วงมีหลายชนิด (species) ที่ปลูกกินปลูกขายอยู่ทั่วโลกในทุกวันนี้มีเพียงชนิดเดียว คือ Indica หรือมะม่วง แหล่งกำเนิดของมะม่วงนั้นมีความเห็นที่แตกต่างกันไป แต่ส่วนมากสรุปว่าอยู่ใน Indo-Burma อันเป็นเขตก่อนข้างอบอุ่น บริเวณที่กล่าวนี้น่าจะได้แก่บังคลาเทศ อัสมัม พม่า และตอนเหนือของชาวไทย ไปจรดเวียดนามตอนเหนือ อินเดียปลูกมะม่วงมานานกว่า 3,000 ปี ครั้งพุทธการมีการกล่าวถึงสวนมะม่วงบ่อยครั้ง ดินแดนที่เป็นประเทศไทยก็น่าจะมีการปลูกมานับพันปีเช่นกัน แต่หลักฐานชัดเจนที่กล่าวถึงมะม่วงในเมืองไทยย้อนหลังไปได้เพียงยุคสุโขทัยเป็นราชธานี โดยมีหลักฐานเชื่อได้ว่าพ่อขุนรามคำแหงมหาราชปฐมกษัตริย์ไทยทรงเป็นเจ้าของมะม่วงแห่งแรกของไทย

นอกเหนือจากกล้วยแล้ว มะม่วงเป็นผลไม้ที่นิยมปลูกกันมากที่สุดตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันเมื่อเทียบกับผลไม้ชนิดอื่นๆ ในประเทศไทยจังหวัดที่ปลูกมากที่สุด 3 จังหวัดแรกได้แก่ นครราชสีมา ฉะเชิงเทรา และชัยภูมิ (ไพโรจน์, 2545)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ใหญ่ ไม่ผลัดใบ อายุยืน ต้นสูงได้ถึง 45 เมตร ลำต้นตรงแตกพุ่มในสภาพปลูก เส้นผ่าศูนย์กลางวัดได้ถึง 120 ซม. เปลือกต้นสีเทาปนน้ำตาล ใบเดี่ยวเวียนสลับแตกออกเป็นชูด ใบอ่อนปกดสีเขียวแล้วจะค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม ก้านใบยาวได้ถึง 10 ซม. โคนก้านใบป้องกันใบมีขนาดและรูปร่างต่างกัน แต่ส่วนมากจะเรียวกแคบถึงรูปใบหอก ขอบใบมักเป็นคลื่น ปลายเรียวกแหลม เส้นใบขนานทั้ง 2 ด้าน ช่อดอก ออกที่ปลายเป็นแบบช่อแยกแขนง แตกกอกมากมายวัดความยาวได้ถึง 50 – 60 ซม. ดอก หนาแน่นมีขนอ่อนทั่วไป มีทั้งดอกเพศผู้และดอกกระเทยในช่อเดียวกัน แต่มักจะอยู่คนละส่วนในช่อ เช่น ในมะม่วงพันธุ์อรุณ ดอกเพศเมียมีน้อยที่บริเวณโคนช่อ มีมากขึ้นบริเวณกลางช่อ และมากที่สุดที่บริเวณปลายช่อ ขณะที่ดอกเพศผู้มีมากที่โคนและน้อยที่สุดบริเวณปลายช่อ ดอกก่อนบานสีเขียว-ขาวและน้ำตาล ดอกเพศผู้มีเกสรเพศผู้ 4-5 ก้าน เกสรเพศเมียเป็นหมัน โดยปกติมีเพียง 1 ก้านเท่านั้นที่แข็งแรง ส่วนในดอกสมบูรณ์เพศหรือดอกเพศเมียจะ

เห็นรังไข่ชัดเจน มีเกสรเพศผู้เพียง 1-2 ก้านเท่านั้น ผล เป็นพวกเนื้อหุ้มเมล็ดแข็ง รูปร่าง ขนาด สี มี มาก ขึ้นอยู่กับอยู่ในกลุ่มใด มะม่วงในกลุ่มอินเดีย (Indian type) ลูกมักจะกลม สัน สีสวยมีทั้ง เหลืองและแดง เป็นพวกมีต้นอ่อนต้นเดียวในเมล็ด (Mono-embryonic) ส่วนที่อยู่ใน กลุ่มอินโดจีน (Indochinatype) ลูกยาว สีไม่ใคร่สวย ส่วนมากเป็นสีเหลือง และเป็นพวกมีต้นอ่อน หลายต้นในเมล็ด (Poly-embryonic)

มะม่วงใช้รับประทานผลเป็นหลักใน 3 ลักษณะ คือ ผลดิบนิยมกันมากในเมืองไทย ผลสุก นิยมกันทั่วโลก และเนื้อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น มะม่วงดอง มะม่วงแผ่น บรรจุ ครอบเป็นน้ำมะม่วง มะม่วงผสมน้ำหวาน ฯลฯ ช่วงที่มะนาวแพงมีการใช้รสเปรี้ยวของมะม่วง แทนมะนาว เนื้อในเมล็ดนำมาแปรรูปได้ และยังใช้เลี้ยงวัวเลี้ยง ไก่ได้อีกด้วย ในอินเดียเนื้อในเมล็ด ใช้เป็นอาหารในยามเกิดอุทกภัยได้ดี แต่ต้องขจัดรสฝาดรสเฝื่อนออกก่อนด้วยการต้มหรือเผา ใบอ่อนใช้รับประทานสดหรือปรุงอาหารแทนผัก ดอกแห้งเปลือกลำต้นหรือของเหลวที่คั้นออกจาก เมล็ดในใช้เป็นยาพื้นบ้านเนื้อไม้ใช้สร้างบ้าน แต่ก่อนจะใช้ควม ใช้สารทาป้องกันการเข้าทำลายของ พวกปลวก พวกมอด เฝายเป็นถ่าน คุณภาพดีพอใช้ เปลือกต้นหลังบึ่งไฟแล้วนำมาต้ม ใช้ต้มแก้ อุจจาระเป็นมูกเลือด (ไพโรจน์, 2545)

2.1.3 มะม่วงฟ้าลั่น

เป็นมะม่วงมันนิยมรับประทานผลดิบ ติดผลง่าย ผลค่อนข้างดก เมื่อแก่จัดเนื้อเปราะ ามาก จะแตกทันทีเมื่อถูกคมมีด และเสียงดังลั่น จึงกลายเป็นลักษณะเด่นประจำพันธุ์ไป ต้นเป็นพุ่ม ปานกลาง ใบเรียวยาวปลายใบแหลม รูปใบหอกแกมรีลักษณะคล้ายใบมะม่วง “เขียวเสวย” แต่สั้น กว่าและบางกว่า มีขนาดค่อนข้างเล็กถึงโตปานกลาง น้ำหนักผลประมาณ 250 กรัม รูปทรงขอบ ขนานแกมรี หัวโต ปลายแหลม ด้านหลังผลและท้องผลโค้งนูน ผลแก่จัดผิวยังมีสีเขียวอ่อน เปลือก หนา วัดได้ 0.13 ซม. ผิวเรียบ ผิวแก่จัดสีเขียวอ่อน เมื่อสุกผลสีเขียวอมเหลือง เนื้อผลดิบรสชาติมัน อมเปรี้ยว ผลแก่จัดเนื้อสีขาวอมเหลือง มันกรอบค่อนข้างซัด ผลสุกรสหวานไม่จัดนัก วัดได้ 23 องศาบริกซ์ มีเสี้ยนน้อย เมล็ดลีบ แผลมเล็ก ต้นอายุ 9-10 ปี ให้ผลผลิตประมาณ 400-500 ผล/ต้น อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 95 วันหลังดอกบาน จุดค้อยของพันธุ์นี้คือ ผลมักจะแตกง่าย (ธวัชชัย และ ศิ วาพร, 2542)

2.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับอนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง กลุ่มของสารที่มีอิเล็กตรอนวงนอกที่ยังไม่ได้จับคู่ มากกว่าหรือเท่ากับหนึ่งอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงมีความว่องไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับ สารชีวโมเลกุลของออกซิเจนไปยังโมเลกุลของน้ำ เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า อนุพันธ์ของออกซิเจนที่ไว ต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species, ROS) ซึ่งสารกลุ่มนี้ ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide anion, O_2^-) ไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, HO^\cdot) อนุพันธ์ของออกซิเจนบางตัว ได้แก่ ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ไฮโปคลอไรต์ ($HOCl$) นอกจากนี้ยังมีกลุ่มของสารอนุพันธ์ของไนโตรเจน บางตัวที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive nitrogen species, (RNS) ที่สำคัญ ได้แก่ เปอร์ออกซิไนเตรต ($OONO^\cdot$) ไนตริกออกไซด์ (NO^\cdot) ทั้งนี้ทั้งกลุ่มของอนุพันธ์ของออกซิเจนว่องไวและกลุ่มของ อนุพันธ์ไนโตรเจนว่องไวเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย (วัลยา และ พัชรี, 2542)

อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาจากทั้งกระบวนการ metabolism ของร่างกายเอง และในภาวะ ผิดปกติ เช่น เป็นโรคบางชนิด การติดเชื้อทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส สิ่งแวดล้อมที่เป็นพิษ เช่น คาร์บอนหรือรังสี

โดยปกติในร่างกายจะมีระบบควบคุมหรือป้องกันอนุมูลอิสระ เรียกว่า ระบบแอนติออกซิ เดนต์ (antioxidant defense system) ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ (อัญชญา, 2546)

1. กลุ่มของเอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์คะตาเลส (catalase), ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) และกลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) เป็นต้น
2. กลุ่มของสารและโปรตีนบางชนิด ได้แก่ กลูตาไธโอน (glutathione), ยูเรต (urate), ยูบิควินอล (ubiquinol), อัลบูมิน (albumin) และทรานส์เฟอริน (transferrin) เป็นต้น
3. กลุ่มของสารอาหารบางชนิด ได้แก่ วิตามินม เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) และ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นต้น

อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่อนุมูลอิสระมีมากเกินไปที่ระบบแอนติออกซิเดนต์จะจัดการ ได้ จะเกิดสภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลต่างๆต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต ซึ่ง สภาวะออกซิเดทีฟสเตรส (oxidative stress) ก็คือ สภาวะที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมและป้องกัน ปริมาณของอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ โดยอนุมูลอิสระที่มี ปริมาณเพิ่มมากขึ้นสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆภายในร่างกาย เช่น การเกิด ออกซิเดชันของไขมัน, คาร์โบไฮเดรต, โปรตีน และกรดนิวคลีอิก การสร้างพันธะโควาเลนต์กับ โปรตีน เป็นผลทำให้เกิด inactivation ของโปรตีน เป็นต้น และพบว่าอนุมูลอิสระก่อให้เกิดสภาวะ ทางพยาธิสภาพในโรคสำคัญบางโรค ได้แก่ มะเร็ง, โรคหัวใจ, ไขมันอุดตันในเส้นเลือด, ไชข้อ อักเสบ, ต้อกระจก เป็นต้น (วัลยา และ พัชรี, 2542; พรทิพย์, 2546)

2.3 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หมายถึง สารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งจะไปยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (วัลยาและพัชรี, 2542)

สารต้านออกซิเดชันที่พบในธรรมชาติมี 4 ประเภท ได้แก่

1. เอนไซม์ที่สร้างได้ในเซลล์ร่างกาย ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) คาตาเลส (catalase) กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) และเมทไทโอนรีดักเตส (methionine reductase)
2. วิตามินต้านออกซิเดชัน ได้แก่ วิตามินอีในถั่วรำข้าวกล้องงา และวิตามินซีในผักผลไม้สด
3. แร่ธาตุ เช่น ซีเลเนียม และสังกะสี เป็น Co factor ของเอนไซม์ต้านออกซิเดชัน
4. สารพฤกษเคมี เป็นสารเคมีจากพืชที่ไม่ใช่วิตามินและสารอาหาร เช่น แคโรทีน ไลโคพีน เซนโทฟิลล์ และฟลาโวนอยด์ เป็นต้น

กลไกการทำงานของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีหลายแบบ เช่น การขนย้ายออกซิเจนออกไป และยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมีบทบาทสำคัญในการป้องกันภาวะออกซิเดทีฟ การที่สารต้านออกซิเดชันให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระมีอิเล็กตรอนครบคู่และอยู่ในสภาวะที่เสถียรไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมี นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าพบ สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในรูปของวิตามิน เช่น เบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี ซึ่งวิตามินเหล่านี้จะพบมากในผักและผลไม้หลายชนิด ผู้ที่บริโภคผักและผลไม้ที่มีวิตามินเหล่านี้ก็จะทำให้มีปริมาณของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในร่างกายเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างยิ่งในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ (free radicals) (อธิกา, 2543)

2.4 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารพฤกษเคมีกลุ่มใหญ่ที่พบในพืชทั่วไป และเป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบฟีนอลิกในพืชแต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันออกไป ในปัจจุบันพบว่ามีการพบสารประกอบฟีนอลิกที่พบโครงสร้างแน่นอนแล้วมากกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น แทนนิน (tannins) ในธรรมชาติจะพบสารประกอบฟีนอลิกในรูปที่มีโมเลกุลของน้ำตาลจับอยู่เรียกว่า กลัยโคไซด์ (glycosides) โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิกจะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1

โมเลกุลขึ้นไปกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) หรือไดแซคคาไรด์ (Disaccharides) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ก็ได้ แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดคือน้ำตาลของสารประกอบฟีนอลิก คือ กลูโคส ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นที่พบ ได้แก่ กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไซโรส (xylose) อะราบินโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucuronic acid) กรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเองหรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) กรดอินทรีย์ (organic acids) อะมีน (amines) และไขมันอีกด้วย

สารประกอบฟีนอลิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งสามารถพบได้โดยทั่วไปและมีความสำคัญ ประกอบด้วย ฟีนอล (phenols, C_6) กรดฟีนอลิก (phenolic acids, C_6-C_1) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids, C_6-C_3) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างพืชนิยมรายงานเป็นค่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents) โดยใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน (วิวัฒน์, 2545; ประพันธ์, 2549)

หน้าที่ทางชีววิทยาโดยทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิกในพืชจะปรากฏในหลายลักษณะ เช่น รงควัตถุ สอร์โมน กรดแอบไซซิก (abscisic acid), ลิกนิน (lignin), โคเอนไซม์ Q (coenzyme Q) หรือบางชนิดอาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการเป็น สารออลเลอร์โรพาติก (allelopathic agents), ฟีตดิ้งเรสเทอร์เรน (feeding deterrents), สารแอนติฟังกัล (antifungal agents) และ ฟิโตอะเล็กซิน (phytoalexin) อย่างไรก็ตามหน้าที่ที่แน่นอนของสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่ในพืชนั้นยังเป็นที่ยังสงสัย แต่ทั้งนี้อาจจำแนกหน้าที่สำคัญของสารประกอบฟีนอลิกออกเป็น 3 ประการ ดังนี้ (จริงแท้, 2549)

1. การต้านทานโรค สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดสามารถป้องกันหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราบางชนิดได้ เช่น กรดโปรคาเทชชุยิก (protocatechuic acid) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีมากในหอมหัวใหญ่สีม่วง จะต้านทานต่อโรค smudge ที่เกิดจาก *Colletotrichum circinan* ได้ดี แต่ในหอมพันธุ์สีขาวจะไม่มีสารตัวนี้จึงอ่อนแอต่อโรค smudge สารสกัดที่ได้จากหัวหอมนี้สามารถป้องกันการงอกและยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ด้วย

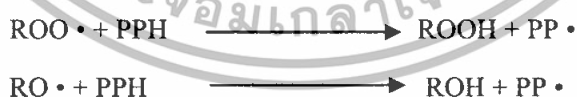
2. รสฝาด รสฝาดของผลไม้หลายๆ ชนิด จะขึ้นอยู่กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในผล ช่วงน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกที่จะให้ความฝาดนั้นอยู่ในช่วง 500-3,000 ซึ่งสามารถที่จะรวมตัวกับโมเลกุลของโปรตีนในปากทำให้รู้สึกฝาดได้ เมื่อผลไม้พัฒนาเข้าสู่การบริบูรณ์ สารประกอบฟีนอลิกจะลดลงนอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังเกิดการรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่ (polymerization) และการรวมตัวของสารประกอบฟีนอลิกเป็นโมเลกุลใหญ่จะ

