สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

๒๑

รายงานการวิจัยงบประมาณประจำปี 2542

การศึกษาการผลิตไวน์จากมะเม่า

จัดทำโดย

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา

bk0031368
- 3 มี.ค. 2544
143195
AQ 0000409
เริ่มบริการ
22 มิ.ย. 2547

สารบาญ

	หน้า
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
วิธีการทดลอง	6
ผลการทดลอง	8
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	11
ข้อเสนอแนะ	12
เอกสารอ้างอิง	13

รายงานการวิจัยงบประมาณประจำปี 2542

เรื่อง การศึกษาการผลิตไวน์จากมะเม่า

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี

บทนำ

ประเทศไทยมีความหลากหลายของพืชพรรณจำนวนมาก ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจและพืชพื้นเมืองต่างๆ รวมทั้งสมุนไพร ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารและยา เพื่อการใช้ประโยชน์ภายในท้องถิ่น การผลิตเป็นสินค้าภายในประเทศ รวมทั้งที่พัฒนาเป็นสินค้าออกที่สามารถนำเงินตราเข้าสู่ประเทศเป็นจำนวนมาก การวิจัยค้นหาโมเลกุลจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (anticancer) และสารยับยั้งอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ทั้งนี้เพื่อค้นหาโมเลกุลที่มีความสามารถในเชิงยาเพื่อใช้เป็นยารักษาโรค เพื่อลดปัญหาความเสียหายที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ของอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นตัวการทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์และเป็นส่วนสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคร้ายหลากหลายชนิด อีกทั้งยังสร้างความเสียหายต่อผลิตภัณฑ์แปรรูปเพื่อการบริโภคหลาย ๆ ชนิด

สารประกอบในกลุ่ม phenolic compound เป็นอีกตัวหนึ่งที่ ได้รับความสนใจในการนำมาวิจัยประสิทธิภาพของการเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะในน้ำองุ่นและในไวน์องุ่น ซึ่งมีสารประกอบ phenolic ในปริมาณสูง ดังเช่นในการวิจัยพบว่าสารนี้ทำหน้าที่ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ LDL ทำให้ลดปัญหาในการเกิดโรคหัวใจได้ดี ทั้งนี้จากการศึกษาพบว่าคนในประเทศฝรั่งเศสมีอัตราการเป็นโรคดังกล่าวต่ำกว่า ทำให้มีการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับไวน์องุ่นแดงมากยิ่งขึ้น โดยให้ความสำคัญในลักษณะใช้ในการทำเป็น French paradox

ในการศึกษานี้ เป็นการนำมะเม่าซึ่งเป็นผลไม้พื้นบ้านที่มีสีและคุณสมบัติอื่นๆ ใกล้เคียงกับองุ่นแดงมาทำการแยกสารประกอบที่มีอยู่ในมะเม่า เพื่อหาโมเลกุลที่มีความสามารถในการเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระ (antioxidant) และความสามารถในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง (anticancer) ก่อนที่จะทำการผลิตไวน์ในขั้นตอนต่อไปดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องให้ความสำคัญกับการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของเม่าหลวงอย่างละเอียด เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องซึ่งจะอำนวยประโยชน์ต่อการ

พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารหรืออาหารเสริมเพื่อสุขภาพ ตลอดจนการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์จากเม่าหลวงได้อย่างปลอดภัย อันจะช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับพืชพื้นเมืองและลดการสูญเสียเงินตราต่างประเทศเพื่อการนำเข้าสินค้าประเภทเดียวกันได้อีกทางหนึ่ง

บทที่ 1
การตรวจเอกสาร

โดยทั่วไปแล้ว ในผัก ผลไม้และธัญพืช ต่างๆ ที่ใช้เป็นอาหารเกือบทุกชนิด จะมี phenolic compound ชนิดต่างๆ เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่แตกต่างกัน สารประกอบกลุ่มนี้มีความสำคัญหลายประการ กล่าวคือ เป็นสารป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ โดยมีความสามารถเป็นสาร oxidant radical scavengers และ oxidation chain reaction terminators นอกจากนี้อาจจะเป็นสารให้สี (Food color) สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (antimicrobial agents) และสารยับยั้งการเจริญของเชื้อไวรัส (antiviral agents)

