การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุก (*Mangiferaindica Linn.*)

Antioxidant Activityand Tyrosinase Inhibition of Mango Crude Extracts (*Mangiferaindica Linn.*)

ปิยตา อารี[1] และ วิชนี มีโต[1*]

Piyata Aree[1] and Wichanee Meeto[1*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระรวมจากเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้สุก(*Mangiferaindica Linn.*) ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล95%และเมทานอล95% ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดได้แก่ 1 2 3 และ 4 ชั่วโมงตามลำดับโดยควบคุมอุณหภูมิในการสกัดให้คงที่ที่ 25 องศาเซลเซียส และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี3 วิตามินซี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Compounds) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกคือตัวทำละลายเมทานอล 95% ที่เวลาในการสกัด 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี3 วิตามินซี และสารประกอบฟีนอลิก พบว่าเท่ากับ 0.97, 51.04 และ 192 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด ตามลำดับ การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็น 88.37 % และ 75.23 % ตามลำดับ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่าสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุก มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 69.33 %

คำสำคัญ: อนุมูลอิสระ การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มะม่วงน้ำดอกไม้สุก

Abstract

This research was studied on the determination of optimum conditions of antioxidant extractions from *Mangiferaindica Linn.* Water, ethanol 95% and methanol 95% were selected as extraction solvents. Extraction times were 1, 2, 3, and 4 hours. The temperature was set up at 25 °C. The quantitative determinations of vitamin B3, vitamin C, total phenolic compound, antioxidant capacity (DPPH and ABTS methods) and tyrosinase inhibition of *Mangiferaindica Linn.* crude extracts were evaluated. It was found that the suitable condition for an extraction was methanol 95% as solvent with 2 hours extraction time at 25 °C. The amounts of vitamin B3, vitamin C and phenolic compound were 1.08, 51.04 and 192 mg/100g of fresh weight, respectively. The determination of antioxidant capacity was done by using DPPH and ABTS methods. The results showed that antioxidant capacity of mango crude extracts from DPPH and ABTS methods were 88.37% and 75.23%, respectively. The tyrosinase inhibition was also studied. The result indicated that tyrosinase inhibition of mango crude extract was 69.33%

Keywords: mango (*Mangiferaindica Linn.*), antioxidant capacity, tyrosinase inhibition

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ พระนครศรีอยุธยา หันตรา 13000

[1] Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology, Suvarnabhumi, Huntra District, Ayutthaya 13000, Thailand

