ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว

Free Radical Scavenging Activity of Seed Coat Extracts of Sweet and Sour Tamarinds

วันเช็ง สิทธิกิจโยธิน[1] และ ดวงฤดี เชิดวงศ์เจริญสุข[2]*

[1]ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

[2]คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

Wancheng Sittikijyothin[1] and Duangrudee Cherdwongcharoensuk[2]*

[1] Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Burapha University.

[2] Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University.

บทคัดย่อ

มะขามจัดเป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยาสมุนไพร โดยน้ำต้มจากใบและดอกมะขามสามารถช่วยลดความดันโลหิต มะขามเปียกสามารถเป็นยาระบาย ขับเสมหะ ในขณะที่เมล็ดนำมาใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง ยาขับพยาธิ เป็นต้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่การศึกษาวิจัยส่วนใหญ่ไม่ได้ระบุชนิดของมะขามและแหล่งที่มาที่แน่นอนของเมล็ดมะขามที่นำมาศึกษา และเนื่องจากมะขามต่างชนิดกันจะมีองค์ประกอบภายในเมล็ดแตกต่างกันออกไป เป็นผลให้ฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระที่ได้แตกต่างเช่นกัน ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการเปรียบเทียบฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวความเข้มข้น 1 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณฟีนอลอยู่ในช่วง 0.233 ± 0.001 ถึง 1.09 ± 0.04 ไมโครกรัม เมื่อคำนวณเป็น gallic acid และมี ร้อยละการยับยั้งสาร Diphenyl ถึง 2-picrylhydrazyl (DPPH) อยู่ในช่วง 41.01 ± 4.92 ถึง 91.64 ± 1.38 โดยความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวาน 1 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณฟีนอล อยู่ในช่วง -0.04 ± 0.006 ถึง 1.06 ± 0.009 ไมโครกรัม เมื่อคำนวณเป็น gallic acid และมี ร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 3.2 ± 3.3 ถึง 90.49 ± 0.27 จากการเปรียบเทียบสรุปได้ว่า (1) สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมีปริมาณฟีนอลและ ร้อยละการยับยั้งสาร DPPH มากกว่าสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (2) ปริมาณสารประกอบฟีนอลสัมพันธ์กับ ร้อยละการยับยั้งสาร DPPH และ (3) สารฟีนอลและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด

คำสำคัญ : มะขามเปรี้ยว มะขามหวาน สารฟีนอล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

***Corresponding author.** E-mail: duangrudd@hotmail.com

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Abstract

Tamarind is a traditional herb having medical therapeutic effects. The antioxidant activity of tamarind seed coat extract has been reported however the types of tamarind have not been specified. Difference types of tamarinds may have a difference seed contents and antioxidant characters. Hence, the main aim of this study is to compare the antioxidant property of seed coat extracts between sweet (from Petchaboon province) and sour tamarinds (from Angthong province). It was found that sour tamarind seed coat extracts (1-100 µg/ml) contained total phenolic compounds between 0.233 ± 0.001 to 1.09 ± 0.04 µg calculated as gallic acid and the percent DPPH inhibition between 41.01 ± 4.92 to 91.64 ± 1.38. In addition, the sweet tamarind seed coat extracts contained phenolic compounds between -0.04 ± 0.006 to 1.06 ± 0.009 µg calculated as gallic acid and the percent DPPH inhibition between 3.2 ± 3.3 to 90.49 ± 0.27. In summary, we can conclude that (1) the total phenolic compunds and the percent DPPH inhibition of sweat tamarind seed coat extracts were significant higher than sour tamarind seed coat extracts (2) the quantity of phenolic compounds corresponded to the percent DPPH inhibition and (3) the amount of phenolic compounds and the percent DPPH inhibition were dose dependent.