เกิดขึ้นเรื่อยๆ จากโมเลกุลที่ละลายน้ำกลายเป็น โมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งทำให้ความฝาดลดลง เมื่อผลไม้บรรจรมีเต็มที่ ส่วนรสขมในผลไม้ตระกูลส้มนั้นเป็นผลจากนารินจิน (naringin) ซึ่งพบมากและเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่ให้รสขมสูง ส่วนรสขมของแตงกวาซึ่งเกิดจากคูเคอไบทาซิน (cucurbitacin) หรือ รสขมซึ่งเกิดจากไลโมนอยด์ (limonoids) ในพวกส้ม ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก แต่เป็นสารประกอบพวกไตรเทอเพนอยด์ (triterpenoid)

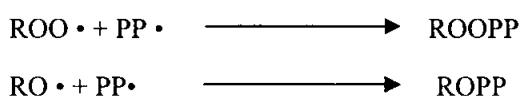
3. สี สีของผักผลไม้ซึ่งเป็นสีของแอนโทไซยานินก็เป็นสีของสารประกอบฟีนอลิก นอกจากนี้การที่ผักหรือผลไม้เกิดสีน้ำตาลเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ซึ่งเปลี่ยนโมเลกุลของฟีนอลิกไปเป็นควิโนน (quinone) แล้วเกิดโพลีเมอร์ไรเซชัน (polymerization) และมีสีน้ำตาล การยับยั้งปฏิกิริยานี้ทำได้โดยเก็บไว้ภายใต้สภาพที่มี O_2 น้อย หรือใช้กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ไปรีดิวซ์ควิโนน ไม่ให้เกิดโพลีเมอร์ไรเซชัน ปริมาณของ PPO จะมีมากในผลไม้ เมื่อผลยังเล็กและจะลดลงเมื่อผลบรรจรมีเต็มที่และสุก สันนิษฐานว่า ควิโนน ที่ได้จากการทำงานของ PPO มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้

2.5 สมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก

สมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันของสารประกอบฟีนอลิก คือ การเป็นสารต้านออกซิเดชัน และสารต้านการกลายพันธุ์ (antimut agents) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radical) และการใช้สารประกอบฟีนอลิกในการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเหล่านั้นสามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



แต่ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกยังขึ้นอยู่กับระบบด้วย ดังนั้นการศึกษาหรือเปรียบเทียบคุณสมบัติดังกล่าวจึงจำเป็นต้องระบุนรายละเอียดของระบบให้ชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสับเซตที่เป็นเป้าหมายของระบบ นอกจากนี้ยังพบว่า ในภาวะที่มีสารประกอบฟีนอลิกความเข้มข้นสูง พิเศษสูง และมีเหล็กอยู่ด้วยนั้น สารประกอบฟีนอลิก อาจจะเป็นตัวเริ่มต้นของกระบวนการออกซิเดชันเสียเองได้

สารประกอบฟีนอลิกที่ถูกรับว่ามีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันนั้น สามารถพบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น เมล็ด (ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย มัสตาร์ด ข้าว และงา) ผล (ได้แก่ องุ่น ส้ม พริกไทยดำ และโอลีฟ) ใบ (ได้แก่ ชา และเครื่องเทศต่างๆ) และส่วนอื่นๆ (ได้แก่ มันเทศ และหัวหอม) และหนึ่งในสารต้านออกซิเดชันที่เป็นที่รู้จักกันดีอยู่แล้ว คือ วิตามินอี ส่วนสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมาก คือ flavonoids (ได้แก่ flavones, flavonols, isoflavones, catechins, flavonones และ chalcones) และ cinnamic acid derivatives (ได้แก่ caffeic acid, ferulic acid, cholorogenic acid และอื่นๆ) โดยจะสามารถพบทั้ง flavonoids และ cinnamic acid derivatives ได้ในเกือบทุกส่วนของพืช แต่จะมีความสามารถแตกต่างกันออกไปในด้านของชนิดและปริมาณ (วิวัฒน์, 2545)

2.6 ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลสารประกอบฟีนอลิก ดังตัวอย่างต่อไปนี้ คือ

1. ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)
2. อุณหภูมิ
3. แสง
4. เอ็นไซม์
5. การรวมตัวกับโมเลกุลอื่นๆ

เนื่องจาก OH-group ในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทต่อคุณสมบัติของการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างซึ่งจะมีผลให้ OH-group เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงน่าจะมีผลต่อสมบัติของการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกด้วยเช่นกัน

อุณหภูมิสูงในระหว่างการแปรรูปจะมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ ระเหยกลายเป็นไอไปได้ในขณะพลาไวโนยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างแบบ C6-C3-C6 โดยมีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน จะเกิดการแตกของวงแหวน C และสลายตัวต่อไป

โดยวงแหวน B จะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิก และวงแหวน A จะเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ตามลำดับ และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ

แสงแดดเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่เร่งการสลายตัวหรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก เช่น OH-group ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน จะสามารถเรืองแสงและไวต่อการสลายตัวเมื่อโดนแสงแดด นอกจากนี้แสงแดดยังเป็นปัจจัยเร่งให้เกิดการสลายตัวเนื่องจากความร้อนให้เกิดเร็วขึ้นอีกด้วย

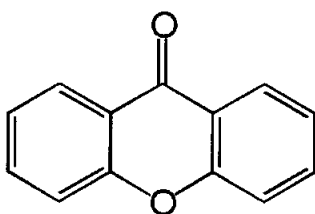
ในสภาพที่มีเอนไซม์ polyphenoloxidase อยู่ด้วยจะเป็นการเร่งการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลบางชนิดให้เกิดได้เร็วขึ้น แต่อัตราเร่งปฏิกิริยาจะแตกต่างกันออก เช่น Fu et al (1992) พบว่า polyphenoloxidase สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ (-)-epicatechin ได้ดีกว่า (+)-catechin

สารประกอบฟีนอลิกสามารถเกิดการรวมตัวกับโมเลกุลอื่นๆ เช่น โปรตีน โพลีแซคคาไรด์ อัลคาลอยด์และแอนโทไซยานินได้ง่าย และปฏิกิริยาอาจจะเป็นแบบสามารถผันกลับได้หรือไม่ได้นั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ในขณะที่เกิดปฏิกิริยา เช่น ออกซิเจน ไอออนโลหะ เอนไซม์ และกรด เป็นต้น ซึ่งจะเป็นตัวการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลของปฏิกิริยา เช่น ทำให้ปฏิกิริยาไม่สามารถผันกลับได้ หากปรากฏการณ์เหล่านี้มีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างไป จะทำให้สารประกอบฟีนอลิกสูญเสียสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันไปได้ (วิวัฒน์, 2545)

2.7 สารที่มีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่พบในมะม่วง

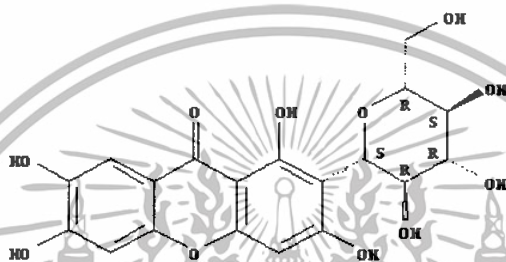
2.7.1 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) สารประกอบฟีนอลิกมีพบได้ในเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วง โดยมีปริมาณมากที่สุดในส่วนของเมล็ด (Soong และ Barlow , 2004) ในส่วนของเปลือกมะม่วงนั้นพบว่าในเปลือกมะม่วงสุกมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าในเปลือกมะม่วงดิบ (Ajila และคณะ , 2007a) สารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในมะม่วงคือ

2.7.1.1 สารในกลุ่มของแซนโทนไกลโคไซด์ (xanthone C-glycosides) ซึ่งพบว่ามีส่วนประกอบของแมนจิเฟอริน (mangiferin), ไอโซแมนจิเฟอริน (Isomangiferin), แมนจิเฟอริน แกลเลต (mangiferin gallate) และ ไอโซแมนจิเฟอริน แกลเลต (Isomangiferin gallate) โดยมีปริมาณของแมนจิเฟอรินมากที่สุด (Berardini และคณะ , 2005) โครงสร้างของแซนโทนและแมนจิเฟอรินแสดงดังภาพที่ 2.1 และ 2.2



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของแซนโทน

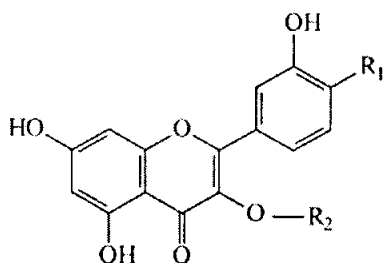
ที่มา : http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/top/glossaryq_z.html#X



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของแมนจิเฟอริน

ที่มา : http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/top/glossaryq_z.html#X

2.7.1.2 สารในกลุ่มฟลาโวนอลกลัยโคไซด์ (flavonol *O*-glycosides) ซึ่งพบว่ามีองค์ประกอบของเคอควิซิทินกาแลคโทไซด์ (quercetin 3-*O*-galactoside), เคอควิซิทินกลูโคไซด์ (quercetin 3-*O*-glucoside), เคอควิซิทินไซโลไซด์ (quercetin 3-*O*-xyloside), เคอควิซิทินอะราบิโนไพราโนไซด์ (quercetin 3-*O*-arabinopyranoside), เคอควิซิทินอะราบิโนฟูราโนไซด์ (quercetin 3-*O*-arabinofuranoside), เคอควิซิทินแรมโนไซด์ (quercetin 3-*O*-rhamnoside), แคมฟีรอลกลูโคไซด์ (Kaempferol 3-*O*-glucoside), แรมเนตินกาแลคโทไซด์/กลูโคไซด์ (Rhamnetin 3-*O*-galactoside/glucoside) และเคอควิซิทิน (quercetin) โดยมีปริมาณของเคอควิซิทินกาแลคโทไซด์มากที่สุด (Berardini และคณะ, 2005) โครงสร้างของสารในกลุ่มของฟลาโวนอลบางชนิดแสดงดังภาพที่ 2.3



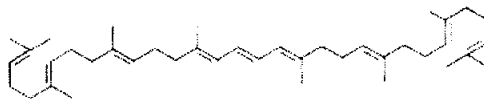
Flavonol	R ₁	R ₂
Rutin	OH	Rutinoses
Quercitrin	OH	Rhamnose
Quercetin	OH	H
Kaempferol	H	H
Isorhamnetin	OCH ₃	H

ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของสารในกลุ่มของฟลาโวนอลบางชนิด

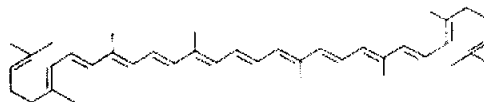
ที่มา : [http://www.ualberta.ca/~csps/JPPS7\(3\)/I.Kanfer/ginkgo.htm](http://www.ualberta.ca/~csps/JPPS7(3)/I.Kanfer/ginkgo.htm)

2.7.2 แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) แคโรทีนอยด์พบว่ามีปริมาณมากในส่วนของเปลือกมะม่วงสุก (Ajila และคณะ, 2007a) แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุกลุ่มใหญ่พบอยู่ร่วมกับคลอโรฟิลล์ (chlorophylls) ในคลอโรพลาสต์ (chloroplasts) และโครโมพลาสต์ (chromoplasts) ให้สีแดง ส้มและเหลือง และเป็นรงควัตถุในใบไม้ที่เปลี่ยนสีในฤดูใบไม้ร่วง (autumn leaf pigmentation) แคโรทีนอยด์แบ่งเป็น 2 กลุ่มย่อย คือ แคโรทีน (carotenes) และ แซนโทฟิลล์ (xanthophylls) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ที่มีการเติมออกซิเจน (oxygenated derivatives) ทั้งสองกลุ่มนี้ไม่ละลายในน้ำ แต่แซนโทฟิลล์ มีคุณสมบัติในการไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) น้อยกว่าแคโรทีน กลุ่มของแคโรทีนอยด์ที่พบมากในมะม่วง คือ เบต้า-แคโรทีน โดยพบมากในมะม่วงสุก สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้จะช่วยป้องกันโรคมะเร็ง โรคหัวใจ ความเสื่อมของร่างกาย นอกจากนี้ เบตาแคโรทีน (Beta-carotene) ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอ ที่เป็นวิตามินสำคัญต่อการทำงานของดวงตา นอกจากนี้ยังมี แคโรทีนอยด์ธรรมชาติ ในรูปของไลโคพีน (Lycopene) ซึ่งเป็นสารที่สามารถต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก โครงสร้างของสารในกลุ่มของแคโรทีนอยด์บางชนิดแสดงดังภาพที่ 2.4 (<http://coursewares.mju.ac.th/section2/pt331/06.htm>, http://www.livewellguide.com/woman/thai/2006_54.html)

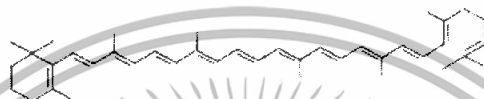
phytoene ($C_{35}H_{54}$; colorless; λ_{max} , 285 nm)



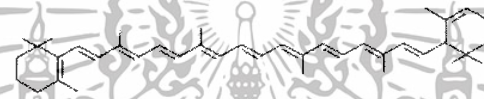
lycopene ($C_{40}H_{56}$; red; λ_{max} , 476 nm)



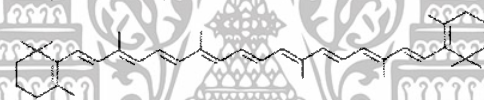
γ -*carotene* ($C_{40}H_{56}$; orange; λ_{max} , 460 nm)



α -*carotene* ($C_{40}H_{56}$; orange; λ_{max} , 456 nm)



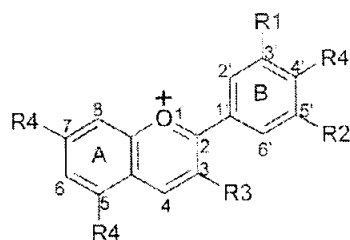
β -*carotene* ($C_{40}H_{56}$; orange; λ_{max} , 463 nm)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของสารในกลุ่มของแคโรทีนอยด์บางชนิด

ที่มา : <http://www.cyberlipid.org/simple/simp0002.htm>

2.7.3 แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) พบมากในส่วนของเปลือกมะม่วงสุก (Ajila และคณะ, 2007a) ซึ่งละลายอยู่ในถุงเซลล์ (cell sap) ให้สีโทนแดง น้ำเงิน หรือม่วง โมเลกุลของแอนโทไซยานินประกอบไปด้วย แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) และน้ำตาล 1-2 โมเลกุล ซึ่งน้ำตาลเหล่านี้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่อาจมีคาร์บอนในโมเลกุลจำนวน 5 หรือ 6 อะตอมก็ได้ เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโตส หรือน้ำตาลอะราบิโนส เป็นต้น แอนโทไซยานิดินที่พบมากในธรรมชาตินั้นจะมีเพียง 3 ชนิด คือ ไซยานิดิน (cyanidin), เพลาร์โกนิดีน (pelargonidin) และเดลฟินิดิน (delphinidin) โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานินมีชื่อเรียกว่า flavylium cation (ภาพที่ 2.5) ซึ่งประกอบด้วย 3 ring คือ A-ring, B-ring และ C-ring โดยที่แอนโทไซยานินแต่ละชนิดจะแตกต่างกันที่หมู่แทนที่บนคาร์บอนตำแหน่งต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1



R1 and R2 are H, OH, or OCH₃

R3 is a glycosyl or H

R4 is OH or a glycosyl

ภาพที่ 2,5 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานินมีชื่อเรียกว่า flavylum cation
ที่มา : ประพันธ์ (2549)

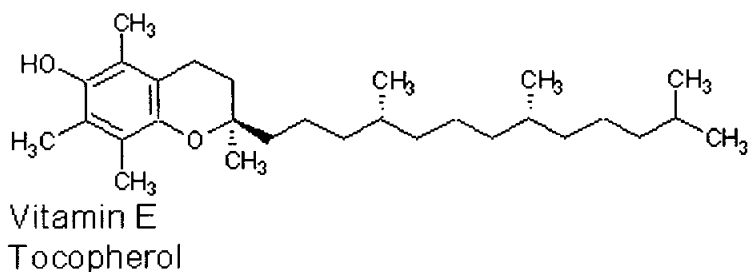
ตารางที่ 2.1 โครงสร้างและชื่อของแอนโทไซยานินชนิดต่างๆที่พบได้ในธรรมชาติ