* Corresponding author. E-mail: wichanee.m@rmutsb.ac.th

บทนำ

มะม่วงน้ำดอกไม้ (*Mangiferaindica Linn.*) เป็นผลไม้ที่คนไทยรู้จักกันเป็นอย่างดีเพราะนอกจากจะมีรสชาติดี ยังจัดเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ และแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ และวิตามินหลายชนิด มะม่วงเป็นผลไม้ที่ทานได้ทั้งผลดิบและผลสุกและมะม่วงสามารถหารับประทานได้ทุกช่วง มะม่วงมีประโยชน์มากในด้านโภชนาการเนื่องจากมีคุณค่าทางอาหาร และยังร่วมไปถึงคุณค่าทางยา จากการศึกษาค้นคว้าเบื้องต้นจากงานวิจัยของศิริธร ศิริอมรพรรณ และนเรสมีโส (2552) พบว่าในมะม่วง 3 สายพันธุ์ได้แก่ มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงเขียวเสวย และมะม่วงแก้ว มีสารประกอบฟีนอลิกในผลดิบที่ประมาณ 3มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และในผลสุกมีปริมาณ 1-5mg/gของน้ำหนักแห้งในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามะม่วงสุกทั้ง 3 สายพันธุ์ มีวิตามินซีอยู่ในช่วง 0.27 – 0.28 mg/gซึ่งต่ำกว่าในเนื้อมะม่วงดิบ ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของมะม่วงสุกพบว่ามะม่วงเขียวเสวยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือมะม่วงแก้วและมะมว่งน้ำดอกไม้ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ประมาณ 82 – 89%Ribeiroและคณะ (2008) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดและเปลือกจากมะม่วงสี่สายพันธุ์ในประเทศบราซิลด้วยวิธี Folin-Ciocalteuพบว่ามีค่าประมาณ 82.54และ 57.240มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPHพบว่าสารสกัดในเนื้อมะม่วง 4 สายพันธุ์ มีค่าอยู่ในช่วง 39.6-94.2% จากการศึกษาของวรานนท์ ทองอินลาและคณะ (2557) ที่วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีนในผลไม้ 12ชนิด ได้แก่ มะม่วงเขียวเสวยสุก มะม่วงน้ำดอกไม้สุก ขนุนหนัง ฝรั่งกลมสาลี่ ฝรั่งไร้เมล็ด มะละกอฮอลแลนด์ กล้วยไข่ แก้วมังกร(เนื้อขาว) มะขามเทศ มะเขือเทศราชินี สับปะรดภูเก็ต และแอบเปิ้ลแดง ที่ซื้อจากตลาดโดยทั่วไป พบว่าในมะม่วงเขียวเสวยสุกและมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในรูป TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) เท่ากับ 0.06 และ 0.089 mg Trolox/gผลไม้ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ169 และ 111 mg GAE/Lปริมาณวิตามินซีในมะม่วงเขียวเสวยและมะม่วงน้ำดอกไม้สุกเท่ากับ 22และ15mg/Lต่อผลไม้ 100กรัม จะเห็นได้ว่ามะม่วงสายพันธุ์ต่างๆ มีกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งจะสามารถช่วยลดการเกิดริ้วรอยและจุดด่างดำบนใบหน้า และยังทำให้ผิวพรรณแลดูอ่อนเยาว์กระจ่าง วิตามินบี 3 อยู่ในกลุ่มวิตามินบี B-Complex หรือเรียกกันว่าไนอาซินNiacin เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า กรดนิโคตินิกNicotinic acid ทั้งนี้ วิตามินบี 3 สามารถเพิ่มการสร้างคอลลาเจน collagen และ Lipid ในผิวหนังของร่างกายเรา และยับยั้งการสร้างสารเมลานินMelanosomeซึ่งเป็นตัวเร่งทำให้ผิวสีเข้มขึ้น อย่างไรก็ตามงานวิจัยส่วนใหญ่ยังไม่มีผู้ทำการศึกษาปริมาณวิตามินบี 3 ในมะม่วงมากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส รวมไปถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิก วิตามินซี และวิตามินบี 3 จากสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุก โดยผู้วิจัยมีความคาดหวังว่างานวิจัยนี้จะเป็นองค์ความรู้ที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับการศึกษาสารสกัดจาก ธรรมชาติที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสมากที่สุด อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลไม้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่าง

นำผลมะม่วงน้ำดอกไม้สุกที่ซื้อจากตลาดโดยทั่วไป ปอกเปลือก จากนั้นหั่นเนื้อมะม่วงให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำมาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นจากนั้นชั่งน้ำหนักและชั่งเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้สุกที่ปั่นละเอียด 25g ของน้ำหนักสด เติมตัวทำละลาย (น้ำกลั่น เอทานอล 95% และเมทานอล 95%) สกัดด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Shaking water bath) ความถี่ที่ใช้เขย่าปรับให้เป็น 30รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปกรองให้ได้สารสกัดส่วนใส เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

นำตัวอย่างเนื้อมะม่วง 25 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลาย3 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 95% และเมทานอล 95% อย่างละ 100 mL โดยสกัดด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Shaking water bath) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดตั้งแต่ 1 - 4 ชั่วโมง ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ จากนั้นกรองตัวอย่างที่สกัดได้ด้วยผ้าขาวบางและกรองซ้ำด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรักษาคุณภาพของสารสกัดก่อนนำไปทำการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป โดยใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ไม่เกิน 2สัปดาห์

การวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์บางตัวในสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุก

- การหาปริมาณวิตามินบี 3

นำสารสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกที่สภาวะต่างๆ อย่างละ 1 mLปรับปริมาตรเป็น 10 mLด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ใช้สกัดนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 262 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดนิโคตินิก (ชั่งสารกรดนิโคตินิก (MW=123.11) หนัก 0.01 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ละลายด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล 95% เมทานอล 95% ตามลำดับ ถ่ายสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบ จะได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้นเป็น 3, 9, 15, 21และ 27 µg/mlตามลำดับ) ที่ความเข้มข้นความเข้มข้นเป็น 3 9 15 21 และ 27 µg/mLตามลำดับทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

- การหาปริมาณวิตามินซี

การหาปริมาณวิตามินซีด้วยวิธีไอโอโดเมตริกโดยนำสารสกัดมะม่วงไปไทเทรตกับสารมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต (ชั่ง $Na_2S_2O_3$. $5H_2O$ประมาณ 1.5 g ละลายด้วยน้ำกลั่นที่ต้มแล้วและเจือจางด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 300 mL คนให้เข้ากันจนกระทั่งละลายหมดและผสมเป็นเนื้อเดียวกัน) ที่เทียบหาความเข้มข้นที่แน่นอนแล้วกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอเดต โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

- การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteusโดยดัดแปลงวิธีของ Kubola and Siriamornpun (2011) นำสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายเมทานอล95%ที่เวลา 2 ชั่วโมง ปริมาตร 1 mLเติมสารละลายโฟลิน-ซีโอเคาทูลฟีนอล (Folin&Ciocalteu's Phenol reagent) 1 mLและ 7% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 10 mlปรับปริมาตรให้ได้ 25 mlด้วยเมทานอล95% ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 nmนำค่าการดูดกลื่นแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

(เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 1000 µg/mL โดยการชั่งกรดแกลลิก 0.05 กรัมใส่ในบีกเกอร์ ละลายด้วยเมทานอล 95% และปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ในขวดเชิงปริมาตร จากนั้นเจือจางให้เป็นความเข้มข้นต่างๆ (10 20 30 40 และ 50 µg/mL) ด้วยการปิเปตสารละลายกรดแกลลิก 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตรในขวดเชิงปริมาตรด้วยเมทานอล 95%) ที่ความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 µg/mL ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

- **วิธีDPPH**

นำสารสกัดมะม่วง 2ml เติมสารละลาย 0.2mMDPPH (ชั่ง DPPH (MW = 394.33 g/mol) หนัก 0.078 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ละลายด้วยเมทานอล 95% ถ่ายสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรปรับปริมาตรแล้วเก็บไว้ในขวดสีชาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 10mL เขย่าให้เข้ากัน และทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยากันในที่มืด 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยให้เป็น A_{sample}ส่วนสารละลาย DPPH 1mL ที่ถูกปรับปริมาตรด้วยเมทานอล95% ให้ 10mL นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยให้เป็น $A_{control}$ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ จากนั้นนำผลที่ได้ไปคำนวณดังสมการ

$$\%Antioxidantcapacity = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

เมื่อ $A_{control}$คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ในเมทานอล

A_{sample}คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ผสมสารละลาย DPPH

- **วิธีABTS**

เตรียมสารละลาย 2.45 mM โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) ใน 7 mMABTS เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง ได้สารละลาย ABTS radical นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 734 nm จนได้ค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.70 ± 0.02 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากมะม่วงและสารละลายอนุมูลอิสระ ABTS ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที ณ อุณหภูมิห้อง โดยวัดที่ความยาวคลื่น 734 nm ให้เป็น A_{sample}และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ในเมทานอล โดยให้เป็น $A_{control}$ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณหาร้อยละความสามรถในการต้านอนุมูลอิสระตามสมการ

$$\%Scavenging\ effect = \frac{A_{\text{control}} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

เมื่อ $A_{control}$คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ในเมทานอล