Keywords : sour tamarind, sweet tamarind, phenolic compound, antioxidant

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

บทนำ

มะขาม (*Tamarindus indica* L.) จัดเป็นพืชตระกูลถั่ว (Leguminosae) ที่เติบโตในแถบภาคพื้นเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ประกอบด้วยมะขามเปรี้ยวและมะขามหวาน พันธุ์มะขามหวานในประเทศไทย ได้แก่ พันธุ์สีทอง, พันธุ์ศรีชมพู, พันธุ์ขันตี, พันธุ์อินทผลัม และ พันธุ์ประกายทอง ส่วนพันธุ์มะขามเปรี้ยวในประเทศไทย ได้แก่ พันธุ์ฝักโตและพันธุ์ที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำคือ พันธุ์ศรีสะเกษ 019 โดยมะขามมักนิยมนำมาใช้เป็นเครื่องเทศสำหรับปรุงอาหาร นอกจากนี้มะขามยังจัดเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย และมีบทบาทในด้านการแพทย์ทางเลือก เนื่องจากมีสรรพคุณทางการบำบัดรักษา โดยผลมีสรรพคุณช่วยในการย่อย บำรุงเลือด ระบายและขับลม ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดยังช่วยสมานแผลที่โดนไฟไหม้ได้ ส่วนเมล็ดยังมีฤทธิ์ต้านอาการท้องร่วง ช่วยขับพยาธิและทำให้อาเจียน (Sudjaroen *et al*., 2005; Komutarina *et al*., 2004) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะขามมีฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง เนื่องจากปัจจุบันยารักษาโรคมะเร็งยังคงมีราคาแพง และวิธีการบำบัดผู้ป่วยด้วยสารเคมี ก่อให้เกิดผลข้างเคียงอันไม่พึงประสงค์ การศึกษาฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระอาจใช้เป็นตัวบ่งชี้อย่างหนึ่งถึงคุณสมบัติในการต่อต้านโรคมะเร็งของสารสกัดจากเมล็ดมะขาม

อนุมูลอิสระ หมายถึงสารซึ่งมีอิเล็กตรอนซึ่งไม่มีคู่อยู่ในวงรอบของอะตอม หรือโมเลกุล อนุมูลอิสระที่มากเกินไปก่อให้เกิดอันตรายต่อไขมัน (โดยเฉพาะ low density lipoprotein) โปรตีน หน่วยสารพันธุกรรม DNA และคาร์โบไฮเดรต ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด โรคที่สำคัญและมีการศึกษากันมาก ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว Alzheimer's disease หรือโรคความจำเสื่อม โรคไขข้ออักเสบ โรคความแก่ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมะเร็งบางชนิด เป็นต้น (Bagchi, & Puri, 1998)

สารสกัดจากเมล็ดมะขามประกอบด้วย สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) ไซโลกลูแคน (xyloglucan) และเพคติน (pectin) เป็นต้น จากผลการวิจัยที่ศึกษาเมล็ดมะขามจากตลาดภายในกรุงเทพ พบสารประกอบฟีนอลในเมล็ดมะขาม (6.54 กรัมจากกิโลกรัมของเมล็ดมะขามดิบแห้ง) และจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม (2.82 กรัมต่อกิโลกรัมของเมล็ดมะขามดิบแห้ง) โดยสารดังกล่าวจัดเป็นสารป้องกันอนุมูลอิสระช่วยลดความเสียหายอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidative damage) ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (Sudjaroen *et al*., 2005) จากการสกัดสารประกอบฟีนอลจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามประกอบด้วย procyadin B2, epicatechin, procyanidin trimer, procyanidin tetramer, procyanidin pentamer, procyanidin hexamer และ polymeric tannins (Sudjaroen *et al*., 2005) ส่วนไซโลกลูแคนเป็นกลุ่มของโพลีแซคคาไรด์ที่พบในส่วนเอนโดสเปิร์มของเมล็ด โดยสัดส่วนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในโครงสร้างทางเคมีของไซโลกลูแคนมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ของพืช (Jarvis & Apperley, 1990) โดยไซโลกลูแคนที่สกัดจากมะขาม สามารถป้องกันมะเร็งผิวหนังที่เกิดจากการกระตุ้นของแสงอาทิตย์ (Strickland *et al*., 1999, 2001 and 2009) และป้องกันการกลายพันธุ์ของเซลล์ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยสารไนโทไพรีน (nitopyrene) (Hensel & Meier,1999) นอกจากนี้ไซโลกลูแคนที่สกัดจากรา (Feng Wei Gu) ยังแสดงฤทธิ์ต้านการเกิดเนื้องอก (Zhuang *et al*., 1993) อีกด้วย