ในการศึกษาการแยกโมเลกุลจากพืชพื้นเมืองของบราซิล ชื่อ *Auxemma oncocalyx* จัดอยู่ในวงศ์ Boraginaceae พบว่าให้โมเลเลกุลที่มีความสามารถในการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด CEM และ มะเร็งปอด SW1573 โดยมีความสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (% Inhibition Concentration : % IC ที่ค่า IC_{50}) เท่ากับ 0.8-2 และ 7-8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนจากพืชชื่อ *Egletes viscosa* จัดอยู่ในวงศ์ Compositae พบว่ามีโมเลกุลซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารประกอบพวก polyphenolic compound คือ 12-Acetoxy3hawtriwaic acid lactone ที่จัดอยู่ในกลุ่ม terpene มีความสามารถในการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด มะเร็งปอด โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 6 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และโมเลกุล 4,5-Dihydroxy-3,3,7,8-tetramethoxy ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม flavonoid มีความสามารถในการยับยั้งการแบ่งเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด มะเร็งปอด โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 2 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Pessoa *et al.*,2000)

จากการศึกษาความสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านมของ Quercetin ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม flavonoid พบว่า มีค่า IC_{50} เท่ากับ 55 ไมโครโมล (Singhal *et al.*,1995) ส่วน Wenzel และคณะ (2000) ศึกษาสารสกัดจากกลุ่ม flavonoid คือ 2-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one(flavone) ซึ่งมีในผักและผลไม้ พบว่ามีความผลต่อการทวีจำนวนเซลล์ การแบ่งเซลล์และการตายของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HT-29

การศึกษาสาร phenolic compound ในน้ำมันมะกอก พบว่าสามารถแยกและจำแนกได้สาร lignans บริสุทธิ์ (+)-1-acetoxypinoresinol และ(+)-pinoresinol และสาร phenolic compounds ทุกกลุ่มที่แยกได้มีความสามารถยับยั้ง reactive oxygen species และสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Owen et *al.*, 2000)

การแยกและจำแนกสารสกัดจากใบ *Vernonia amygdalina* พบว่า สามารถสกัดสารในกลุ่ม Flavones ได้ 3 ชนิด ได้แก่ luteolin, luteolin 7-O-β-glucuronoside และ luteolin 7-O-β-glucoside ในการทดสอบคุณสมบัติแอนไทด์ออกซิแดนซ์ พบว่า luteolin มีคุณสมบัติการเป็นสารแอนไทด์ออกซิแดนซ์ ที่ดีกว่า Butylated hydroxytoluene (BHT) ซึ่งเป็นสารแอนไทด์ออกซิแดนซ์สังเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญ (Igile *et al.*,1994) ซึ่งต่างจากการศึกษาความสามารถในการเป็นสารแอนไทด์ออกซิแดนซ์ของสาร Flavonoids ซึ่งแยกได้จากต้น Licorice ซึ่งมีคุณสมบัติในเชิงยา โดยเปรียบเทียบกับ α-tocopherol พบว่ากลุ่มสารผสมของ Flavonoids มีความสามารถเป็นสารแอนไทด์ออกซิแดนซ์ที่ดีกว่าสาร Flavonoids ที่แยกบริสุทธิ์แล้ว (Gordon and An,1995)