Name	Abbreviation	Substitution pattern							Color
		3	5	6	7	3'	4'	5'	
Apigeninidin	Ap	H	OH	H	OH	H	OH	H	Orange
Aurantidin	Au	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	Orange
Capensinidin	Cp	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OMe	Bluish-red
Cyanidin	Cy	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Orange-red
Delphinidin	Dp	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Bluish-red
Europinidin	Eu	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	OH	Bluish-red
Hirsutidin	Hs	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	OMe	Bluish-red
6-Hydroxycyanidin	6-OHCy	OH	OH	OH	OH	OH	OH	H	Red
Luteolinidin	Lt	H	OH	H	OH	OH	OH	H	Orange
Malvidin	Mv	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OMe	Bluish-red
5-Methylcyanidin	5-MCy	OH	OMe	H	OH	OH	OH	H	Orange-red
Pelargonidin	Pg	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Orange
Peonidin	Pn	OH	OH	H	OH	OMe	OH	H	Orange-red
Petunidin	Pt	OH	OH	H	OH	OMe	OH	OH	Bluish-red
Pukhellidin	Pk	OH	OMe	H	OH	OH	OH	OH	Bluish-red
Rosinidin	Ra	OH	OH	H	OMe	OMe	OH	H	Red
Trietinidin	Tr	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Red

ที่มา : ประพันธ์ (2549)

2.7.4. วิตามิน (Vitamin) วิตามินที่พบมากในมะม่วงได้แก่ วิตามินอี (Vitamin E) และ วิตามินซี (Vitamin C) (Ajila และคณะ, 2007b)

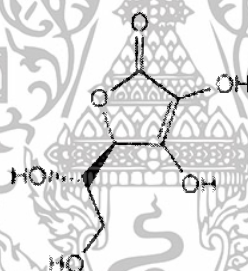
2.7.4.1 วิตามินอี (Vitamin E) หรือโทโคฟีรอล (Tocopherol) เป็นวิตามินที่ละลายในไขมัน ดังนั้น จะเฝ้าอยู่ที่ผนังเซลล์เมื่ออนุมูลอิสระเข้ามาประชิดเซลล์ก็จะถูกวิตามินอีทำลายทิ้ง วิตามินอีถูกพบมากในส่วนของเปลือกมะม่วงสุก โครงสร้างของวิตามินอีแสดงดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของวิตามินอี

ที่มา : <http://chemistry.about.com/library/graphics/blvitamine.htm>

2.7.4.2 วิตามินซี (Vitamin C) สังเคราะห์จากกลูโคส หรือคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างแบบง่าย ๆ ที่ถูกพบในส่วนของเปลือกมะม่วงสุก วิตามินซีเป็นวิตามินที่ละลายในน้ำจึงเป็นตัวที่คอยเผื่อน้ำตาลอิสระอยู่ในน้ำรอบเซลล์ เมื่ออนุมูลอิสระเข้ามาจะทำอันตรายเซลล์ก็จะพบกับวิตามินซี และถูกกำจัดทิ้งก่อน โครงสร้างของวิตามินซีแสดงดังภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของวิตามินซี

ที่มา : <http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=69>

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Soong และ Barlow (2004) ศึกษาหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในส่วนเนื้อและเมล็ดของมะม่วง พบว่าในส่วนของเมล็ดนั้นมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าในส่วนของเนื้อมะม่วง

Berardini และคณะ (2005) ศึกษาผลของความร้อนต่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมะม่วงพันธุ์ Raspuri และ Badami ทั้งดิบและสุก โดยนำเปลือกมะม่วงมาอบแห้งที่อุณหภูมิแตกต่างกัน คือ 50, 70 และ 90 °C ซึ่งใช้เปลือกมะม่วงที่นำไปผ่านกระบวนการไลโอไฟล์ไลซ์ (lyophilized) เป็นตัวอย่างควบคุม พบว่าในเปลือกมะม่วงมีสารในกลุ่มของแซนโทนกลัยโคไซด์ (Xanthone C-glycosides) 4 ชนิด คือ แมนจิเฟอริน (Mangiferin), ไอโซแมนจิเฟอริน

(IsoMangiferin), แมนจิเฟอริน แกลเลต (Mangiferin gallate) และ ไอโซแมนจิเฟอริน แกลเลต (IsoMangiferin gallate) โดยพบองค์ประกอบของแมนจิเฟอรินเป็นหลัก ซึ่งปริมาณของแมนจิเฟอรินในเปลือกมะม่วงจะลดลงเมื่ออุณหภูมิในการอบแห้งเพิ่มขึ้น ส่วนสารประกอบฟีนอลิกอีก 3 ชนิดจะมีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และยังพบว่ามีส่วนที่อยู่ในกลุ่มของควอซีตินกลัยโคไซด์ (quercetin 3-O-glycosides) หลายชนิด แต่ชนิดที่มีปริมาณสูงสุดคือ ควอซีตินกาแลโทไซด์ (quercetin 3-O-galactoside) รองลงมาคือ ควอซีตินกลูโคไซด์ (quercetin 3-O-glucoside) ส่วนควอซีตินกลัยโคไซด์ที่เหลือพบเพียงปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งควอซีตินกลูโคไซด์ มีความเสถียรต่ออุณหภูมิสูงกว่าควอซีตินกาแลโทไซด์

Ajila และคณะ (2007a) ศึกษาปริมาณของสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณแอนโทไซยานิน ในมะม่วง 2 สายพันธุ์ คือพันธุ์ Raspuri และ Badami พบว่ามะม่วงดิบเปลือกเขียวทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในส่วนของเปลือกสูงกว่ามะม่วงสุก ในขณะที่ปริมาณแคโรทีนอยด์ และปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกมะม่วงสุกมีค่ามากกว่าในเปลือกมะม่วงดิบ นอกจากนี้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการหาค่า reducing power การต้านอนุมูลอิสระ DPPH การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และการยับยั้งเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase) พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ Badami มีค่า reducing power สูง ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์ Raspuri มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี นอกจากนี้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงสุกมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ดี ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกมะม่วงดิบมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสและมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ดี

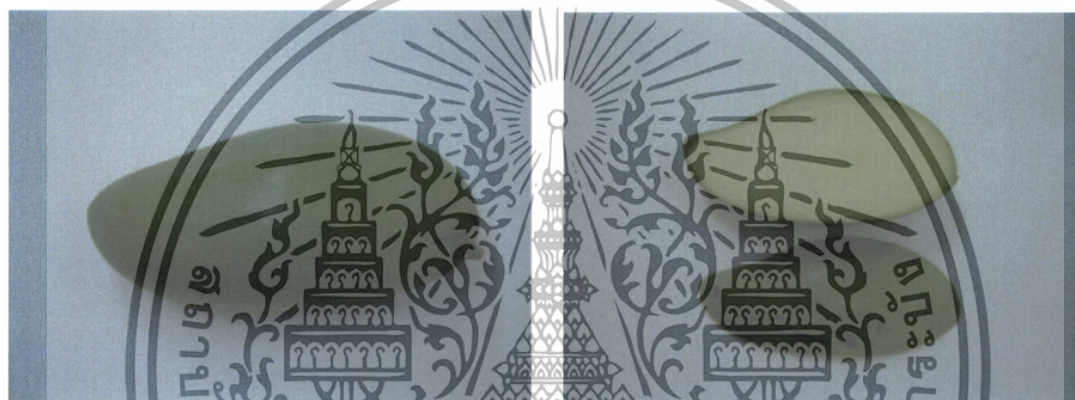
Ajila และคณะ (2007b) ศึกษาองค์ประกอบที่มีคุณค่าในเปลือกมะม่วงดิบและสุกของมะม่วง 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ Raspuri และ Badami พบว่าเปลือกมะม่วงประกอบด้วยองค์ประกอบที่มีความสำคัญ คือ สารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ วิตามินซี วิตามินอี และเส้นใยอาหาร โดยในส่วนของมะม่วงดิบเปลือกเขียวทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าในเปลือกมะม่วงสุก ในขณะที่ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณวิตามินซี ปริมาณวิตามินอี และปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ และใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำในเปลือกมะม่วงสุกมีค่ามากกว่าในเปลือกมะม่วงดิบ โดยเปลือกมะม่วงสุกพันธุ์ Badami มีปริมาณใยอาหารทั้งหมดสูงที่สุด และเปลือกมะม่วงดิบพันธุ์ Raspuri มีปริมาณของใยอาหารทั้งหมดต่ำที่สุด

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุดิบ

มะม่วงพันธุ์ฟ้าถันซื้อจากตลาดไท ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยเลือกผลแก่จัดที่เปลือกมีสีเขียวทั้งผล และเนื้อในยังไม่สุก ดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 มะม่วงฟ้าถันที่ใช้ในการทดลอง

3.2 อุปกรณ์

- | | | |
|---|-----------------------|---------|
| 1. เครื่องวัดสี (Minolta color meter) | Minolta CR-300 | ญี่ปุ่น |
| 2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) | Thermo Genesly 10 Vis | |
| 3. เครื่องผสม (Vortex mixer) | Gerhardt Bonn | เยอรมัน |
| 4. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) | Mettler Toledo MP220 | เยอรมัน |
| 5. เครื่องกรองสุญญากาศ | | |
| 6. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) | Memmert 854 Schwabach | เยอรมัน |
| 7. โถแก้วดูดความชื้น (Desiccator) | | |

3.3 สารเคมี

- | | | |
|---|-------------------------|---------|
| 1. เอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ | องค์การสุรากรมสรรพสามิต | ไทย |
| 2. กรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5-dinitrosalicylic acid) | Fluka | เยอรมัน |
| 3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) | Merck | เยอรมัน |

4. โปแทสเซียม โซเดียมทาร์เทรท (Potassium sodium tartrate) Fluka	Fluka	เยอรมัน
5. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)	Fluka	เยอรมัน
6. โปแทสเซียม พทาเลต (Potassium phthalate, $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$)	Sigma	เยอรมัน
7. Folin-Ciocalteu	BDH	อังกฤษ
8. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	Merck	เยอรมัน
9. กรดแกลลิก (Gallic acid)	Sigma	เยอรมัน
10. DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl)	Sigma	เยอรมัน
11. อะซิเตต บัฟเฟอร์ (Acetate buffer) pH 3.6	Sigma	เยอรมัน
12. TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine)	Sigma	เยอรมัน
13. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Merck	เยอรมัน
14. โทรลอกซ์ (Trolox)	Merck	เยอรมัน

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างมะม่วง

มะม่วงฟ้าลั่นซื้อจากตลาดไท ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี โดยเลือกผลแก่จัดที่เปลือกมีสีเขียวทั้งผล และเนื้อในยังไม่สุก นำมาแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 นำมาล้างให้สะอาด ถ่ายรูป วัดสีเปลือกและเนื้อ จากนั้นแยกส่วนเปลือก เนื้อ และเมล็ด ไปแช่แข็งก่อนจะนำมาทดลองต่อไป กลุ่มที่ 2 นำไปตั้งทิ้งไว้ให้สุก นิ่ม เปลือกมีสีเหลืองมากขึ้น โดยวางไว้ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ใช้กระดาษหนังสือพิมพ์ 2 ชั้น คลุมไว้ จากนั้นเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1

3.4.2 การวัดสีด้วยเครื่องวัดสี

ทำการวัดสีเปลือกและเนื้อของมะม่วงฟ้าลั่นทั้งดิบและสุก โดยวัดสีตัวอย่างเปลือก และเนื้อมะม่วง 6 ผล แบ่งออกเป็นตัวอย่างเปลือกและเนื้อมะม่วงดิบ 3 ผล และตัวอย่างเปลือกและเนื้อมะม่วงสุก 3 ผล ผลละ 10 ตำแหน่ง โดยบันทึกค่า CIP L*, a*, b*

3.4.3 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของตัวอย่างมะม่วง

ตัวอย่างเปลือกและเมล็ดในของมะม่วงจะวิเคราะห์เฉพาะปริมาณความชื้นเท่านั้น สำหรับตัวอย่างเนื้อมะม่วงจะวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดค่า ปริมาณความชื้น ปริมาณกรดทั้งหมด (Total titratable acidity) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

3.4.3.1 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างด้วย pH meter

3.4.3.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (Total titratable acidity) (AOAC, 2000) ดูรายละเอียดวิธีวิเคราะห์ในภาคผนวก ข

3.4.3.3 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในตัวอย่างน้ำที่บีบคั้นได้จากเนื้อมะม่วงโดยใช้ hand refractrometer

3.4.3.4 วิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดย DNS method จะใช้วิธีซึ่งรายงานโดย ประพันธ์ (2538) ดูรายละเอียดวิธีวิเคราะห์ในภาคผนวก ง

3.4.3.5 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990) ดูรายละเอียดวิธีวิเคราะห์ในภาคผนวก จ

3.4.4 การเตรียมสารสกัดจากตัวอย่างมะม่วง

การเตรียมสารสกัดจากตัวอย่างมะม่วง ทำโดยการนำเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วง ปริมาณ 1, 10 และ 0.25 กรัมตามลำดับ มาผสมกับเอทานอล 95 % 100 มิลลิลิตร บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ที่ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำสารที่สกัดได้จากตัวอย่างมะม่วงไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้กระจกนาฬิกาปิดคนทุก 10 นาที นำสารสกัดที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.4 ปรับปริมาตรของสารสกัดที่ได้ให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล 95%

3.4.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในส่วน เปลือกเนื้อ และเมล็ดในมะม่วงฟาลัน จะใช้วิธีที่รายงานโดย ประพันธ์ และวันทนี (2545) โดยสารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่มีการดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารประกอบฟีนอลมาตรฐาน รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ฉ

3.5.6 การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จะใช้วิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) วิธีนี้จะอาศัยการติดตามความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl หรือ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ทำให้สารละลายมีสีม่วงและสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ดังนั้นถ้าสารตัวอย่างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของสารดังกล่าวได้ดี จะทำให้มีสีม่วงจางลงมาก รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ช

3.5.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative potential, FRAP)

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก จะใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Benzie และคณะ (1999) มีหลักการคือ ดูความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Fe^{3+}) ให้เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPTZ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน และสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 593 นาโนเมตร โดยใช้โทรออกซ์เป็นสารมาตรฐาน รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ข



บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นดิบและสุก

จากการศึกษาสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น โดยวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณความเป็นกรดทั้งหมด ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณความชื้น และค่าพารามิเตอร์สี ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1 และ 4.2

จากตารางที่ 4.1 จะพบว่า ค่าความเป็นกรดต่างในเนื้อมะม่วงเพิ่มจาก 4.3 ± 0 สำหรับมะม่วงดิบเป็น 5.2 ± 0.1 ในเนื้อมะม่วงสุก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่มีค่าลดลงจาก 0.014 ± 0.001 % เป็น 0.048 ± 0.001 % เมื่อมะม่วงสุก กล่าวคือ เมื่อมะม่วงสุกมีค่า pH เพิ่มขึ้นเนื่องจากค่าความเป็นกรดทั้งหมดลดลง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มจาก 9.5 ± 0.4 องศาบริกซ์ เป็น 19.6 ± 0.4 องศาบริกซ์ น้ำตาลรีดิวซ์มีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก $1,091.26 \pm 3.38$ เป็น $1,740.56 \pm 33.06$ มิลลิกรัมกลูโคส / 100 กรัมตัวอย่าง โดยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในเนื้อมะม่วงสุก ปริมาณความชื้นในเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นมีปริมาณอยู่ในช่วง 65.32 ± 3.82 % ถึง 76.03 ± 7.18 % โดยในเปลือก และเนื้อมะม่วงมีปริมาณความชื้นลดลงเมื่อสุก ในขณะที่เมล็ดในของมะม่วงมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นเมื่อสุก

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมีของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นดิบและสุก

สมบัติทางเคมีของตัวอย่างมะม่วง	ส่วนของมะม่วง	ค่าที่วิเคราะห์ได้
ค่าความเป็นกรดต่าง	เนื้อมะม่วงดิบ	4.3 ± 0
	เนื้อมะม่วงสุก	5.2 ± 0.1
ปริมาณกรดทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เทียบกับกรดซิตริก)	เนื้อมะม่วงดิบ	0.048 ± 0.001
	เนื้อมะม่วงสุก	0.014 ± 0.001
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์)	เนื้อมะม่วงดิบ	9.5 ± 0.4
	เนื้อมะม่วงสุก	19.6 ± 0.6
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมกลูโคส / 100 กรัมตัวอย่าง)	เนื้อมะม่วงดิบ	$1,091.26 \pm 3.38$
	เนื้อมะม่วงสุก	$1,740.56 \pm 33.06$
ปริมาณความชื้น (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเปียก)	เปลือกมะม่วงดิบ	70.75 ± 0.38
	เปลือกมะม่วงสุก	68.36 ± 1.69
	เนื้อมะม่วงดิบ	77.10 ± 6.01
	เนื้อมะม่วงสุก	75.23 ± 3.55
	เมล็ดในของมะม่วงดิบ	65.32 ± 3.82
	เมล็ดในของมะม่วงสุก	76.03 ± 7.18