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง พบว่าเมล็ดมะขามที่นำมาสกัดนั้นไม่ได้ระบุประเภทของมะขาม ว่าเป็นมะขามหวานหรือมะขามเปรี้ยว สารประกอบภายในเมล็ดมะขามแต่ละประเภทแตกต่างกัน ทำให้มีผลต่อฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของเมล็ดมะขามเช่นกัน ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระจากมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว รวมถึงปริมาณสารฟีนอล โดยใช้เอธานอล (ethanol) ในการสกัดสารจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม เพราะสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถละลายได้ดีในเอธานอลที่เป็นโมเลกุลที่มีขั้ว (Luengthanaphol *et al*. 2004)

ผลการวิจัยนี้อาจนำไปสู่แนวทางในการส่งเสริมการเพาะปลูกมะขามประเภทที่ให้ฤทธิ์ต่อต้านสารอนุมูลอิสระสูงสุด ซึ่งอาจนำไปสู่การนำสารสกัดจากเมล็ดมะขามที่ได้มาผลิตเป็นอาหารเสริมที่ช่วยเสริมสร้างสุขภาพและป้องกันอนุมูลอิสระที่อาจก่อให้เกิดโรคมะเร็งในอนาคต

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

แหล่งที่มาของตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเมล็ดมะขามหวานจากจังหวัดเพชรบูรณ์ และเมล็ดมะขามเปรี้ยวจากจังหวัดอ่างทอง

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้มาจากบริษัท Sigma-Aldrich หรือ Cayman ดังนี้ คือ L-ascorbic acid, 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

(DPPH), Folin Ciocalteu's phenol reagent, Sodium carbonate, Absolate ethanol

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมผงมะขามดิบ คัดเลือกเมล็ดมะขามหวานจากจังหวัดเพชรบูรณ์ และมะขามเปรี้ยวจากจังหวัดอ่างทอง นำเมล็ดมะขามไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน จากนั้นแกะเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามออกให้หมด นำเปลือกมาบดจนละเอียดโดยผ่านตะแกรงร่อนขนาด 355 ไมครอน และเก็บไว้ที่ตู้ดูดความชื้น

2. การสกัดสารจากเปลือกเมล็ดมะขาม นำผงเปลือกเมล็ดมะขาม 10 กรัม สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 100% 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ทำการระเหยเอทานอลด้วยเครื่องกลั่นแยกสาร (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งจะได้สารสกัดจากเมล็ดมะขามมีลักษณะเป็นผง จากนั้นนำไปเก็บที่ตู้ดูดความชื้น โดยน้ำหนักสารที่สกัดได้ จากมะขามหวาน (จังหวัดเพชรบูรณ์) คือ 2.526 กรัม และมะขามเปรี้ยว (จังหวัดอ่างทอง) คือ 2.312 กรัม ซึ่งคิดเป็นร้อยละของน้ำหนักของสารสกัดได้ต่อผงเปลือกมะขามหวาน คือ 25.26 และมะขามเปรี้ยว คือ 23.12