ในการสกัดและจำแนกโมเลกุลที่มีคุณสมบัติเป็นสารแอนไทด์ออกซิแดนซ์จากใบ Mulberry (*Morus alba* L.) ซึ่งนำมาใช้ในการทำยาสมุนไพรจีน พบว่า สารที่สกัดได้จำนวน 2 fractions มีค่า R_f เท่ากับ 0.92 และ 0.68 มีความสามารถยับยั้งการเกิดกระบวนการ peroxidation ของกรด linoleic acid ได้ 77.3 และ 72.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Yen *et al.*,1996) นอกจากนี้จากการสกัดเนื้อไม้จากต้น *Garcinia subelliptica* พบโมเลกุลใหม่ในกลุ่ม Xanthones จำนวน 3 โมเลกุล ได้แก่ garciniaxanthones F, garciniaxanthones G และ garciniaxanthones H มีความสามารถยับยั้งกระบวนการเกิด lipid peroxidation ,α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity และ superoxide radical scavenging activity (Minami *et al.*,1996)

สำหรับโมเลกุล curcumin ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ให้สีเหลืองซึ่งสกัดจากขมิ้น มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดมะเร็ง (anticarcinogenic) ในลำไส้และกระเพาะอาหาร เช่นเดียวกับโมเลกุล quercetin นอกจากนี้ โมเลกุล caffeic และ ferulic acid ที่ได้จากผักและผลไม้หลายชนิดมีผลยับยั้งการเกิดสารชักนำให้เกิดสารก่อมะเร็งและเนื้องอกกับสัตว์ทดลอง สำหรับโมเลกุล ellagic acid ซึ่งแยกได้จากผลไม้จำพวกนัท (nut) และ ราสเบอรี่ (rasberries) มีความสามารถยับยั้งสารชักนำให้เกิดสารก่อมะเร็งบริเวณหลอดอาหาร ปอด และตับ (Newmark,1996)

ส่วนโมเลกุล genistein และ daidzein ซึ่งแยกได้จากกลุ่ม isoflavonoid จากพืชตระกูลถั่ว มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากเมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 1.25-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Geller *et al.*,1998)

สำหรับเม่าหลวง เป็นพืชพื้นเมืองที่มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นที่มีการแยกเพศในแต่ละต้น ซึ่งพบมากในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จัดอยู่ในวงศ์ Slilaginaceae มีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Antidesma thwaitesianum* Muell. Arg มีความสูงประมาณ 12-15 เมตร ใบด้านบนมีสีเขียวเข้มเป็นมันวาว ดอกออกเป็นช่อแบบ spike และออกดอกแบบแยกเพศ ผลดิบมีสีเขียว ผลสุกจะเปลี่ยนเป็นมีสีแดงและสีดำเมื่อสุกจัด จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า ผลมะเม่าสุกมี

สารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายมากชนิด เช่น แคลเซียม,เหล็ก,สังกะสี,วิตามิน B1,B2 และ E มีกรดอะมิโนจำนวน 18 ชนิด โดยมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายได้แก่ ทรีโอนีน, วาลีน, เมทไทโอนีน, ไอโซลูซีน, ลูซีน, ฟีนิลอะลานีน, ทริปโตเฟน, ฮิสติดีน และอาจีนีน มีความหวานที่ระดับ 13-21 องศาบริกซ์ (อร่าม คุ้มกลางและวินัย แสงแก้ว, 2540) แต่เดิมมีการนำมาใช้ประโยชน์เพียงเพื่อการบริโภคผลสุก แต่ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาและแปรรูปผลิตภัณฑ์เพื่อผลิตเป็นน้ำผลไม้เข้มข้นและเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสารสกัดอย่างหยาบจากน้ำมะเม่า

1.1 การเตรียมสารสกัดอย่างหยาบจากน้ำมะเม่า

นำน้ำมะเม่าต้มกับกรดไฮโดรครอริก 2 โมล โดยใช้อัตราส่วน 1 : 1 ที่อุณหภูมิไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที นำส่วนที่สกัดได้ไปทำการระเหย เก็บสารสกัดอย่างหยาบ (Crude Extract) ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

1.2 การเตรียมสารสกัดอย่างหยาบจากเปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลมะเม่าสุก