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

ตารางที่ 4.2 ค่าพารามิเตอร์สีที่ได้จากเครื่องวัดสีของเปลือก และเนื้อ ของมะม่วงฟ้าลั่นดิบและสุก

ตัวอย่าง	ค่า L*	ค่า a*	ค่า b*
เปลือกมะม่วงดิบ	46.59 ± 1.13	-16.56 ± 0.24	22.90 ± 0.69
เปลือกมะม่วงสุก	60.67 ± 2.53	-8.40 ± 3.16	37.51 ± 2.05
เนื้อมะม่วงดิบ	84.44 ± 1.15	-6.68 ± 0.23	23.50 ± 0.64
เนื้อมะม่วงสุก	72.59 ± 0.54	-0.75 ± 0.03	49.44 ± 0.53

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

จากตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่า เปลือกมะม่วงมีค่า L* ค่า a* และค่า b* อยู่ในช่วง 46.59 ถึง 60.67, -16.56 ถึง -8.40 และ 22.90 ถึง 37.51 ตามลำดับ โดยจะเห็นได้ว่าเปลือกมะม่วงมีค่า L* เพิ่มขึ้น ค่า a* ติดลบน้อยลง ค่า b* เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่าเปลือกมะม่วงเมื่อสุกจะมีความสว่าง มีค่าสีแดงและสีเขียวเพิ่มขึ้น เนื้อมะม่วงมีค่า L* ค่า a* และค่า b* อยู่ในช่วง 84.44 ถึง 72.59, -6.68 ถึง -0.75 และ 23.50 ถึง 49.44 โดยจะเห็นได้ว่าเปลือกมะม่วงมีค่า L* ลดลง ค่า a* ติดลบน้อยลง ค่า b* เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่าเนื้อมะม่วงเมื่อสุกจะมีความสว่างลดลง มีสีแดงและสีเขียวเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะปรากฏที่สังเกตได้ด้วยตา

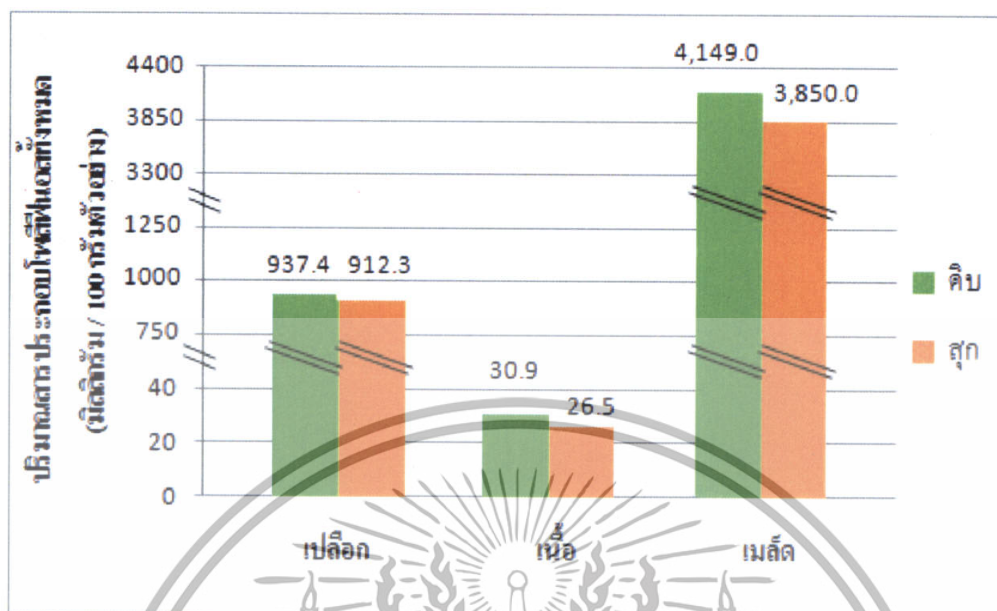
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และ เมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นดิบและสุก

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น ซึ่งใช้เอชานอล 95% เป็นตัวทำละลายในการสกัดโดยที่ สารประกอบโพลีฟีนอลสามารถทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่มีการดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร กำหนดหาปริมาณ สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดโดยใช้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกข้างต้น ให้ผลการทดลองดัง ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของ มะม่วงฟ้าลั่น

ตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัม / 100 กรัมตัวอย่าง)
เปลือกมะม่วงดิบ	937.4 ± 15.4
เปลือกมะม่วงสุก	912.3 ± 4.6
เนื้อมะม่วงดิบ	30.9 ± 0.4
เนื้อมะม่วงสุก	26.5 ± 1.2
เมล็ดในของมะม่วงดิบ	4,149.0 ± 46.7
เมล็ดในของมะม่วงสุก	3,850.0 ± 167.0

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง



ภาพที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

จากตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นถึงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น โดยพบว่า เนื้อมะม่วงฟ้าลั่นสุกมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลต่ำที่สุด คือ 26.46 มิลลิกรัม / 100 กรัมตัวอย่าง และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นคิบบมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด คือ 4,149 มิลลิกรัม / 100 กรัมตัวอย่าง และจากภาพที่ 4.1 จะเห็นว่าเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นทั้งคิบบและสุกมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือ เปลือก และเนื้อตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Soong และ Barlow (2004) ที่ศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในส่วนเนื้อและเมล็ดของมะม่วง พบว่าในส่วนของเมล็ดนั้นมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าในส่วนของเนื้อ และจะเห็นว่าเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นคิบบมีแนวโน้มของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นสุกเล็กน้อย

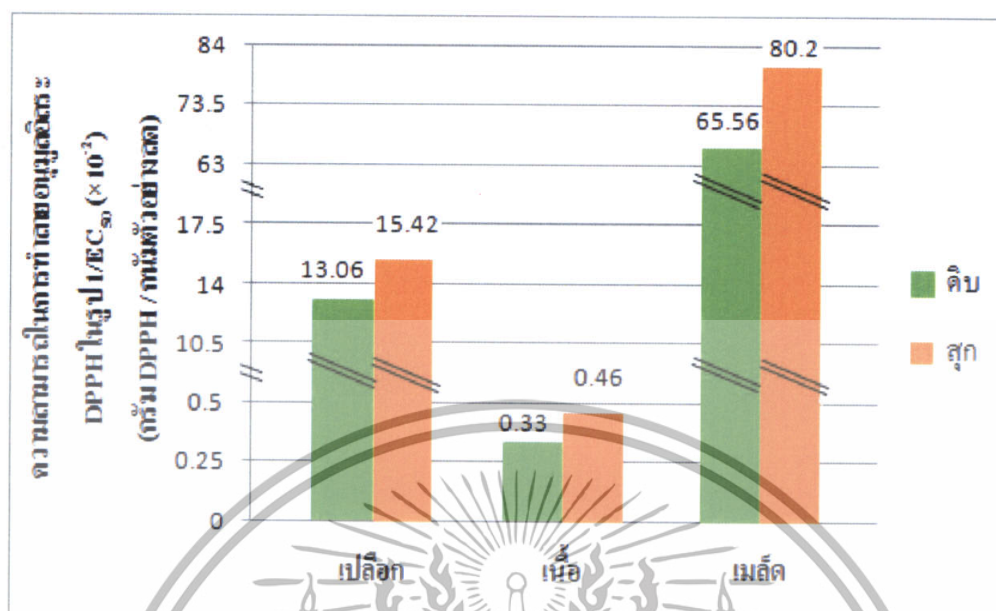
4.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างเปลือกเนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างเปลือกเนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น จะรายงานผลในรูป $1/EC_{50}$ ซึ่งค่า EC_{50} หมายถึง ค่าความเข้มข้นหรือปริมาณของตัวอย่าง ที่ทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ มีค่าเท่ากับ 50 % ดังนั้นตัวอย่างจากส่วนใดของมะม่วงฟ้าลั่นที่มีค่า $1/EC_{50}$ สูง แสดงว่ามีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าตัวอย่างส่วนของมะม่วงที่มีค่า $1/EC_{50}$ ต่ำ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.2

ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ ของตัวอย่างเปลือกเนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ส่วนของมะม่วง	ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ (กรัม DPPH / กรัม ตัวอย่าง)
เปลือกมะม่วงดิบ	13.06 ± 0.11
เปลือกมะม่วงสุก	15.42 ± 0.30
เนื้อมะม่วงดิบ	0.33 ± 0.00
เนื้อมะม่วงสุก	0.46 ± 0.01
เมล็ดในของมะม่วงดิบ	65.56 ± 3.53
เมล็ดในของมะม่วงสุก	80.20 ± 7.23

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง



ภาพที่ 4.2 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

จากตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ ของตัวอย่างจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น พบว่าเนื้อมะม่วงดิบมีค่า $1/EC_{50}$ ต่ำที่สุด เท่ากับ 0.33 ± 0.00 กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง และเมล็ดในของมะม่วงสุกมีค่า $1/EC_{50}$ สูงที่สุด เท่ากับ 80.20 ± 7.23 กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง ซึ่งหมายความว่าเนื้อมะม่วงดิบมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำที่สุด และเมล็ดในของมะม่วงสุกมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด และจากภาพที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นทั้งดิบและสุกมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือ เปลือก และเนื้อตามลำดับ โดยที่เปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นสุกมีแนวโน้มของความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นดิบเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ajila และคณะ (2007a) ที่ศึกษาหาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของเปลือกมะม่วงพันธุ์ Raspuri และ Badami ทั้งดิบและสุก โดยพบว่าเปลือกมะม่วงสุกของทั้งสองสายพันธุ์มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าเปลือกมะม่วงดิบ

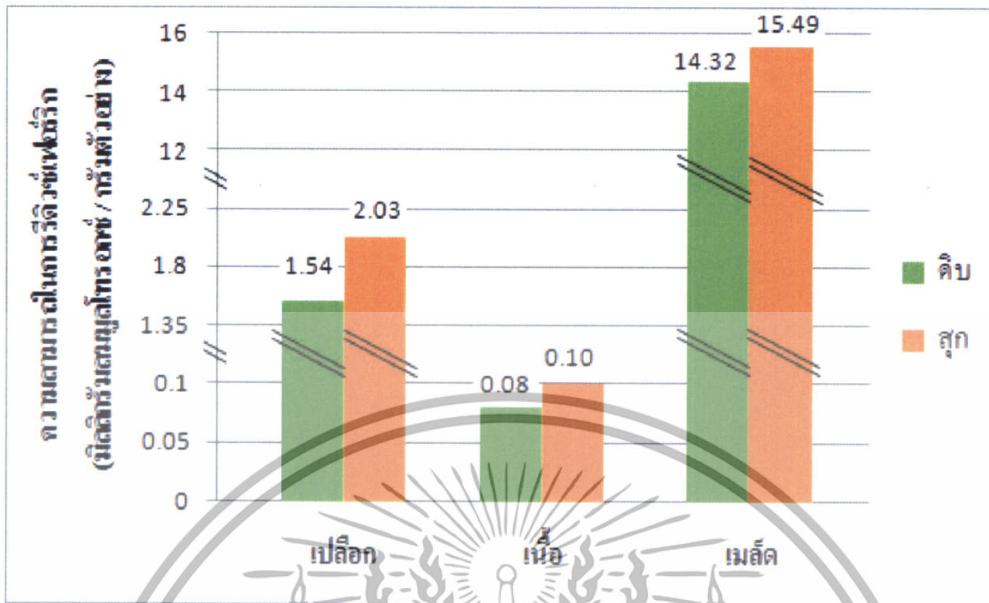
4.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative potential, FRAP)

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น โดยใช้โทรอกซ์เป็นสารมาตรฐาน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.3

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ตัวอย่าง	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (มิลลิกรัมสมมูลโทรอกซ์ / กรัมตัวอย่าง)
เปลือกมะม่วงดิบ	1.54 ± 0.15
เปลือกมะม่วงสุก	2.03 ± 0.02
เนื้อมะม่วงดิบ	0.08 ± 0.00
เนื้อมะม่วงสุก	0.10 ± 0.00
เมล็ดในของมะม่วงดิบ	14.32 ± 0.28
เมล็ดในของมะม่วงสุก	15.49 ± 0.31

หมายเหตุ : ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง



ภาพที่ 4.3 ความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

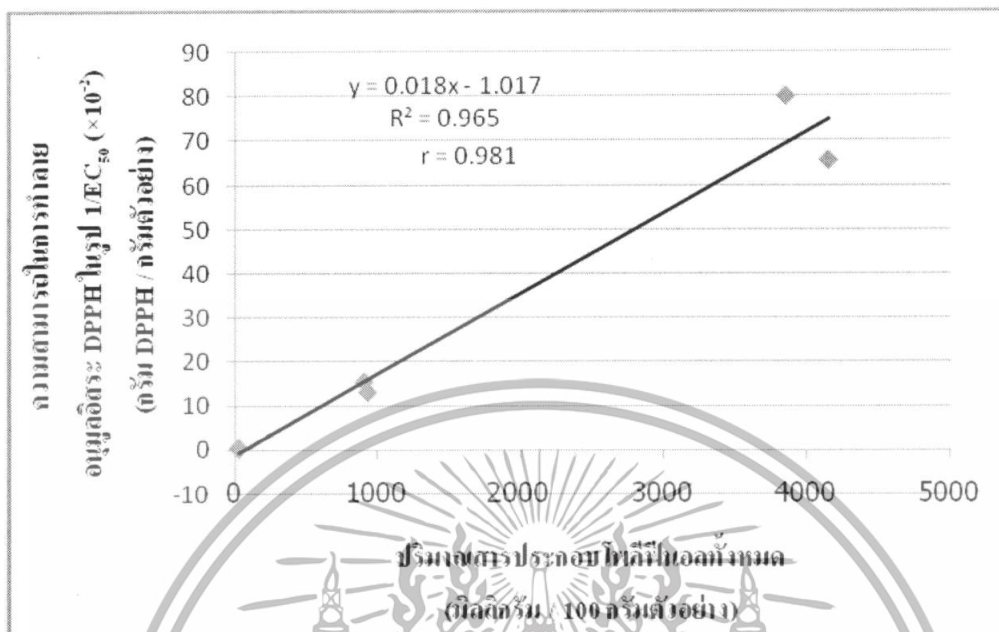
จากตารางที่ 4.5 แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น พบว่าเมล็ดในของมะม่วงสุกมีความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์สูงที่สุด เท่ากับ 15.49 ± 0.31 มิลลิกรัมสมมูล Trolox / กรัมตัวอย่าง และเปลือกมะม่วงดิบมีความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ต่ำที่สุด เท่ากับ 1.54 ± 0.15 มิลลิกรัมสมมูล Trolox / กรัมตัวอย่าง และจากภาพที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นทั้งดิบและสุกมีความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์สูงที่สุด รองลงมาคือ เปลือก และเนื้อตามลำดับ และจะเห็นว่าเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นสุกมีแนวโน้มของความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์สูงกว่าเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นดิบเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ (ตารางที่ 4.6) จะเห็นได้ว่าตัวอย่างจากส่วนใดของมะม่วงที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูง จะมีแนวโน้มความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ได้ดี

ตารางที่ 4.6 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือกเนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัม / 100 กรัม ตัวอย่าง)	ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ (กรัม DPPH / กรัม ตัวอย่าง)	ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (มิลลิกรัมสมมูลโทรอกซ์ / กรัมตัวอย่าง)
เปลือกมะม่วงดิบ	937.4 ± 15.4	13.06 ± 0.11	1.54 ± 0.15
เปลือกมะม่วงสุก	912.3 ± 4.6	15.42 ± 0.30	2.03 ± 0.02
เนื้อมะม่วงดิบ	30.9 ± 0.4	0.33 ± 0.00	0.08 ± 0.00
เนื้อมะม่วงสุก	26.5 ± 1.2	0.46 ± 0.01	0.10 ± 0.00
เมล็ดในของมะม่วงดิบ	$4,149.0 \pm 46.7$	65.56 ± 3.53	14.32 ± 0.28
เมล็ดในของมะม่วงสุก	$3,850.0 \pm 167.0$	80.20 ± 7.23	15.49 ± 0.31