3. การหาปริมาณสารฟีนอล โดยใช้สาร Folin Ciocalteu reagent ที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Slinkard & Singleton (1927) สารละลายมาตรฐานคือ gallic acid ผสมสารตัวอย่าง (ความเข้มข้น 1, 10, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) 0.25 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 0.25 มิลลิลิตร และ Folin Ciocalteu reagent 0.25 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาที เติม 10% sodium carbonate 1 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV-1601 (Shimadzu) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง ปริมาณสารฟีนอลของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเฉลี่ยอยู่ในรูป µg of gallic acid equivalents ซึ่งคำนวณจาก linear regression equation ของ standard curve ของกราฟ gallic acid โดยสมการเส้นตรงที่ได้คือ $Y = 0.445x - 0.0732$ ($r^2 = 0.9972$) เมื่อ Y คือ gallic acid equivalents และ x คือค่าดูดกลืนแสง

4. การทดสอบฤทธิ์ต่อต้านสารอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH method ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Blois (1958) สารละลายมาตรฐานคือ ascorbic acid ผสมสารตัวอย่าง (ความเข้มข้น 1, 10, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) 1.5 มิลลิลิตร และสาร 0.1 M DPPH 0.5 มิลลิลิตร ในเอทานอลความเข้มข้น 100% ทิ้งไว้ 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV-1601 (Shimadzu) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง หลังจากนั้นทำการคำนวณหา ร้อยละของฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดังนี้คือ

$$\% \text{ DPPH inhibition} = \frac{(A_c - A_s) \times 100}{A_c} \qquad (1)$$

เมื่อ A_c คือ absorbance of control

A_s คือ absorbance of sample

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistic analysis) การทดสอบตัวอย่างฯ ละ 3 ครั้งในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอล สามารถนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (± SD) และวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของข้อมูล โดยใช้ One-way Anova (Single factor)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

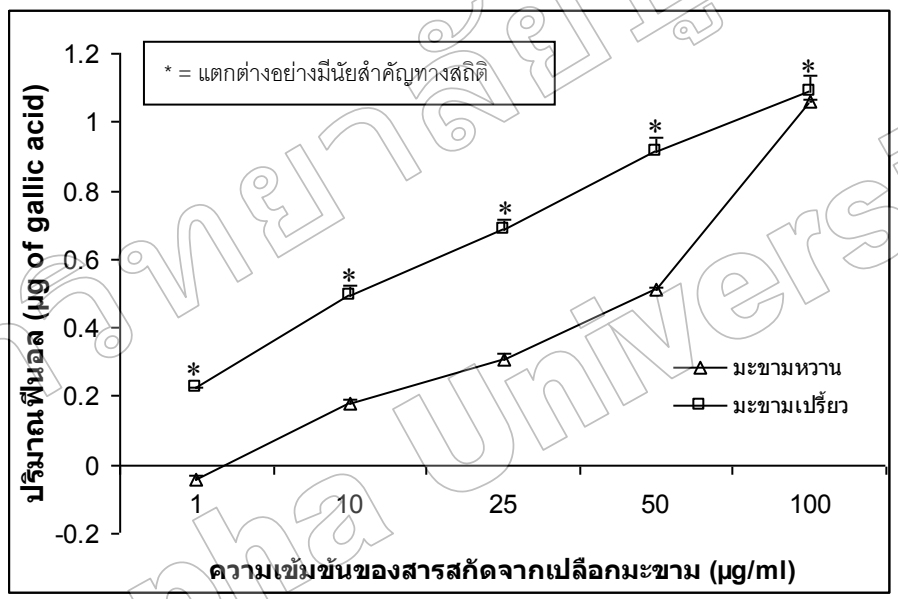
ปริมาณสารฟีนอลของสารสกัด (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 1) คำนวณได้จาก linear regression equation ของ standard curve ของกราฟ gallic acid ($Y = 0.445x - 0.0732$, $r^2 = 0.9972$) โดย Y = gallic acid equivalents และ x = ค่าดูดกลืนแสง จากผลการทดลองสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามความเข้มข้น 1 ถึง100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยว มีปริมาณฟีนอลอยู่ในช่วง 0.233 ± 0.001 ถึง 1.09 ± 0.04 ไมโครกรัม เมื่อคำนวณเป็น gallic acid ซึ่งมากกว่าปริมาณฟีนอลจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวาน (-0.04 ± 0.006 ถึง 1.06 ± 0.009 ไมโครกรัม gallic acid) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณสารฟีนอลจำนวนมากที่พบในสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวและมะขามหวาน ในการวิจัยนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Sudjaroen *et al*., 2005 ที่สกัดสารฟีนอลจากเมล็ดและเยื่อหุ้มผลของมะขามที่ซื้อจากตลาดในกรุงเทพ