ส่วนกากมะเม่าที่เหลือจากการคั้นน้ำมะเม่าซึ่งประกอบด้วย เปลือก เนื้อ และเมล็ดของผลมะเม่าสุกนำมาอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำมาทำมาการสกัดโดยบรรจุลงโถแก้ว เติมตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด คือ เมธทานอลต่อน้ำ ในอัตราส่วน 4 : 1 โดยปริมาตร ทำการสกัดเนื้อสารโดยแช่ในตัวทำละลายเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง กรองส่วนที่สกัดได้ นำไปทำให้เข้มข้นโดยการระเหย ด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสูญญากาศ นำส่วนสกัดอย่างหยาบ เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

2. การแยกสารสกัดอย่างหยาบ

2.1 การแยกสารสกัดอย่างหยาบจากน้ำมะเม่า

ทำการแยกสารสกัดอย่างหยาบโดยวิธี liquid-liquid extraction ออกจากกัน โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ คือ เฮกเซน เบนซิน โทลูอีน คลอโรฟอร์ม อะซิดโตน เอทธิลอะซิเตต เป็นต้น เพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด ทดสอบสารที่สกัดได้ไปด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี และทำการหา mobile phase ที่เหมาะสมเพื่อแยกสารออกจากกันด้วยการใช้กลุ่มตัวทำละลายผสมต่างๆ กัน เพื่อนำมาใช้ในการแยกสารอีกครั้งด้วยวิธี คอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยพบว่า mobile phase ที่เหมาะสมในการแยกสารจะประกอบด้วย คลอโรฟอร์ม : อะซิโตน : เมทธานอล น้ำ ในอัตราส่วน 7 : 4 :8 : 1 นำสารที่แยกได้ในแต่ละ Fraction ทำให้เข้มข้นโดยการระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหย เก็บสารที่แยกได้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

2.2 การแยกสารสกัดอย่างหยาบจากเปลือก เนื้อและเมล็ดของผลมะเม่าสุก

แยกสารสกัดอย่างหยาบจากข้อ 1.2 ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม อะซิโตนิทริล เมทธานอล และน้ำ ตามลำดับ ทดสอบสารที่สกัดได้ด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี และทำการหา mobile phase ที่เหมาะสม

เพื่อแยกสารออกจากกันด้วยการใช้กลุ่มตัวทำละลายต่างๆ กันพบว่า mobile phase ที่เหมาะสมในการแยกสารจะประกอบด้วยคลอโรฟอร์ม : อะซิโตน : น้ำ ในอัตราส่วน 95 : 3 : 2 สามารถแยกสารออกจากกันได้ดีกว่ากลุ่มตัวทำละลายอื่น ๆ นำสารที่แยกได้ในแต่ละ Fraction ทำให้เข้มข้นโดยการระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหย เก็บสารที่แยกได้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

3. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

เตรียมเซลล์มะเร็งเม็ดเลือด K562/S และเซลล์มะเร็งปอด GLC4 ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เลี้ยงใน well plate ชนิด 6 หลุม เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 1640 จนมีปริมาตรครบ 4 มิลลิลิตรต่อหลุม เติมสารสกัดซึ่งละลายใน DMSO ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันคือ 0, 50, 100, 150, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยหลุมที่ 1 เป็นตัวควบคุมที่ไม่เติมสารสกัด บ่มในตู้ Humidified atmosphere ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความชื้น 95 เปอร์เซ็นต์ มีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์โดยใช้ Haemacytometer นำมาคำนวนค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (% Inhibition Concentration : % IC ที่ค่า IC_{50}) ทดสอบด้วยวิธีเดียวหมดทั้งในสารสกัดอย่างหยาบและสารสกัดที่แยกได้ในแต่ละ fraction

บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในสารสกัดอย่างหยาบ

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดของสารสกัดอย่างหยาบ(Crude Extract) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (0,50,100,150, 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ของน้ำมะเม่าและกากของผลมะเม่าที่เหลือจากการคั้นน้ำมะเม่า พบว่าสารสกัดอย่างหยาบจากทั้งสองส่วน มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยค่าความเข้มข้นของสารสกัดอย่างหยาบที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (% Inhibition Concentration : % IC ที่ค่า IC_{50}) ที่ได้จากการต้มน้ำมะเม่ากับกรดไฮโดรคลอริก 2 โมล ในอัตรา 1 ต่อ 1 พบว่าสารสกัดอย่างหยาบมีความสามารถในการต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิด K562/S และเซลล์มะเร็งปอด GLC4 ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 322 และ 354 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสารสกัดจากกากของผลมะเม่าซึ่งประกอบด้วย เปลือก เนื้อและเมล็ดของผลมะเม่าสุกที่เหลือจากการคั้นน้ำมะเม่าที่ทำการสกัดสารด้วยตัวทำละลายเมธานอลและน้ำ ในอัตราส่วน 4 ต่อ 1 ซึ่งให้ค่า IC_{50} ดีกว่า โดยให้ค่าเท่ากับ 230 และ 320 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากผลมะเม่าที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง

สารสกัดอย่างหยาบ(Crude extract)	ค่า IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	K562/S	GLC4
น้ำมะเม่า	322	354
เปลือก,เนื้อและเมล็ดที่เหลือจากการคั้นน้ำมะเม่า	230	320

2. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในสารสกัดที่แยกได้จากน้ำมะเม่า

จากการนำสารสกัดอย่างหยาบจากน้ำมะเม่ามาทำการแยกสกัดด้วยในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ พบว่า เอทธิลอะซิเตตมีความสามารถแยกสารได้มากกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ และนำไปทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี พบว่า mobile phase ที่เหมาะสมที่สุดคือตัวทำละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์ม : อะซิโตน : เมธทานอล : น้ำในอัตราส่วน 7 : 4 : 8 : 1 สามารถแยกกลุ่มสารได้มากกว่าตัวทำละลายผสมอื่น ๆ โดยแยกสารได้จำนวน 6 Fraction ซึ่งให้ค่า R_f ที่แตกต่างกัน จากการนำไปแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี พบว่า ทั้ง 6 Fraction ให้สีที่แตกต่างกัน คือ สีเหลืองอ่อน สีเหลืองเข้ม สีเหลืองอ่อน สีเขียวปนเหลือง สีฟ้าอมเขียว และสีฟ้าอ่อน ตามลำดับ จากการทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิด K562/S และเซลล์มะเร็งปอด GLC4 ของสารแต่ละ Fraction ให้ค่า IC_{50} แตกต่างกัน ดังแสดงใน ตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดที่แยกได้จาก Fraction ที่ 1 มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดได้เท่ากัน และสามารถออกฤทธิ์ได้ดีกว่าในสารสกัดที่แยกได้จาก Fraction อื่น ๆ แต่ทุก ๆ มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งสูงกว่าสารสกัดอย่างหยาบจากน้ำมะเม่า

ตารางที่ 2 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากน้ำมะเม่าที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง

ชนิดของสารสกัด	ค่า IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	K562/S	GLC4
Fraction 1	100	100
Fraction 2	135	190
Fraction 3	200	300
Fraction 4	210	250
Fraction 5	175	280
Fraction 2	270	235

3. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในสารสกัดที่แยกได้จากเปลือกเนื้อและเมล็ดที่เหลือจากการคั้นน้ำของผลมะเม่าสุก