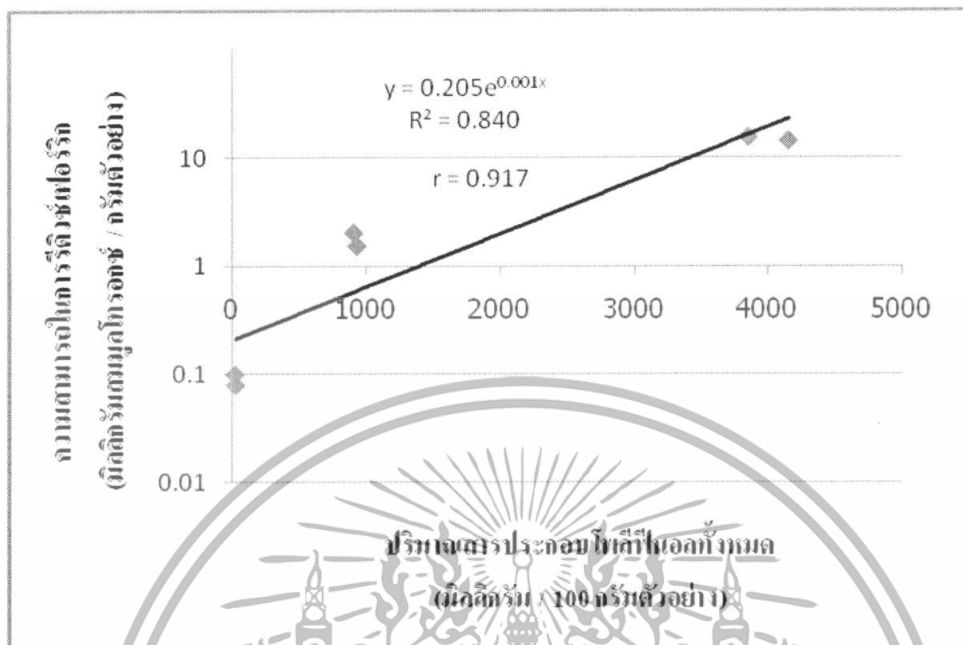
เพื่อให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างจากส่วนต่างๆของมะม่วงฟ้าลั่นชัดเจนขึ้น จึงนำข้อมูลในตารางที่ 4.6 มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ของค่าดังกล่าว โดยเขียนกราฟระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือกเนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นในแกน x กับค่าความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ ในแกน y แสดงดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

จากภาพที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับความสามารถในการทำลายนุมูลอิสระ DPPH มีลักษณะเป็นแบบแปรผันตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.982 จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่า ตัวอย่างจากส่วนใดของมะม่วงฟ้าลั่นที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงก็จะมีความสามารถในการทำลายนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีด้วย

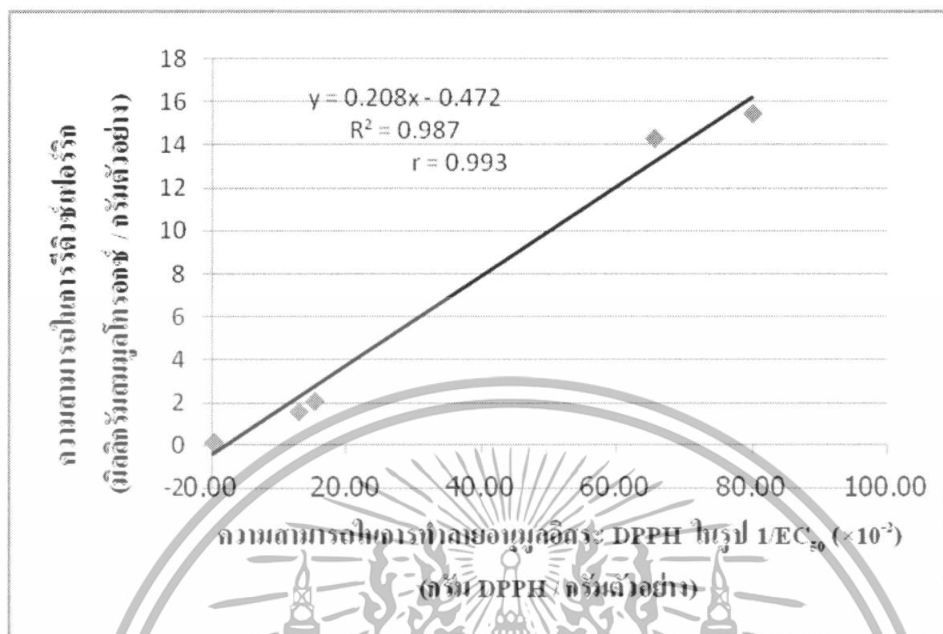
ในทำนองเดียวกัน เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก โดยเขียนกราฟระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น ในแกน x กับค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก ในแกน y ผลแสดงดังภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ไดคัลคิวไรต์ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

จากภาพที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับความความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ไดคัลคิวไรต์มีลักษณะเป็นแบบแปรผันตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.917 จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่า ตัวอย่างจากส่วนใดของมะม่วงฟ้าลั่นที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงก็จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ไดคัลคิวไรต์ได้ดีด้วยเช่นกัน

เมื่อนำข้อมูลความสามารถในการทำลายนอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ และความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ไดคัลคิวไรต์ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น มาหาความสัมพันธ์ โดยเขียนกราฟระหว่างความสามารถในการทำลายนอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ ในแกน x และความสามารถในการรีดิวซ์เพอร์ร็อกซ์ไดคัลคิวไรต์ ในแกน y ผลแสดงดังภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป 1/EC₅₀ และความสามารถในการรีดิวซ์เปอร์ออกไซด์ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

จากภาพที่ 4.6 จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เปอร์ออกไซด์มีลักษณะเป็นแบบแปรผันตรง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.993 จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่า ตัวอย่างจากส่วนใดของมะม่วงฟ้าลั่นที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี ก็จะมีความสามารถในการรีดิวซ์เปอร์ออกไซด์ด้วย

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างมะม่วงฟ้าลั่นดิบและสุกทั้งในส่วนเปลือก เนื้อ และเมล็ดใน พบว่า เมื่อมะม่วงสุกปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ในขณะที่ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เปอร์ออกไซด์กลับมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในมะม่วงมีสารประกอบอื่น ๆ ที่มีสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เช่นเดียวกับสารประกอบโพลีฟีนอล ตัวอย่างเช่น วิตามินซี วิตามินอี แคโรทีนอยด์ เป็นต้น และเมื่อมะม่วงสุกสารประกอบบางชนิด โดยเฉพาะแคโรทีนอยด์จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงมาก (Ajila และคณะ, 2007a) ในขณะที่ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดลดลงเพียงเล็กน้อย ภาพรวมจึงทำให้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงสุกมีค่าเพิ่มขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพ ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น โดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มมะม่วงดิบ และกลุ่มมะม่วงสุก พบว่าเปลือกมะม่วงมีค่าความสว่าง ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อสุก เนื้อมะม่วงมีค่าความสว่างลดลง ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อสุก ค่าความเป็นกรดต่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในเนื้อมะม่วงสุก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดที่มีแนวโน้มลดลง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในเนื้อมะม่วงสุก ส่วนปริมาณความชื้นนั้นพบว่า เมื่อมะม่วงสุกเปลือกและเนื้อของมะม่วงมีปริมาณความชื้นลดลง ในขณะที่เมล็ดในของมะม่วงมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก พบว่า เมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นทั้งดิบและสุกมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูงที่สุด โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 4,149.0 ถึง 3,850.0 มิลลิกรัม / 100 กรัมตัวอย่าง ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สูงที่สุดด้วย โดยมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ อยู่ในช่วง 65.56 ถึง 80.20 กรัม DPPH / กรัม ตัวอย่าง และมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกอยู่ในช่วง 14.32 ถึง 15.49 มิลลิกรัมสมมูลโทโรกซ์ / กรัมตัวอย่าง รองลงมาคือเปลือก และเนื้อตามลำดับ โดยในเปลือก เนื้อ และเมล็ดของมะม่วงฟ้าลั่นดิบจะมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีปริมาณสูงกว่าในเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นสุกเล็กน้อย ในขณะที่ในเปลือก เนื้อ และเมล็ดของมะม่วงสุกมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกได้ดีกว่ามะม่วงดิบเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น พบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงอย่างชัดเจนกับ ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.982 และ 0.917 ตามลำดับ จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ข้างต้นสามารถกล่าวได้ว่า หากในตัวอย่างจากส่วนใดของมะม่วงมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดสูง ก็จะมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกได้ดีด้วย และเมื่อพิจารณา

ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น พบว่ามีลักษณะแปรผันตรงอย่างชัดเจน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.993 จึงสรุปได้ว่าตัวอย่างจากส่วนใดของมะม่วงฟ้าลั่นที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีจะมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกได้ดีด้วย



เอกสารอ้างอิง

- เกียรติเกษร กาญจนพิสุทธ์. 2547. คู่มือมะม่วง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์เทพพิทักษ์.
272 หน้า.
- รัชชชัย รัตน์ชเลศ และ ศิวาพร ธรรมดี. 2542. พันธุ์ไม้ผลการค้าในประเทศไทย : คู่มือเลือกพันธุ์
สำหรับปลูก. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์ริ้วเขียว. 292 หน้า.
- ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2545. ผลไม้ไทยๆ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สหมิตรพรินติ้ง. 142 หน้า.
- พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2546. อนุมูลอิสระ(free radicals)/สารต้านอนุมูลอิสระ(antioxidant). R&D
Newsletter. 10(3) : 18-21.
- ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม. 2538. การผลิตกลูโคสซีรัปจากข้าวเหนียวโดยใช้หมอลดและหมอลดแห้ง
จากข้าวเปลือก. อาหาร. 25(4) : 243-254.
- ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม และวันทนี ช่างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบสารประกอบโพลีฟีนอล
ทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้ม
สายพันธุ์ต่างๆที่ปลูกในประเทศไทย. อาหาร. 32 (4) : 300-307.
- ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม. 2549. สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในพืชที่ใช้เป็นอาหาร. หนังสือ 25 ปี
อุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ
: บริษัทเอสทีซี & มาเก็ตติ้ง จำกัด. 78-90.
- วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2545. บทบาทของสารประกอบฟีนอลต่อสุขภาพ. อาหาร. 32(4) : 245-253.
- วัลยา เนาวรัตน์วัฒนา และพัชรีย์ บุญศิริ. 2542. โปรออกซิเดนท์อีกโฉมหน้าของโปรออกซิเดนท์.
วิทยาศาสตร์. 53(3) : 196-198.
- อริกา จารุโชติกรมล. 2543. ฤทธิ์ต้านออกซิเดนท์ของผักแพว = Antioxidant activity of *Polygonum
odoranum* Lour.. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 90 หน้า.
- อัญชญา เจนวิถีสุข. 2544. การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและ
สมุนไพรไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ.
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 1-14.
- Ajila,C.M., Naidu,K.A., Bhat,S.G., Prasada Rao,U.J.S.. 2007a. Bioactive compounds and
antioxidant potential of mango peel extract. Food Chemistry. 105 : 982-988.
- Ajila,C.M., Bhat,S.G., Prasada Rao,U.J.S.. 2007b. Valuable components of raw and ripe peels
from two Indian mango varieties. Food Chemistry. 102 : 1006-1011.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- AOAC (1990). Official Method of Analysis. Association of official Analytical Chemists, Inc, Virginia. 1298 p. Gould, W.A.1977. Food Quality Assurance, The Avl Publishing Company, Inc. Connecticut. 314.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International, (17th ed.), Gaithersburg, MD, USA: AOAC.
- Benzie, I.F.F., 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., Kno' dler,M., Schieber,A., Carle,R. . 2005. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 6 : 442–452.
- Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T. 2004. Effect of thermal treatment on radical scavenging activity of single and mixed polyphenolic compounds. *Journal of Food Science*. 69 : FCT7-FCT10.
- Soong,Y.Y., Barlow,P.J. 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selescted fruit seeds. *Food Chemistry*. 88 : 411-417.
- โครงสร้างของแซนโทน. [ออนไลน์] . เข้าถึงได้จาก :
http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/top/glossaryq_z.html#X
- โครงสร้างของแมนจิเฟอริน. [ออนไลน์] . เข้าถึงได้จาก :
http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/top/glossaryq_z.html#X
- โครงสร้างของสารในกลุ่มของฟลาโวนอลบางชนิด. [ออนไลน์] . เข้าถึงได้จาก :
[http://www.ualberta.ca/~csp/JPPS7\(3\)/I.Kanfer/ginkgo.htm](http://www.ualberta.ca/~csp/JPPS7(3)/I.Kanfer/ginkgo.htm)
- โครงสร้างของสารในกลุ่มของแคโรทีนอยด์บางชนิด. [ออนไลน์] . เข้าถึงได้จาก :
<http://www.cyberlipid.org/simple/simp0002.htm>
- โครงสร้างของวิตามินอี. [ออนไลน์] . เข้าถึงได้จาก :
<http://chemistry.about.com/library/graphics/blvitamine.htm>
- โครงสร้างของวิตามินซี. [ออนไลน์] . เข้าถึงได้จาก :
<http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=69>

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH meter)

การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างของตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นดิบและสุก มีขั้นตอนดังนี้ เตรียมตัวอย่างเนื้อมะม่วง โดยนำเนื้อมะม่วงมาปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้จนสังเกตเห็นว่าเนื้อมะม่วงละเอียด จากนั้นจึงนำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง บีบคั้นน้ำลงในบีกเกอร์ แล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรดต่าง

ผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างของตัวอย่างเนื้อมะม่วงดิบและสุก ด้วยเครื่องวัดพีเอช แสดงดังตารางที่ ก.1

ตารางที่ ก.1 ค่าความเป็นกรดต่างของตัวอย่างเนื้อมะม่วงดิบและสุก

ตัวอย่าง	ค่าพีเอช			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เนื้อมะม่วงดิบ	4.3	4.3	4.3	4.3
เนื้อมะม่วงสุก	5.2	5.2	5.1	5.17

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นใช้วิธีของ AOAC (2000) ค่าความเป็นกรดที่วัดได้นิยมเรียกว่า total tritratable acidity โดยทั่วไปจะรายงานค่าความเป็นกรดเป็นปริมาณของกรดอินทรีย์ที่มีมากที่สุดในตัวอย่าง ถึงแม้จะมีกรดชนิดอื่นๆเป็นองค์ประกอบอยู่ในตัวอย่งนั้นด้วยก็ตาม ซึ่งมีวิธีในการวิเคราะห์ดังนี้ โดยผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าลั่น แสดงดังตารางที่ ข.1

อุปกรณ์

1. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ปีเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
4. กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 500 มิลลิลิตร
6. บีกเกอร์ ขนาด 100 และ 300 มิลลิลิตร
7. แท่งแก้วคนสาร
8. ช้อนตักสาร

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (N)
2. ฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) ความเข้มข้น 1%
3. เอทานอล (ethanol) ความเข้มข้น 95%
4. โพแทสเซียมพทาเลต (potassium phthalate)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย NaOH มาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.1N (โดยประมาณ) โดยชั่ง NaOH 2 กรัมละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป standardize ด้วยสารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียมพทาเลต ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$)

วิธี standardize สารละลาย NaOH ทำโดย

- 1) ละลาย $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ ที่ผ่านการอบแห้ง ที่ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นใน desicator ปริมาณ 0.6000-0.7000 กรัม ในน้ำกลั่น 50-75 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่
- 2) หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1% ในสารละลาย $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ จำนวน 2 หยด
- 3) นำไปไทเทรตกับสารละลาย NaOH ที่บรรจุอยู่ในบิวเรต จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนที่คงตัว โดยทำการไทเทรต 3 ครั้ง บันทึกปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

$$\text{Normality ของ NaOH} = \frac{\text{จำนวนกรัม KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4 \times 1000}{\text{มิลลิลิตร NaOH} \times 240.229}$$

2. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1%

ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ในเอธานอล 95% 100 มิลลิลิตร

การสกัดตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อมะม่วง 15 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 300 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วนำมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ความเร็วสูง
3. ต้มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. กรองสารตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าล้น 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนลงไป 2-3 หยด
3. ไทเทรตด้วยสารละลาย NaOH มาตรฐาน จนได้สีชมพูจางๆคงที่ บันทึกปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ใช้ในไทเทรต ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง
4. คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในสารละลายตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าล้น