A_{sample}คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ผสมสารละลาย ABTS

การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 nmของสารละลาย L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-Dopa) และสารละลาย Tyrosinaseใน 0.1 mMphosphate buffer (pH 6.8) ให้เป็น Aจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุกในสภาวะเดียวกัน ให้เป็น B จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้นำไปคำนวณหาความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส จากสมการ (ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

$$\%Tyrosinase\ inhibition = \frac{A - B}{A} \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม (ประกอบด้วยสารละลายทั้งหมดยกเว้นสารที่ต้องการทดสอบ)
B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ต้องการทดสอบ

ผลการศึกษา

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางตัวจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกพบว่าตัวทำละลายและระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดคือ เมทานอล95% และ 2ชั่วโมง ตามลำดับโดยควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส ที่สภาวะนี้ปริมาณวิตามินบี3 ที่สกัดได้เท่ากับ 0.97 mg/100 g ของน้ำหนักสด ปริมาณวิตามินซีและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 51 และ 192 mg/100 g ของน้ำหนักสดผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี3 และวิตามินซีที่สภาวะต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 และภาพที่ 1 และ 2

Table 1 Amount of vitamin B3 (mg/100 g of fresh weight) from mango crude extracts.

Extraction solvent	Amount of vitamin B3 (mg/100 g of fresh weight) ± SDat different extraction time (hrs.)			
	1	2	3	4
Water	0.34±0.01	0.65±0.00	0.91±0.01	0.30±0.01
Ethanol 95%	0.21±0.01	0.44±0.02	0.70±0.01	0.20±0.00
Methanol 95%	0.70±0.01	0.97±0.01	1.08±0.01	0.51±0.01

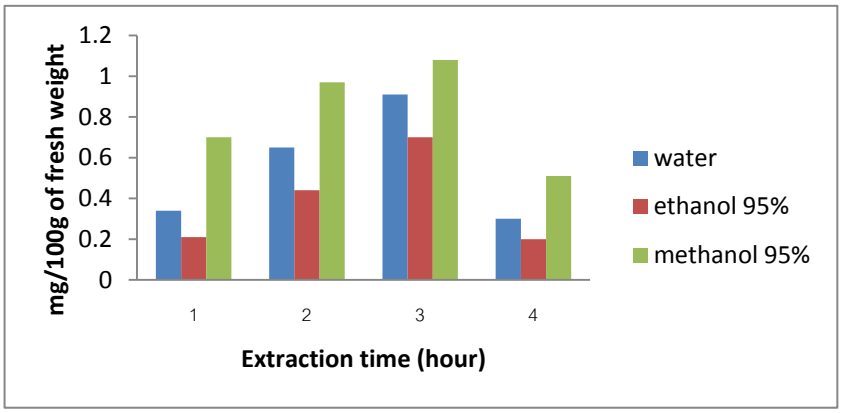

Figure 1 Plots of amount of vitamin B3 from mango crude extracts at different extraction time (1-4 hours)

Table 2 Amount of vitamin C (mg/100 g of fresh weight) from mango crude extracts.

Extraction solvent	Amount of vitamin B3 (mg/100 g of fresh weight) ± SDat different extraction time (hrs.)			
	1	2	3	4
Water	22.66±0.01	43.78±0.00	18.99±001	9.09±001
Ethanol 95%	10.56±0.00	23.93±0.00	10.70±0.01	2.11±0.02
Methanol 95%	30.27±0.01	51.04±0.02	21.82±0.01	15.55±001