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 2) การวิจัยนี้ได้เลือกวิธี DPPH method ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยหรือสารออกฤทธิ์สามารถทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ โดยมีหลักการดังนี้ คือ สารเคมีชนิดนี้เป็นอนุมูลอิสระ และสามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่นสูงสุด 517 นาโนเมตร ทำให้มองเห็นเป็นสีม่วง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม (เมื่อ n = 3)

ความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม (µg/ml)	ปริมาณฟีนอล (µg gallic acid)		ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)		ค่า P-valve	Significant
	มะขามหวาน	มะขามเปรี้ยว	มะขามหวาน	มะขามเปรี้ยว		
1	-0.03968	0.22673	0.006058	0.001335	0.000707	< 0.001
10	0.177632	0.496252	0.01362	0.025009	0.0021459	< 0.005
25	0.309797	0.688195	0.013747	0.029732	0.0000368	< 0.001
50	0.511233	0.912772	0.008679	0.042214	0.000087669	< 0.001
100	1.057248	1.089733	0.008992	0.044767	0.023347	< 0.05

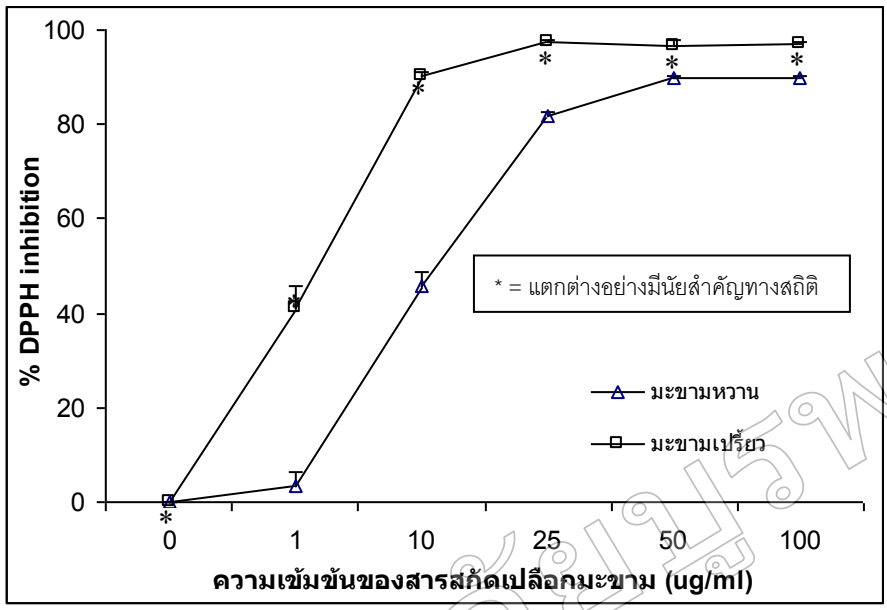


ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามกับความเข้มข้นของสารสกัด

ตารางที่ 2 ร้อยละ DPPH inhibition ของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม (เมื่อ n = 3)

ความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม (µg/ml)	% DPPH inhibition (µg gallic acid)		ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)		ค่า P-valve	Significant
	มะขามหวาน	มะขามเปรี้ยว	มะขามหวาน	มะขามเปรี้ยว		
1	3.197917	41.01042	3.30225	4.915033	0.000196	< 0.001
10	45.625	90.44792	3.138098	0.85315	0.0000183	< 0.001
25	81.86458	97.59375	0.793241	0.225347	0.0000106	< 0.001
50	89.71875	96.8125	0.555512	0.912693	0.000326	< 0.001
100	89.6525	97.14583	0.678204	0.226068	0.0000542	< 0.001