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\%)} = \frac{(V)(N)(eq.Wt.)(100)}{(1000)(v)}$$

- เมื่อ V = ปริมาณของสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท
 N = normality ของสารละลายมาตรฐาน NaOH เท่ากับ 0.0106
 v = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (5 มิลลิลิตร)
 Eq.Wt. = น้ำหนักสมมูลของกรดซिटริกเท่ากับ 64 กรัม

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณกรดทั้งหมด

เนื้อมะม่วงดิบ (ครั้งที่ 1) ปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างเนื้อมะม่วงดิบ ในการวิเคราะห์ครั้งที่ 1 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท เท่ากับ 3.6 มิลลิลิตร และ normality ของสารละลายมาตรฐาน NaOH เท่ากับ 0.0106

$$\text{แทนค่าจากสูตร ปริมาณกรดทั้งหมด (\%)} = \frac{3.6 \times 0.0106 \times 64 \times 100}{1000 \times 5}$$

$$= 0.049 \%$$

ดังนั้น ปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างเนื้อมะม่วงดิบในการวิเคราะห์ครั้งที่ 1 เท่ากับ 0.049%

ตารางที่ ข.1 ปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างสารสกัดจากเนื้อมะม่วงฟ้าล้น

ตัวอย่าง	ปริมาณกรดทั้งหมด (% เทียบกับกรดซิทริก)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เนื้อมะม่วงดิบ	0.049	0.047	0.049	0.048
เนื้อมะม่วงสุก	0.015	0.014	0.014	0.014

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำที่บีบคั้นได้จากเนื้อมะม่วงฟ้าลั่น โดยใช้ hand refractometer แสดงดังตารางที่ ค.1

ตารางที่ ค.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำที่บีบคั้นได้จากเนื้อมะม่วงฟ้าลั่น

ตัวอย่าง	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าลั่น (องศาบริกซ์)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เนื้อมะม่วงดิบ	9.6	9.8	9.0	9.5
เนื้อมะม่วงสุก	20.2	19.6	19	19.6

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS method ตามวิธีที่รายงานโดยประพันธ์ (2538) มีขั้นตอนดังนี้ โดยผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าลั่น แสดงดังตารางที่ ง.1

การเตรียมสารเคมี

1. Dinitrosalicylic reagent (DNS reagent)

ละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid 1 กรัม ใน 2 N NaOH 20 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรจากนั้นเติม Potassium sodium tartrate ลงไป 30 กรัม คนให้ละลาย ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

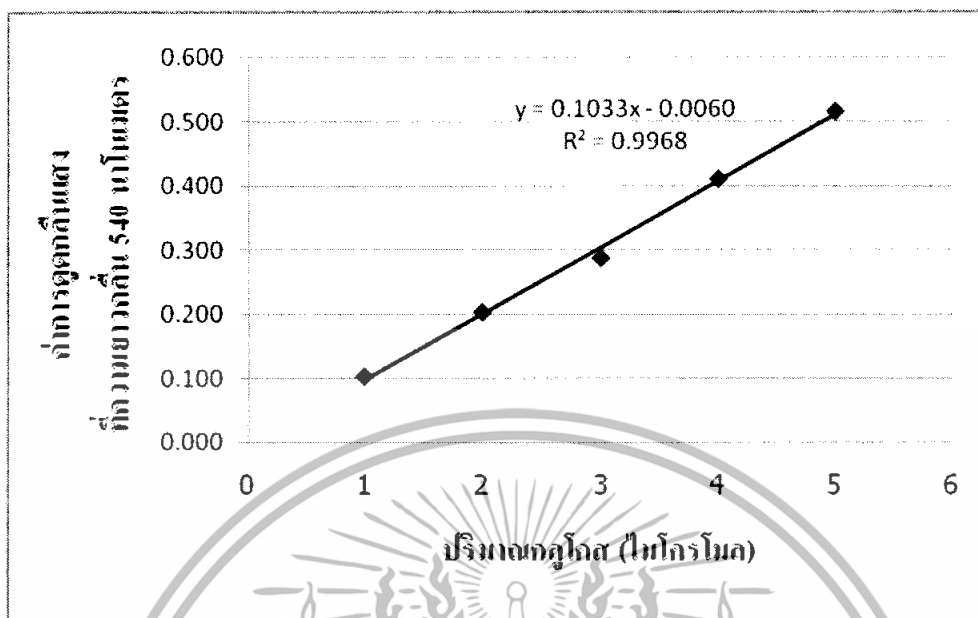
2. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เตรียมสารละลายกลูโคสที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง (MW = 180.2) โดยละลายกลูโคส 0.0901 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมล/มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส

ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (5.0 ไมโครโมล/มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น โดยปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม DNS reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เข้มหลอดลงในน้ำเดือดนาน 3 นาที แล้วนำมาแช่ในน้ำเย็นทันที เติมน้ำกลั่นในแต่ละหลอด 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยหลอดเปรียบเทียบกับ (blank) ใช้ น้ำกลั่นแทนสารละลายกลูโคส เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกลูโคสในแต่ละหลอดจะได้เป็นกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสที่แสดงดังภาพที่ ง.1



ภาพที่ ๑.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

2. การสกัดตัวอย่าง

ซึ่งตัวอย่างเนื้อมะม่วง 15 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจากนั้นกรองโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ปรับปริมาตรสารสกัดตัวอย่างที่ได้ให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่าง

ปิเปตตัวอย่างสารสกัดที่เตรียมได้มา 0.2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 0.8 มิลลิลิตร เติมน้ำ DNS reagent 1 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าหลอดทดลองลงในน้ำเดือดนาน 3 นาที แล้วนำมาแช่ในน้ำเย็นทันที เมื่อเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วเติมน้ำกลั่นอีก 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสามารถคำนวณได้โดยใช้กราฟของสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

ตัวอย่างการคำนวณ

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างเนื้อมะม่วงดิบ

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส

$$y = 0.1033x - 0.0060$$

ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดเนื้อมะม่วงดิบที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

เท่ากับ 0.182

แทนค่า 0.182 ลงใน y จะได้

$$0.182 = 0.1033x - 0.0060$$

$$x = 1.820 \text{ ไมโครโมล} / 0.2 \text{ มิลลิลิตรของเนื้อมะม่วงดิบ}$$

ตัวอย่างสารสกัด 0.2 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 1.820 ไมโครโมล

ตัวอย่างสารสกัด 100 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ $\frac{100 \times 1.820}{0.2} = 910$ ไมโครโมล

โดยที่ตัวอย่างสารสกัด 100 มิลลิลิตรนั้นมีเนื้อตัวอย่างมะม่วงดิบอยู่ 15 กรัม

ดังนั้นเนื้อตัวอย่างมะม่วงดิบ 15 กรัม จึงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 910 ไมโครโมล

ตัวอย่างมะม่วงดิบ 100 กรัมมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ $\frac{100 \times 910}{15} = 6,066.667$ ไมโครโมล

1 โมล กลูโคสหนักเท่ากับ 180.2 กรัม

1 ไมโครโมล กลูโคสหนักเท่ากับ 180.2 ไมโครกรัม

ดังนั้น 6066.67 ไมโครโมล เท่ากับ $\frac{6066.67 \times 180.2}{1}$

$$= 1,093,213 \text{ ไมโครกรัมกลูโคส} / 100 \text{ กรัมตัวอย่าง}$$

$$= 1,093.213 \text{ มิลลิกรัมกลูโคส} / 100 \text{ กรัมตัวอย่าง}$$

ตารางที่ ง.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าลั่น

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมกลูโคส / 100 กรัมตัวอย่าง)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
เนื้อมะม่วงดิบ	1,093.21	1,093.21	1,087.36	1,091.26
เนื้อมะม่วงสุก	1,750.25	1,703.73	1,767.69	1,740.56

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างมะม่วงฟ้าลั่น

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น (AOAC,2000)

1) อุปกรณ์

- 1.1 ถ้วยอลูมิเนียม(Aluminium can)
- 1.2 ตู้อบความชื้น(Hot air oven)
- 1.3 โถดูดความชื้น(Desicator)
- 1.4 Tong
- 1.5 เครื่องชั่งละเอียด4ตำแหน่ง
- 1.6 ช้อนตักสาร

2) วิธีการทดลอง

- 2.1 นำถ้วยอลูมิเนียมอบที่อุณหภูมิ 130+ 3 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่
- 2.2 ชั่งตัวอย่างมะม่วงตัวอย่างละ 5 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียด ใส่ในถ้วยอลูมิเนียม
- 2.3 นำไปอบในตู้อบความชื้นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่
- 2.4 ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
- 2.5 ชั่งน้ำหนัก
- 2.6 คำนวณหาปริมาณความชื้นโดยใช้สูตร

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol content)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในส่วน เปลือก เนื้อ และเมล็ดใน มะม่วงฟ้าลั่น จะใช้วิธีที่รายงานโดย ประพันธ์ และวันทนี (2545) โดยสารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่มีการดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารประกอบฟีนอลมาตรฐาน

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

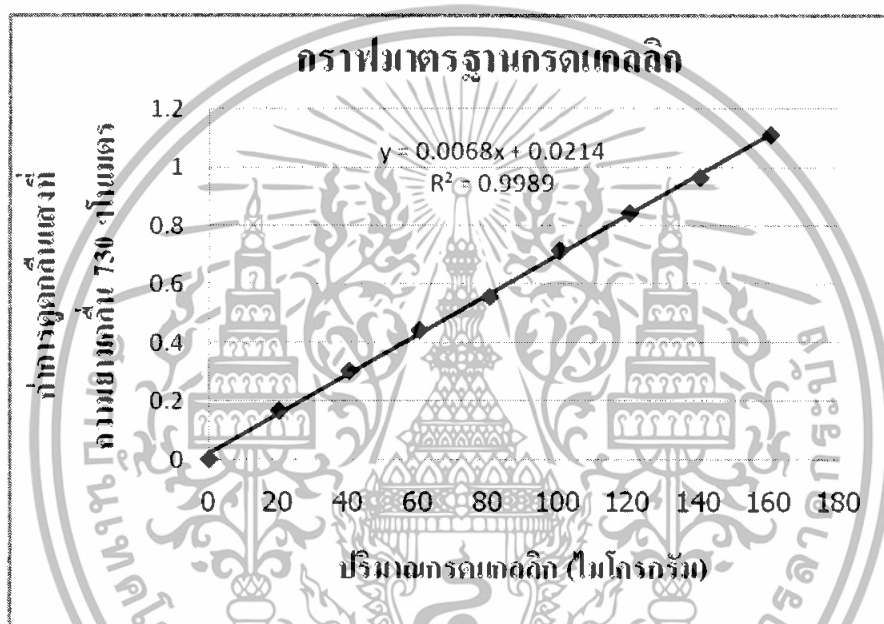
ละลายกรดแกลลิก 0.0400 กรัม ในเอธานอล 95% แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร ได้เป็นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร โดยให้มีปริมาณกรดแกลลิกตั้งแต่ 0 ถึง 160 ไมโครกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ ฉ.1

ตารางที่ ฉ.1 การเตรียมหลอดทดลองสำหรับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

หลอดที่	ปริมาตรของสารละลายกรดแกลลิก (ไมโครลิตร)	ปริมาณกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)	ปริมาตรน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
1	0	0	10.00
2	50	20	9.95
3	100	40	9.90
4	150	0	9.85
5	200	80	9.80
6	250	100	9.75
7	300	120	9.70
8	350	140	9.65
9	400	160	9.60

เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หลอดละ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร นำผลที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดกลูคิกในหน่วยไมโครกรัม จะได้เป็นกราฟมาตรฐานของกรดกลูคิก ดังภาพที่ ฌ.1



ภาพที่ ฌ.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดกลูคิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกเนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมเป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หลอดละ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างเปลือกเนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดกลูคิก

การคำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ด
ในของมะม่วงฟ้าลั่น

ตารางที่ ๓.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ของสารละลายกรดแกลลิก

มาตรฐาน

ปริมาณกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
0	0.000	0.000	0.000	0.000
20	0.168	0.167	0.167	0.167
40	0.300	0.305	0.306	0.304
60	0.447	0.435	0.447	0.443
80	0.564	0.536	0.573	0.557
100	0.731	0.713	0.702	0.715
120	0.846	0.845	0.839	0.843
140	0.960	0.973	0.961	0.965
160	1.098	1.116	1.119	1.111

ตารางที่ ๓.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ของตัวอย่างเปลือก เนื้อ และ
เมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
เปลือกมะม่วงดิบ	0.541	0.526	0.527	0.531
เปลือกมะม่วงสุก	0.518	0.520	0.515	0.518
เนื้อมะม่วงดิบ	0.190	0.187	0.191	0.189
เนื้อมะม่วงสุก	0.161	0.162	0.173	0.165
เมล็ดในของมะม่วงดิบ	0.582	0.593	0.582	0.586
เมล็ดในของมะม่วงสุก	0.529	0.535	0.571	0.545

การคำนวณ

การคำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

สมการจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

$$y = 0.0068x + 0.0214 ; R^2 = 0.9989$$

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

x = ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (ไมโครกรัม / 0.8 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

c = จุดตัดแกน y

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดจากตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าล้นดิบ

ครั้งที่ 1 ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าล้นดิบ 0.8 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร เท่ากับ 0.541

แทนค่าในสูตรจะได้

$$0.541 = 0.0068x + 0.0214$$

$$x = 76.41 \text{ ไมโครกรัม} / 0.8 \text{ มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง}$$

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด = 76.41 ไมโครกรัม / 0.8 มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด = 9,551.47 ไมโครกรัม / 100 มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง

ในสารสกัดตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าล้นดิบ 100 มิลลิลิตร มีปริมาณตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าล้นดิบ 1 กรัม

ดังนั้น

สารสกัดตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด = 9,551.47 ไมโครกรัม /

1 กรัมของตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าล้นดิบ

สกัดตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด = 955,147.06 ไมโครกรัม /

100 กรัมของตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าล้นดิบ

สกัดตัวอย่างมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด = 955.15 มิลลิกรัม /

100 กรัมของตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าล้นดิบ

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ ของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น จะใช้วิธีที่รายงานโดย Murakami และคณะ (2004) วิธีนี้จะอาศัยการติดตามความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการยับยั้งอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl หรือ DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ทำให้สารละลายมีสีม่วงและสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 517 นาโนเมตร ดังนั้นถ้าสารตัวอย่างมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระของสารดังกล่าวได้ดี จะทำให้มีสีม่วงจางลงมาก

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH

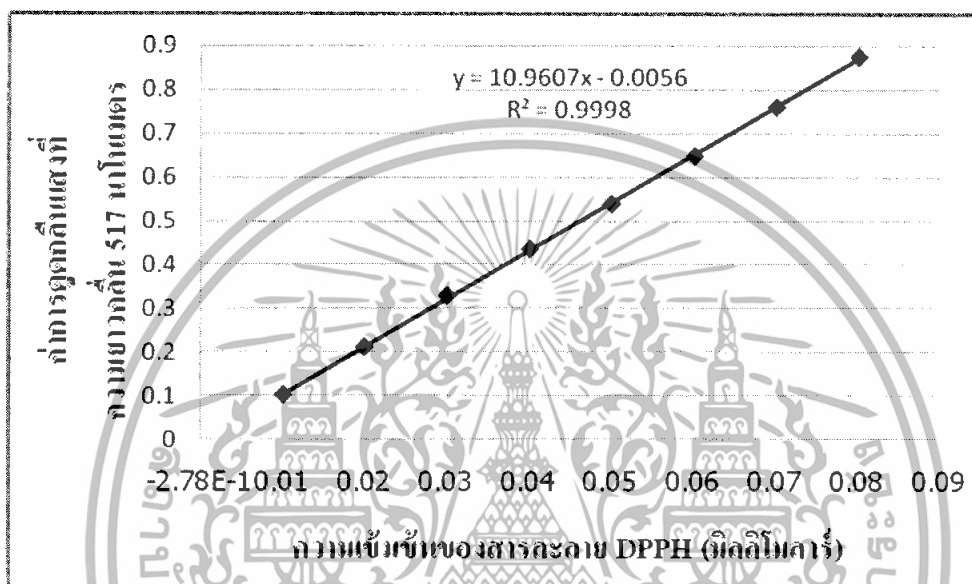
เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นปีเปิดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ในขวดปรับปริมาตร จะได้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.08 มิลลิโมลาร์

ปีเปิดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.08 มิลลิโมลาร์ ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร โดยให้ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.08 มิลลิโมลาร์ เติมเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ปรับปริมาตรรวมในแต่ละหลอดให้เป็น 6 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ ข.1

ตารางที่ ข.1 การเตรียมหลอดทดลองสำหรับกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH

หลอดที่	ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์)	ปริมาตรของสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.08 มิลลิโมลาร์ (มิลลิลิตร)	ปริมาตรของเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (มิลลิลิตร)
1	0.01	0.75	5.25
2	0.02	1.50	4.50
3	0.03	2.25	3.75
4	0.04	3.00	3.00
5	0.05	3.75	2.25
6	0.06	4.50	1.50
7	0.07	5.25	0.75
8	0.08	6.00	0.00

ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำผลที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์) จะได้เป็นกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH ดังภาพที่ ข.1



ภาพที่ ข.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย DPPH และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

2. การวิเคราะห์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ปีเปตสารสกัดตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นมาทำการเจือจางด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้นต่างๆกัน 7 ระดับ โดยปีเปตสารสกัดตัวอย่างปริมาตรที่เหมาะสมลงในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรรวมเท่ากับ 5.4 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ (ซึ่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอทานอล 95% 50 มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และเตรียมปฏิกิริยาควบคุม (control) โดยใช้เอทานอล 95% แทนตัวอย่างสารสกัด จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้สมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH} = \left(1 - \left(\frac{[DPPH]_T}{[DPPH]_{T=0}} \right) \right) \times 100$$

โดยที่ $[DPPH]_T$ = ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ของตัวอย่างสารสกัด

$[DPPH]_{T=0}$ = ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ของปฏิกิริยาควบคุม (control)

จากนั้นนำค่าเปอร์เซ็นต์การทำลายอนุมูลอิสระ 7 ค่า ที่ได้จากการเจือจางตัวอย่าง 7 ระดับข้างต้นมาวิเคราะห์ค่า $1/EC_{50}$ โดยเขียนกราฟระหว่างปริมาตรตัวอย่างสารสกัด ในแกน x กับเปอร์เซ็นต์การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในแกน y จะได้เป็นกราฟเส้นตรง จากนั้นใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟในการคำนวณค่า $1/EC_{50}$ ซึ่งค่า EC_{50} หมายถึง ค่าความเข้มข้นหรือปริมาณของตัวอย่าง ณ จุดที่ทำให้ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ หรือการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันต่างๆมีค่าเท่ากับ 50 % ดังนั้นความเข้มข้นของสารสกัดจากตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น ที่เจือจาง 7 ระดับจะต้องมีค่าที่เหมาะสม ซึ่งจะให้กราฟเส้นตรงที่ครอบคลุมเปอร์เซ็นต์การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ 50 % ตกอยู่ในเส้นกราฟ

การคำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในรูป $1/EC_{50}$ ในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ตารางที่ ข.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารละลาย DPPH

ความเข้มข้นของ สารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
0.01	0.102	0.105	0.102	0.103
0.02	0.211	0.213	0.212	0.212
0.03	0.320	0.338	0.329	0.339
0.04	0.436	0.433	0.436	0.435
0.05	0.545	0.533	0.539	0.539
0.06	0.643	0.650	0.648	0.647
0.07	0.761	0.762	0.760	0.761
0.08	0.874	0.875	0.876	0.875

การคำนวณ

การคำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

สมการจากกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH

$$y = 10.9607x - 0.0056 ; R^2 = 0.9998$$

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

x = ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH

c = จุดตัดแกน y

สมการการคำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH} = \left(1 - \left(\frac{[DPPH]_T}{[DPPH]_{T=0}} \right) \right) \times 100$$

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัด แทนค่าในสมการจากกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ($[DPPH]_T$) จากนั้นนำค่าความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ($[DPPH]_T$) ที่คำนวณได้แทนลงในสมการการคำนวณความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH จะได้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH แล้วนำมาสร้างกราฟ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณตัวอย่างสารสกัด (มิลลิลิตร) กับเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH และนำสมการที่ได้จากกราฟมาคำนวณหาค่า $1/EC_{50}$ จากสมการ EC_{50} ต่อไป

สมการเส้นตรงจากกราฟ : $y = ax + b$

เมื่อ a = ความชันของกราฟ

b = จุดตัดแกน y

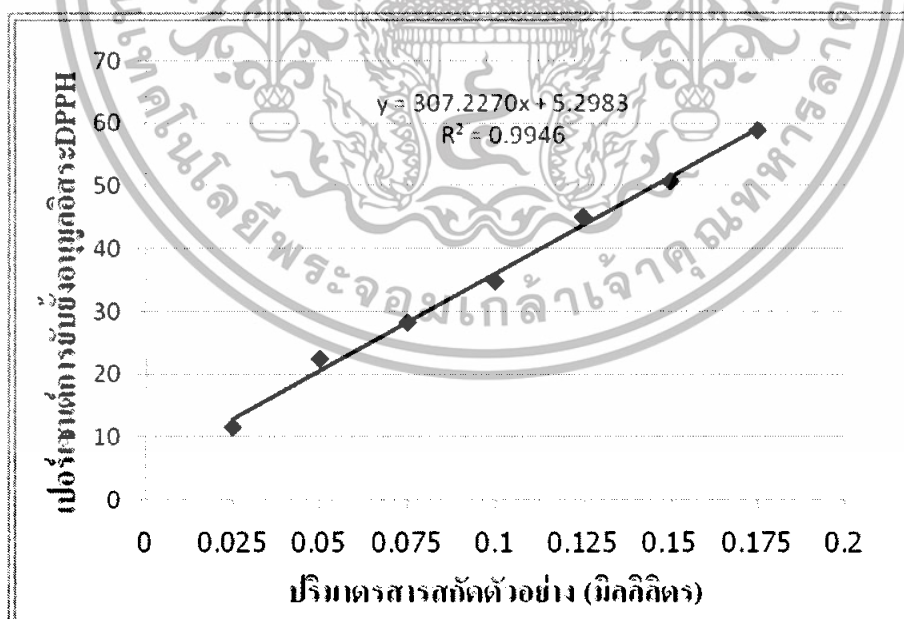
สมการ EC_{50} : $EC_{50} = \frac{(50 - b)}{a}$

$$1/EC_{50} = \left(\frac{1}{\left(\frac{50 - b}{a} \right)} \right)$$

ตัวอย่างการคำนวณ

ตารางที่ ข.3 ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเปลือกมะม่วงฟ้าลั่นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

ปริมาตรสารสกัดตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย		
0.025	0.763	0.777	0.779	0.773	8.467	11.66
0.050	0.679	0.680	0.675	0.678	7.426	22.53
0.075	0.616	0.644	0.622	0.627	6.870	28.32
0.100	0.560	0.576	0.575	0.570	6.246	34.84
0.125	0.475	0.485	0.482	0.481	5.263	45.09
0.150	0.422	0.438	0.433	0.431	4.718	50.77
0.175	0.366	0.358	0.355	0.360	3.937	58.93



ภาพที่ ข 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเปลือกมะม่วงฟ้าลั่นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

จากตารางที่ ข.3 และภาพที่ ข.2 จะได้สมการเส้นตรง ดังนี้

$$\text{สมการเส้นตรง } y = 307.2270x + 5.2983 ; R^2 = 0.9946$$

เมื่อ $a = 307.2270$ และ $b = 5.2983$

$$\text{สมการ } EC_{50} : EC_{50} = (50 - b) / a$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่าในสูตร } EC_{50} &= (50 - 5.2983) / 307.2270 \\ &= 0.146 \text{ มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง} \end{aligned}$$

คำนวณหา $1/EC_{50}$ ในหน่วยกรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง ดังนี้

ในสารละลาย DPPH 50 มิลลิลิตร มี DPPH ละลายอยู่ 0.0158 กรัม

ปีเปตสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตร มี DPPH ละลายอยู่ 0.0001896 กรัม

ดังนั้น ในสารละลาย DPPH 0.6 มิลลิลิตร มีจำนวน DPPH เท่ากับ 0.00019 กรัม

ในสารสกัดตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร มีตัวอย่างเปลือกมะม่วง 1 กรัม

ดังนั้น สารสกัดตัวอย่าง 0.146 มิลลิลิตร มีตัวอย่างเปลือกมะม่วง 0.00146 กรัม

(0.00146 กรัม / 0.00019 กรัม DPPH)

จากตัวอย่างเปลือกมะม่วง 0.00146 กรัม สามารถทำลายอนุมูลอิสระได้เท่ากับ 0.00019 กรัม

ดังนั้น ตัวอย่างเปลือกมะม่วง 7.68 กรัม สามารถทำลายอนุมูลอิสระได้เท่ากับ 1 กรัม

(7.68 กรัมตัวอย่าง / กรัม DPPH)

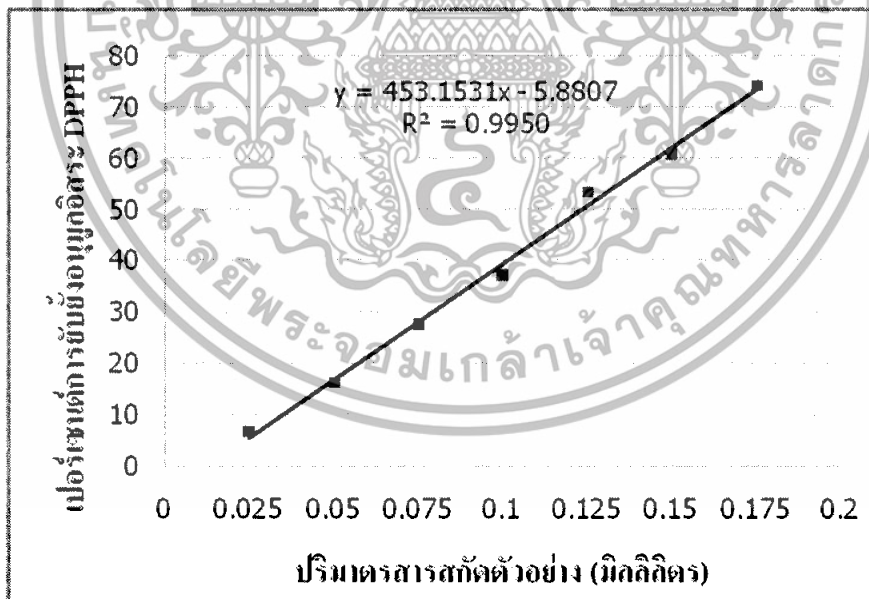
ทำให้อยู่ในรูป $1/EC_{50}$ ได้เท่ากับ 0.1302 กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง หรือเท่ากับ 13.02×10^{-2} กรัม

DPPH / กรัมตัวอย่าง

ตารางที่ ข.4 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเปลือกมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล

อิสระ DPPH

ปริมาณสารสกัดตัวอย่าง (มิลลิกรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย		
0.025	0.810	0.817	0.820	0.816	8.935	6.78
0.050	0.737	0.729	0.730	0.732	8.018	16.34
0.075	0.633	0.632	0.639	0.635	6.951	27.47
0.100	0.553	0.549	0.550	0.551	6.030	37.07
0.125	0.429	0.398	0.396	0.408	4.463	53.41
0.150	0.344	0.353	0.337	0.345	3.772	60.61
0.175	0.221	0.219	0.233	0.224	2.453	74.36

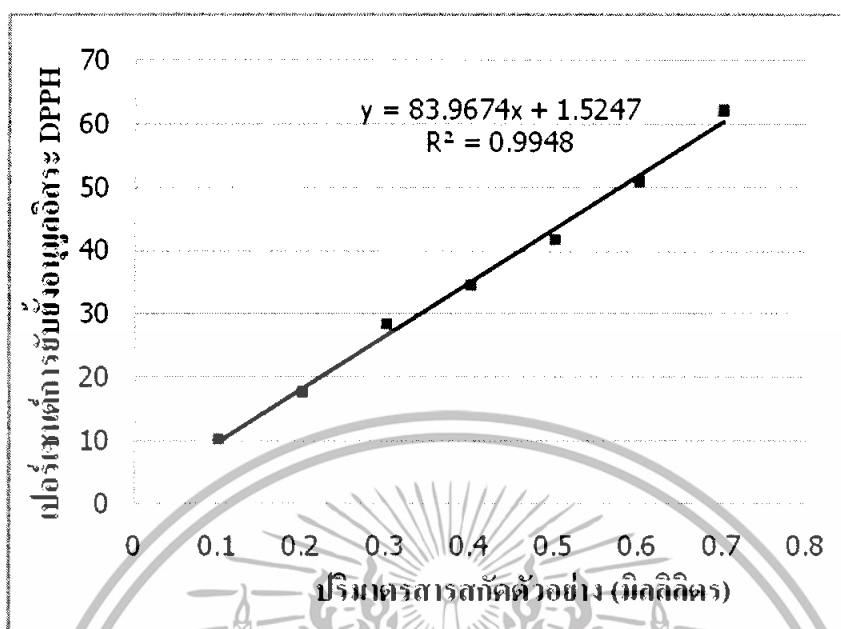


ภาพที่ ข.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเปลือกมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

จากตารางที่ ข.4 และภาพที่ ข.3 จะได้สมการเส้นตรง $y = 453.1531x - 5.8807$; $R^2 = 0.9950$ มีค่า $a = 453.1531$ และค่า $b = -5.8807$ และจากสมการ $EC_{50} = (50 - b) / a$ จะได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.123 มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง หรือเท่ากับ 6.47 กรัมตัวอย่าง / กรัม DPPH ทำให้อยู่ในรูป $1/EC_{50}$ ได้เท่ากับ 0.1546 กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง หรือเท่ากับ 15.46×10^{-2} กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง

ตารางที่ ข.5 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

ปริมาณสารสกัดตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย		
0.1	0.754	0.796	0.805	0.785	8.599	10.29
0.2	0.715	0.721	0.728	0.721	7.901	17.57
0.3	0.606	0.635	0.637	0.626	6.856	28.47
0.4	0.555	0.575	0.585	0.572	6.260	34.69
0.5	0.503	0.512	0.512	0.509	5.573	41.85
0.6	0.446	0.414	0.428	0.429	4.700	50.96
0.7	0.325	0.338	0.337	0.333	3.648	61.94

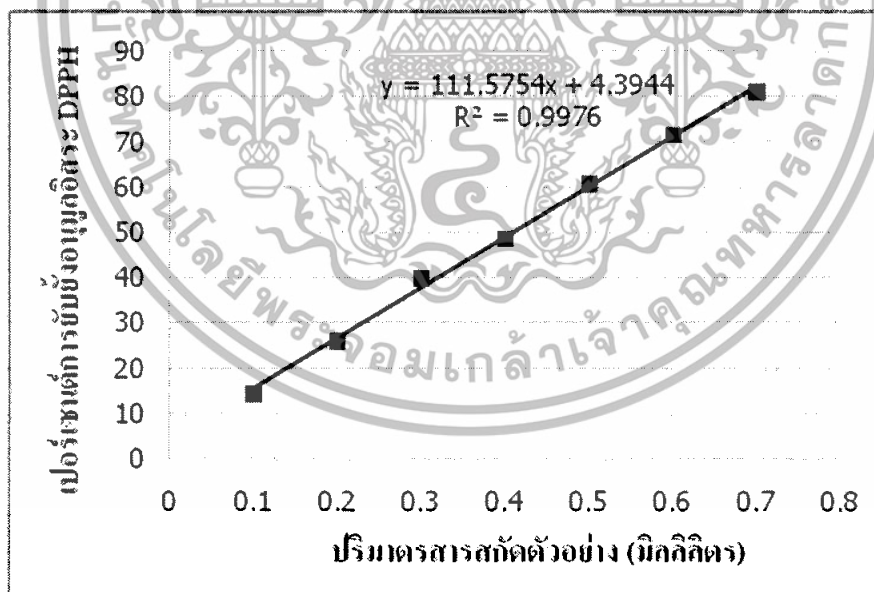


ภาพที่ ๔.๔ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

จากตารางที่ ๕.๕ และภาพที่ ๔.๔ จะได้สมการเส้นตรง $y = 83.9674x + 1.5247$; $R^2 = 0.9948$ มีค่า $a = 83.9674$ และค่า $b = 1.5247$ และจากสมการ $EC_{50} = (50 - b) / a$ จะได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.577 มิลลิกรัมของสารสกัดตัวอย่าง หรือเท่ากับ 303.68 กรัมตัวอย่าง / กรัม DPPH ทำให้อยู่ในรูป $1/EC_{50}$ ได้เท่ากับ 0.0033 กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง หรือเท่ากับ 0.33×10^{-2} กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง

ตารางที่ ข.6 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

ปริมาณสารสกัดตัวอย่าง (มิลลิกรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย		
0.1	0.748	0.753	0.745	0.749	8.200	14.45
0.2	0.643	0.645	0.651	0.646	7.079	26.15
0.3	0.514	0.533	0.528	0.525	5.749	40.02
0.4	0.437	0.449	0.460	0.449	4.912	48.75
0.5	0.339	0.340	0.350	0.343	3.754	60.84
0.6	0.252	0.245	0.248	0.248	2.716	71.66
0.7	0.3160	0.142	0.190	0.164	1.792	81.30



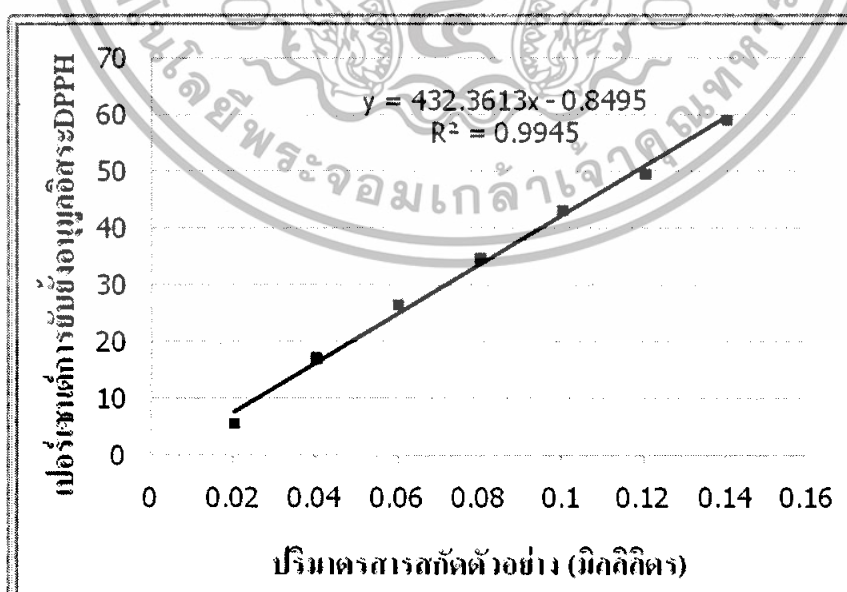
ภาพที่ ข.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

จากตารางที่ ข.6 และภาพที่ ข.5 จะได้สมการเส้นตรง $y = 111.5754x + 4.3944$; $R^2 = 0.9976$ มีค่า $a = 111.5754$ และค่า $b = 4.3944$ และจากสมการ $EC_{50} = (50 - b) / a$ จะได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.409 มิลลิกรัมของสารสกัดตัวอย่าง หรือเท่ากับ 215.26 กรัมตัวอย่าง / กรัม

DPPH ทำให้อยู่ในรูป $1/EC_{50}$ ได้เท่ากับ 0.0046 กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง หรือเท่ากับ 0.46×10^{-2} กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง

ตารางที่ ข.7 ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

ปริมาตรสารสกัดตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย		
0.02	0.826	0.820	0.831	0.826	9.044	5.64
0.04	0.718	0.728	0.730	0.725	7.945	17.11
0.06	0.643	0.642	0.642	0.642	7.035	26.61
0.08	0.579	0.567	0.566	0.571	6.249	34.80
0.10	0.506	0.484	0.500	0.497	5.438	43.26
0.12	0.468	0.419	0.436	0.441	4.828	49.63
0.14	0.354	0.365	0.355	0.358	3.918	59.12

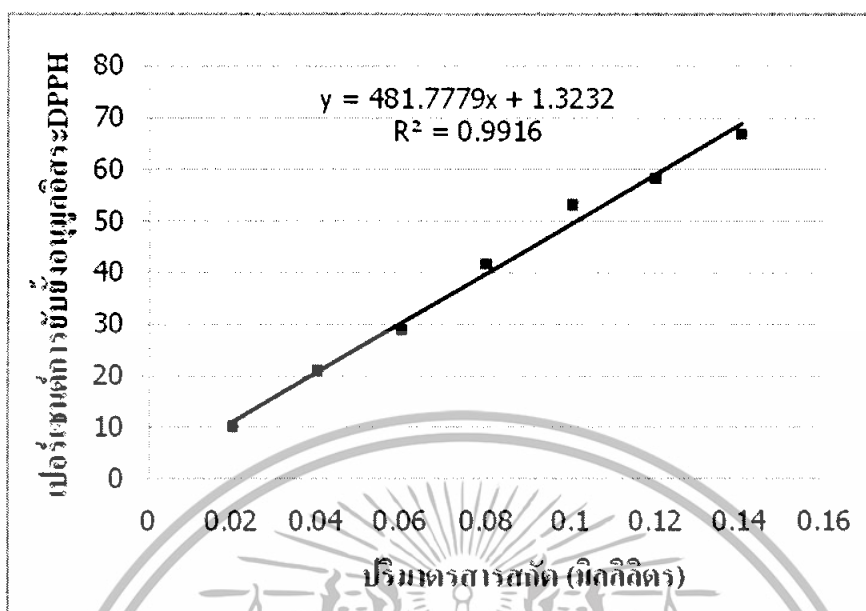


ภาพที่ ข.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรสารสกัดตัวอย่างจากเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นดิบ กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

จากตารางที่ ข.7 และภาพที่ ข.6 จะได้สมการเส้นตรง $y = 432.3613x - 0.8495$; $R^2 = 0.9945$ มีค่า $a = 432.3613$ และค่า $b = -0.8495$ และจากสมการ $EC_{50} = (50 - b)/a$ จะได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.118 มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง หรือเท่ากับ 1.55 กรัมตัวอย่าง / กรัม DPPH ทำให้อยู่ในรูป $1/EC_{50}$ ได้เท่ากับ 0.6452 กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง หรือเท่ากับ 64.52×10^{-2} กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง

ตารางที่ ข.8 ปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

ปริมาณสารสกัดตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH (มิลลิโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย		
0.02	0.827	0.775	0.764	0.789	8.639	9.87
0.04	0.703	0.689	0.689	0.694	7.597	20.74
0.06	0.633	0.614	0.620	0.622	6.816	28.89
0.08	0.542	0.507	0.484	0.511	5.595	41.62
0.10	0.409	0.411	0.418	0.413	4.518	52.87
0.12	0.359	0.359	0.378	0.365	3.999	58.28
0.14	0.280	0.292	0.301	0.291	3.184	66.78



ภาพที่ ๗.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสกัดตัวอย่างจากเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่นสุก กับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

จากตารางที่ ๗.๘ และภาพที่ ๗.๗ จะได้สมการเส้นตรง $y = 481.7779x + 1.3232$; $R^2 = 0.9916$ มีค่า $a = 481.7779$ และค่า $b = 1.3232$ และจากสมการ $EC_{50} = (50 - b) / a$ จะได้ค่า EC_{50} เท่ากับ 0.101 มิลลิกรัมของสารสกัดตัวอย่าง หรือเท่ากับ 1.33 กรัมตัวอย่าง / กรัม DPPH ทำให้อยู่ในรูป $1/EC_{50}$ ได้เท่ากับ 0.7519 กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง หรือเท่ากับ 75.19×10^{-2} กรัม DPPH / กรัมตัวอย่าง

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidant potential, FRAP)

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative potential, FRAP) จะใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Benzie และคณะ (1999) มีหลักการคือ ดูความสามารถของตัวอย่างสารสกัดในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Fe^{3+}) ให้เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย TPTZ ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน และสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 593 นาโนเมตร

1. การเตรียมสารเคมี

1.1 อะซิเตต บัฟเฟอร์ (Acetate buffer) pH 3.6 ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

ชั่ง Sodium acetate anhydrous 0.6152 กรัม ผสมกับ glacial acetic acid 4.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 250 มิลลิลิตร

1.2 สารละลาย TPTZ (2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

ชั่ง TPTZ 0.156 กรัม ละลายใน HCl ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.3 สารละลาย $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

ชั่ง $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.27 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.4 FRAP reagent

ผสมสารละลายที่เตรียมไว้ทั้งหมดดังที่กล่าวมาข้างต้น โดยให้มีอัตราส่วนของ อะซิเตต บัฟเฟอร์ : สารละลาย TPTZ : สารละลาย $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ เป็น 10 : 1 : 1 โดยปริมาตรตามลำดับ ซึ่งจะต้องเตรียมใหม่ทุกวัน

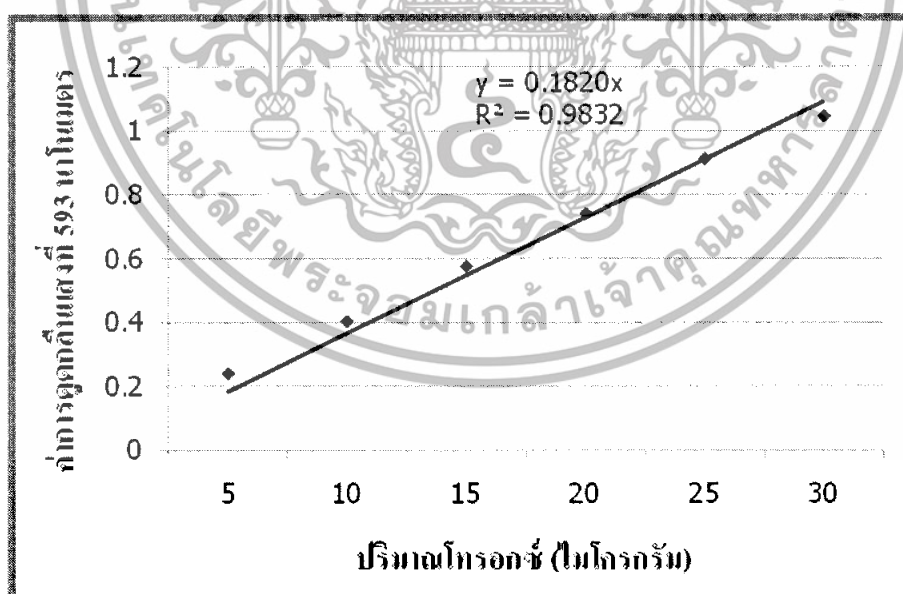
2. การเตรียมกราฟมาตรฐานโทรอกซ์

ชั่งโทรอกซ์ 0.0125 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเปิดสารละลายมาตรฐานโทรอกซ์ใส่หลอดทดลอง โดยให้แต่ละหลอดมีความเข้มข้นตั้งแต่ 5, 10, 15, 20, 25, 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 0.2 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ ข.1

ตารางที่ ข.1 การเตรียมหลอดทดลองสำหรับกราฟมาตรฐานของโทรออกซ์

หลอดที่	ปริมาตรของสารละลายโทรออกซ์ (ไมโครลิตร)	ปริมาณโทรออกซ์ (ไมโครกรัม)	ปริมาตรเอธานอล 95 % (มิลลิลิตร)
1	0.02	5	0.18
2	0.04	10	0.16
3	0.06	15	0.14
4	0.08	20	0.12
5	0.10	25	0.10
6	0.12	30	0.08

เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร นำผลที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณโทรออกซ์ในหน่วยไมโครกรัม จะได้เป็นกราฟมาตรฐานของโทรออกซ์ ดังภาพที่ ข.1



ภาพที่ ข.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโทรออกซ์และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ปิเปตตัวอย่างสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น ปริมาตร 0.1, 0.2 และ 0.1 มิลลิลิตร ตามลำดับ ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 6 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร คำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในตัวอย่างเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของโทรอกซ์

การคำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ตารางที่ ซ.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานโทรอกซ์

ปริมาณโทรอกซ์ (ไมโครกรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
5	0.281	0.233	0.205	0.240
10	0.405	0.401	0.399	0.402
15	0.588	0.591	0.545	0.575
20	0.739	0.750	0.731	0.740
25	0.909	0.914	0.914	0.912
30	1.092	1.057	0.988	1.046

ตารางที่ ข.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ของตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกเนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงฟ้าลั่น

ตัวอย่างสารสกัด	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
เปลือกมะม่วงดิบ	0.283	0.305	0.252	0.280
เปลือกมะม่วงสุก	0.371	0.373	0.366	0.370
เนื้อมะม่วงดิบ	0.298	0.305	0.276	0.293
เนื้อมะม่วงสุก	0.366	0.376	0.347	0.363
เมล็ดในของมะม่วงดิบ	0.647	0.666	0.642	0.652
เมล็ดในของมะม่วงสุก	0.694	0.721	0.700	0.705

การคำนวณ

การคำนวณความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

สมการจากกราฟมาตรฐานของโทรอกซ์

$$y = 0.1820x ; R^2 = 0.9832$$

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

x = ปริมาณโทรอกซ์ (ไมโครกรัม / 0.2 หรือ 0.1 มิลลิลิตรสารสกัดตัวอย่าง)

c = จุดตัดแกน y

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดจากตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าลั่นดิบ

ครั้งที่ 1 ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าลั่นดิบ 0.1 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เท่ากับ 0.283

แทนค่าในสูตรจะได้

$$0.283 = 0.1820x$$

$$x = 1.555 \text{ ไมโครกรัม} / 0.1 \text{ มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง}$$

ตัวอย่างสารสกัด 0.1 มิลลิลิตร มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับโทรอกซ์

1.555 ไมโครกรัม

ตัวอย่างสารสกัด 100 มิลลิลิตร มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับโทรออกซ์

$$(1.555 \times 100) / 0.1 = 1555 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยที่ตัวอย่างสารสกัด 100 มิลลิลิตร มีเปลือกมะม่วงอยู่ 1 กรัม

ดังนั้น

ตัวอย่างเปลือกมะม่วง 1 กรัม มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับโทรออกซ์

$$1555 \text{ ไมโครกรัม}$$

$$= 1.555 \text{ มิลลิกรัมสมมูลโทรออกซ์/กรัมสารสกัด}$$

สารสกัดจากตัวอย่างเนื้อมะม่วงฟ้าลั่นดิบ

ครั้งที่ 1

ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างเปลือกมะม่วงฟ้าลั่นดิบ 0.2 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เท่ากับ 0.298

แทนค่าในสูตรจะได้

$$0.298 = 0.1820x$$

$$x = 1.637 \text{ ไมโครกรัม} / 0.2 \text{ มิลลิลิตรของสารสกัดตัวอย่าง}$$

ตัวอย่างสารสกัด 0.2 มิลลิลิตร มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับ โทรออกซ์

$$1.637 \text{ ไมโครกรัม}$$

ตัวอย่างสารสกัด 100 มิลลิลิตร มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับ โทรออกซ์

$$(1.637 \times 100) / 0.2 = 818.5 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยที่ตัวอย่างสารสกัด 100 มิลลิลิตร มีเนื้อมะม่วงอยู่ 10 กรัม

ดังนั้น

ตัวอย่างเปลือกมะม่วง 10 กรัม มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับ โทรออกซ์

$$818.5 \text{ ไมโครกรัม}$$

ตัวอย่างเปลือกมะม่วง 1 กรัม มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสมมูลกับ โทรออกซ์

$$(818.5 \times 1) / 10 = 81.85 \text{ ไมโครกรัม}$$

$$= 0.08 \text{ มิลลิกรัมสมมูลโทรออกซ์/กรัมสารสกัด}$$

ประวัติผู้เขียน

นางสาวปรางค์ทิพย์ ไชยสรณะ เกิดเมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ. 2529 ที่ กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนศึกษานารีวิทยา ปี พ.ศ. 2546 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิตจาก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปี พ.ศ. 2550 ปัจจุบันอาศัยอยู่ที่ 88/6 ม.6 ซ.เอกชัย 83/1 ถ.เอกชัย แขวงบางบอน เขตบางบอน กรุงเทพฯ 10150 (085-9409294)

นายพธินิทร พันธุ์สุวรรณ เกิดเมื่อวันที่ 11 กรกฎาคม พ.ศ. 2528 ที่จังหวัด อุบลราชธานี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเบ็ญจมะมหาราช ปี พ.ศ. 2546 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิตจาก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปี พ.ศ. 2550 ปัจจุบันอาศัยอยู่ที่ 20/1 ซ.เกษิเจริญ 2 ถ.เกษิเจริญ อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี 34000 (083-4218171)