ในการแยกสารสกัดจากเปลือกเนื้อและเมล็ดที่เหลือจากการคั้นน้ำของผลมะเม่าสุก ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟี และนำไปทดสอบด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี พบว่า mobile phase ที่เหมาะสมที่สุดคือตัวทำละลายผสมระหว่าง คลอโรฟอร์ม : อะซิโตน : น้ำ ในอัตราส่วน 95 : 3 : 2 สามารถแยกกลุ่มสารได้มากกว่าตัวทำละลายผสมอื่น ๆ จากการทดสอบความสารมารถในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง (ตารางที่ 3) พบว่าสารที่แยกได้ใน Fraction ที่ 1 มีค่าการออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 35 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดชนิด K562/S และเซลล์มะเร็งปอด GLC4 ตามลำดับ ส่วนใน Fraction อื่น ๆ ให้ค่าการออกฤทธิ์ได้ใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 3 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากเปลือกเนื้อและเมล็ดที่เหลือจากการคั้นน้ำของผลมะเม่าสุกที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง

ชนิดของสารสกัดที่แยกได้	ค่า IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	K562/S	GLC4
Fraction 1	35	25
Fraction 2	มากกว่า 300	มากกว่า 300
Fraction 1	มากกว่า 300	มากกว่า 300
Fraction 2	มากกว่า 300	มากกว่า 300
Fraction 5	มากกว่า 300	มากกว่า 300

บทที่ 4
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

ในการศึกษาคุณสมบัติของผลมะเม่า ก่อนทำการนำมาใช้ประโยชน์อื่น ๆ พบว่า สารสกัดอย่างหยาบซึ่งได้จากเปลือก,เนื้อและเมล็ดที่เหลือจากการคั้นน้ำมะเม่า มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดและเซลล์มะเร็งปอดได้สูงกว่าสารสกัดอย่างหยาบจากน้ำมะเม่า โดยให้ค่า Inhibition concentration, IC_{50} .ในน้ำมะเม่าซึ่งมีค่าเท่ากับ 322 และ 354 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ส่วนการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ในสารสกัดที่แยกได้จากน้ำมะเม่า พบว่า สามารถแยกได้ดีในตัวทำละลายเอทธิลอะซิเตค ให้สารจำนวน 6 Fraction ซึ่งพบว่ามีความสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้แตกต่างกัน โดยใน Fraction ที่ 1 ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าดีกว่า Fraction อื่น ๆ แต่ให้ค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ Fraction ที่ 1 ซึ่งแยกได้จากสารสกัดจากเปลือก,เนื้อและเมล็ดของผลมะเม่าที่เหลือจากการคั้นน้ำแล้ว โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 35 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบกับเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดและเซลล์มะเร็งปอด ตามลำดับ ส่วนสารที่แยกได้ใน Fraction 2-5 พบว่า มีค่า IC_{50} มากกว่า 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าสารที่แยกได้จากน้ำมะเม่าทุก Fraction

การแยกสารจากผลของมะเม่าเพื่อหาโมเลกุลที่เป็นประโยชน์ โดยเริ่มต้นได้ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง ซึ่งมีหลายกลุ่มที่น่าสนใจและพบว่าผลที่ได้มีความแตกต่างกับการรายงานของพืชอื่น ๆ ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้ง วงศ์ของพืช ส่วนของพืชที่นำมาให้ในการแยกสาร วิธีการแยกสาร รวมทั้งชนิดของเซลล์มะเร็งที่ใช้ในการทดสอบแต่ละชนิดมีคุณสมบัติและความสามารถในการต้านการยับยั้งของสารสกัดได้แตกต่างกัน และเป็นการทำงานเบื้องต้นจำเป็นจะต้องแยกโมเลกุลต่าง ๆ ออกจากแต่ละ Fraction ซึ่งคิดว่าน่าจะเป็นกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกันแต่ไม่ใช่โมเลกุลเดี่ยว ๆ จึงจะทำให้สามารถศึกษาความสามารถของโมเลกุลที่พบได้ในมะเม่าได้ชัดเจนกว่า