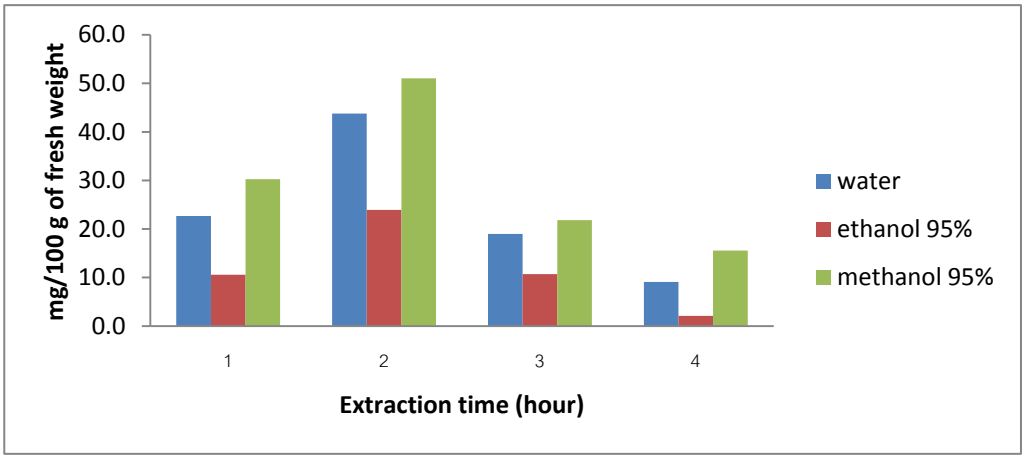

Figure 2 Plots of amount of vitamin C from mango crude extracts at different extraction time (1-4 hours).

การวิเคราะห์ร้อยละความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกโดยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่า การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุกเท่ากับ 88.37%และ 75.23% ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 3

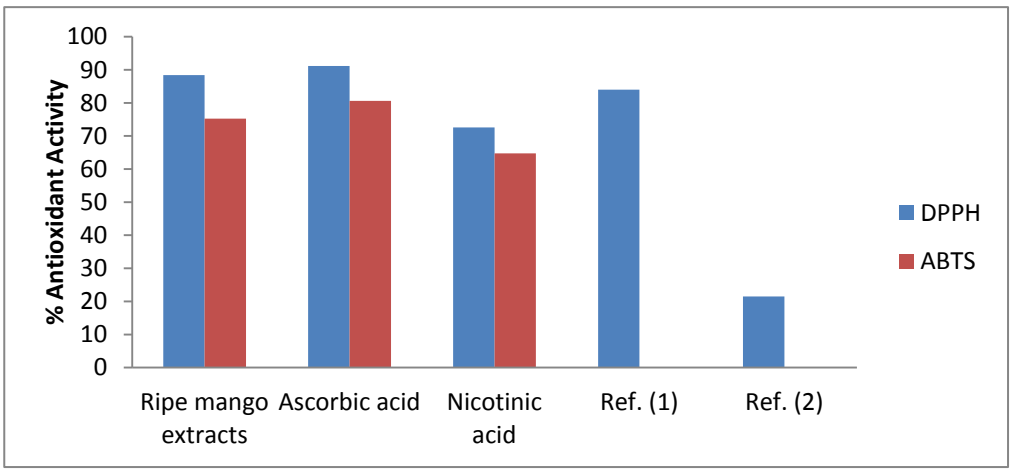

Figure 3 Plots of % antioxidant activity from mango crude extracts, ascorbic acid, nicotinic acid and references (Ref.(1) is ศิริธร ศิริอมรพรรณ และ นเรศ มีโส (2552), Ref.(2) is นุตติยา วีระวัธนชัย และ ระวิวรรณ แก้วอมตวงค์ (2555).