ข้อเสนอแนะ

1. ควรจะทำการแยกโมเลกุลเดี่ยว ๆ ของสารในแต่ละ Fraction ทำการศึกษาโครงสร้างของโมเลกุลโดยใช้เทคนิคที่มีความแม่นยำ เช่น NMR HPLC Mass spectroscopy เป็นต้น เพื่อจะได้ทราบโครงสร้างและสามารถแยกสารได้อย่างบริสุทธิ์
2. ควรทำการทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งหลาย ๆ ชนิด เพื่อจะได้ข้อมูลเปรียบเทียบความสามารถในยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งแต่ละชนิด นำไปสู่ขั้นตอนในการพัฒนาต่อไป
3. ควรทำการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ศึกษาทั้งในรูปกลุ่มสารที่แยกได้ในแต่ละ Fraction และโมเลกุลเดี่ยว ๆ ที่สามารถแยกได้ โดยเปรียบเทียบกับสารธรรมชาติที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ที่แยกได้ในธรรมชาติ เช่น วิตามินซี, วิตามินอี หรือ เบต้าแคโรทีน รวมทั้งทดสอบคุณสมบัติกับสารที่เป็นอนุมูลอิสระอย่างถาวร เช่น DPPH เป็นต้น

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

เอกสารอ้างอิง

อร่าม คุ้มกลาง และวินัย แสงแก้ว.2540. มะเม่า : ไม้ผลท้องถิ่นที่ต้องพัฒนา. วารสารเทคโนโลยีราชมงคล ฉบับพิเศษคล้ายวันสถาปนาสถาบันครบ 22 ปี. หน้า 40-48

Geller,J.;Sionit,L.;Partido,C.;Li,L.;Tan,X.;Youngkin,T.;Nachtsheeim,D.and Hoffman,R.M.1998.Genistein inhibits the growth of human-patient BPH and prostate cancer in histoculture.Prostate.34(2) : 75-79.

Gordon, M.H and An,J.(1995) Antioxidant Activity of Flavonoids Isolated from Licorice. J. Agric.Food chem. 43(7) : 1784-1788.

Igile, G.O ; Oleszek, W. ; Jurzysta, M. ; Burda, S.; Fafunso, M. and Fasanmade, A.A. (1994) Flavonoids from *Vernonia amygdalina* and Their Antioxidant Activities. J. Agric.Food chem. 42(11) : 2445-2448.

Minami, H ; Kuwayama, A. ; Yoshizawa, T and Fukuyama,Y(1996) Novel Prenylated Xanthones with Antioxidant Property from the wood of *Garcinia subelliptica*. Chem. Pharm.Bull. 44(11) : 2103-2106.

Newmark, H.L.(1996) Plant Phenolics as Potential Cancer Prevention Agents : Dietary Phytochemicals in Cancer Prevention and Treatment. pp 25-34.Edited under the auspices of the American Institute for Cancer Research, Plenum Press, New York.

Owen, R.W. ; Giacosa, A. ; Hull, W.E. ; Haubner, R. ; Spiegelhalder, B. and Bartsch H. (2000) The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. European Journal of Cancer. 36(10) : 1235-1247.

Pessoa,C.;Silveira,E.R.;Lemos,T.L.;Wetmore,L.A.;Moraes,M.O.andLeyva,A.2000.Antiproliferative effects of compounds derived from plants of Northeast Brazil.Phytother Research.14(3) :187-191.

Singhal,R.L.;Yeh,Y.A.;Praja,N.;Olah,E.;Sledge,G.W.Jr.andWeber,G.1995.Quercetin down-regulates signal transduction in human breast carcinoma cells.*Biochem Biophys Res Commun*.208(1) : 425-431

Wenzel,U.;Kuntz,S.;Beendel,M.D.and Daniel,H.2000.Dietary flavone is a potent apoptosis inducer in human colon carcinoma cells.Cancer Research.60(14) : 3823-3831

143195

๔๑๑.๒๑
ว๓๘๐

Yen,G.C.; Wu,S.C. and Duh, P.D.(1996) Extraction and Identifiaction of Antioxidant Components from the Leaves of Mulberry (*Morus alba* L.) . J. Agric.Food chem. 44 (7) : 1687-1690.