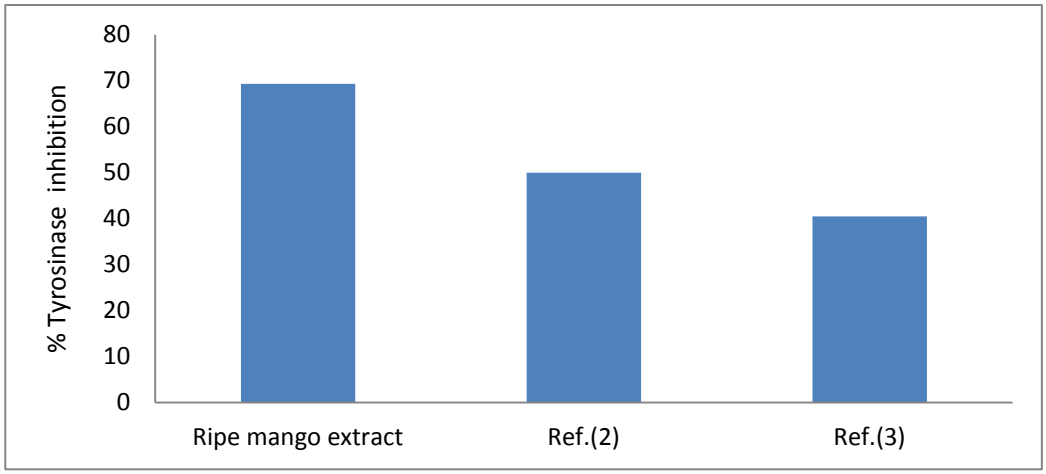

Figure 4 Plots of % Tyrosinase exhibition from mango crude extracts and some references. Ref.(2) is นุตติยา วีระวัธนชัย และ ระวิวรรณ แก้วอมตวงค์ (2555), Ref. (3) isพนาวุฒิ จันทับทอง (2552).

การวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกโดยวิธี Dopachrome พบว่าสารสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 69.33%

อภิปรายผล

ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกได้ควบคุมอุณหภูมิการสกัดไว้ที่ 25 °C เพื่อลดอัตราการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินซี ซึ่งมีงานวิจัยระบุว่า วิตามินซีในผักและผลไม้จะเริ่มสลายตัวตั้งแต่อุณหภูมิประมาณ 60 – 70 องศาเซลเซียส (Njoku et.al, 2011 และ Paul and Ghosh, 2012) ตัวทำละลายและเวลาที่เหมาะสมในการสกัด คือ เมทานอล95 %ที่เวลา2 ชั่วโมง โดยจะให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สนใจในงานวิจัยนี้สูงกว่าที่สภาวะอื่นๆ ซึ่งโดยทั่วไปการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารประกอบฟีนอลิกหรือวิตามินต่างๆ มักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งมีความแตกต่างกันตามแต่ลักษณะและองค์ประกอบของสาร ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำ เอธานอล เมทานอลอะซิโตน และเฮกเซน เป็นต้น (Sultana et.al., 2009) เนื่องจากในการศึกษานี้พบว่าปริมาณวิตามินซีที่สกัดได้สูงที่สุดที่เวลา 2 ชั่วโมง หากใช้ระยะเวลาในการสกัดนานเกินไป อาจทำให้วิตามินซีเสียสภาพไป ซึ่งจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ดังจะเห็นได้จากการลดลงของปริมาณวิตามินซีดังภาพที่ 2 ในงานวิจัยนี้ได้เลือกสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสภาวะที่ดีที่สุดมาทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วย Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งพบว่าได้ประมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 192 mg/100 g ของน้ำหนักสดซึ่งสารมีค่าใกล้เคียงกับ กับงานวิจัยของ ศิริธร ศิริอมรพรรณ และ นเรศ มีโส (2552) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมะม่วงน้ำดอกไม้ดิบและสุกจะมีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 3.27 และ 1.11 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และงานวิจัยจากงานวิจัยของวรานนท์ ทองอินลา และคณะ (2557) พบว่าการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้สุกด้วย Folin-Ciocalteu reagent มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 111 mg GAE/L อย่างไรก็ตาม สารชนิดอื่นที่ไม่ใช่

ฟีนอลิก เช่น น้ำตาล aromatic aminesกรดแอสคอร์บิค กรดออร์แกนิค และอื่นๆอีกมาก สามารถรีดิวซ์ Folin-Ciocalteu reagent ได้สีน้ำเงินเช่นเดียวกัน ทำให้การรายงานผลนั้นสูงเกินจริงและการวัดสีด้วยวิธีนี้ ไม่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกแต่อย่างใด (Huang et al.,2005)

ผลจากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่าสารสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล 95 % เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 88.37 % และ 75.23 % ตามลำดับ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะมีความสามารถในการทนความร้อนและแสงแตกต่างกัน ซึ่งการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวีธี DPPH และวิธี ABTS นั้นอาจไม่เพียงแค่สะท้อนถึงปริมาณวิตามินบี3 วิตามินซี และสารประกอบฟีนอลิกเพียงชนิดเดียวเท่านั้น แต่ยังเป็นผลมาจากสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น เช่น เอนไซม์ชนิดต่างๆ ในมะม่วงสุก ฮอร์โมน หรือโปรตีนต่างๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างได้อีกด้วย โดยนำผลการศึกษาของ ศิริธร ศิริอมรพรรณ และ นเรศ มีโส (2552)[Ref.(1)]เทียบเคียงกับการทดลองที่ได้ดังภาพที่ 3ซึ่งทำการวิเคราะห์ความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในมะม่วงสุก 3 สายพันธ์ พบว่าสารสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุก มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 84.00 % และเทียบกับสารสกัดกระดังงาจีนที่ได้จากงานวิจัยของ นุตติยา วีระวัธนชัย และ ระวิวรรณ แก้วอมตวงค์ (2555) [Ref.(2)] ที่มีการต้านอนุมูลอิสระ 21.48 %

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ภาพที่ 4 พบว่า สารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล95 %เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 69.33 %สารสกัดจากกระดังงาจีน (40.51 %) จากงานวิจัยของนุตติยา วีระวัธนชัย และระวิวรรณ แก้วอมตวงค์ (2553) [Ref.(2)] และผลการศึกษาของ พนาวุฒิ จันทับทอง (2552) [Ref.(3)]ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสจากเห็ดแชมปิยง พบว่าสารสกัดจากเห็ดแชมปิยงมีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสเท่ากับ 50 %

สรุปผล

การศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุกพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ตัวทำละลายเมทานอล95%เวลาที่ใช้สกัด 2 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิในการสกัดไว้ที่ 25องศาเซลเซียส สารสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกมีปริมาณวิตามินบี 3 วิตามินซี และสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 0.97, 51.04 และ 192 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด ตามลำดับ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่าสารสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล 95 % เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ 88.37 % และ 75.23 % ตามลำดับ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เท่ากับ 69.33 %ข้อมูลที่ได้นี้เป็นข้อมูลเบื้องต้น โดยอาจนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวได้ต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ปีการศึกษา 2557 และได้รับการสนับสนุนด้านเงินทุนและสิ่งสนับสนุนการวิจัย จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

เอกสารอ้างอิง

ศิริธร ศิริอมรพรรณ และ นเรศ มีโส. 2552. การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในมะม่วง กล้วย และมะละกอ. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาการศาสตร์ คณะเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

นุตติยา วีระวัธนชัย และระวิวรรณ แก้วอมตวงค์. 2553. การศึกษาสารที่มีฤทธิ์ลดการสร้างเม็ดสีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากกระดังงาจีน. ภาควิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

พนาวุฒ จันทับทอง. 2552. การสกัดและการยับยั้งไทโรซิเนสจากเห็ดแชมปิง. คณะวิทยาศาตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระแหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

วรานนท์ ทองอินลา ชลธิชา วรรณวิมลรักษ์ และภารดี ช่วยบำรุง. 2557. ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลไม้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DMPD กับปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 19(2).93-99.

Linng, C.,Lim, J-H., Seung-Hyung Kim, S-H., Kim, D-S. 2012. Asynergstictyrosinase inhibitor from the roots of Smilax china. *Food Chemitry*, 134. 1146-1148

Kubola, J., Siriamornpun, S. 2011. Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (MomordicacochinchinensisSpreng).*Food Chemistry*, 127.1138-1145.

Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem,*53.1841-1856.

Ribeiro, S.M.R., Barbosa, L.C.A., Queiroz, J.H., Knodler M., Schieber, A. 2008. Phenolic compounds andantioxidant capacity of Brazilian mango (Mangiferaindica L.) varieties. *Food Chemistry*, 110.620–626.

Njoku, P.C., Ayuk, A.A., Okoye, C.V. 2011. Temperature effects on vitamin C content in citrus fruits. Pakistan Journal of Nutrition, 10(12). 1168 -1169.

Paul, R., Ghosh, U. 2012. Effect of thermal treatment on ascorbic acid of pomegranate juice. Indian journal of Biotechnology, 11.309-313.

Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. 2009.Effect of extraction solvent technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extract. Molecules, 2167-2180