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละ DPPH inhibition ของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามกับความเข้มข้นของสารสกัด

$$DPPH^{\bullet} + (AH)_n \longrightarrow DPPH\text{-}H + (A^{\bullet})_n$$

อนุมูลอิสระใหม่ที่เกิดขึ้น ($A^{\bullet}$) จะทำปฏิกิริยาต่อไป (radical-radical interaction) โดยกระบวนการ radical disproportionation ได้เป็นโมเลกุลที่มีความคงตัว

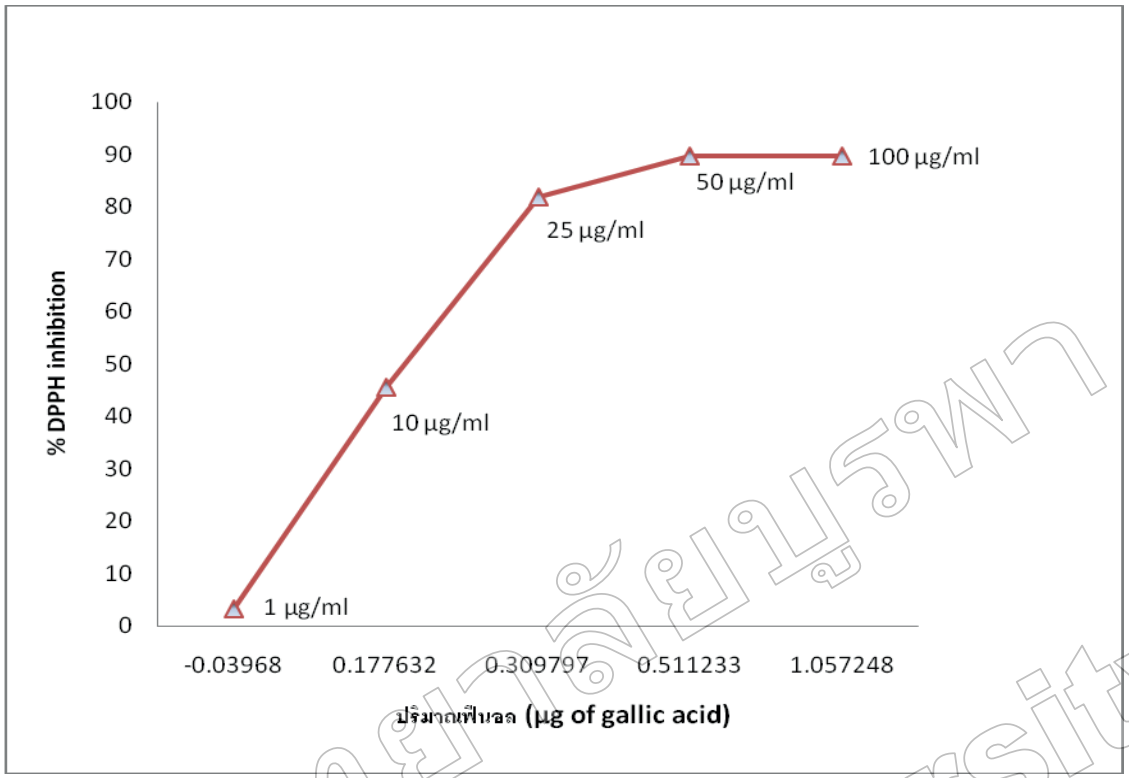
$$DPPH^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow DPPH\text{-}A$$
$$A^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow A\text{-}A$$

เมื่ออนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ถูกรีดิวซ์โดยได้รับโปรตอนก็จะเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ส่งผลให้การดูดกลืนแสงลดลง ดังนั้นการลดลงของอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ จึงเป็นดัชนีที่สามารถวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่ใช้ทดสอบได้ (Ramli *et al*., 2008; Abdel-Hameed, 2009)

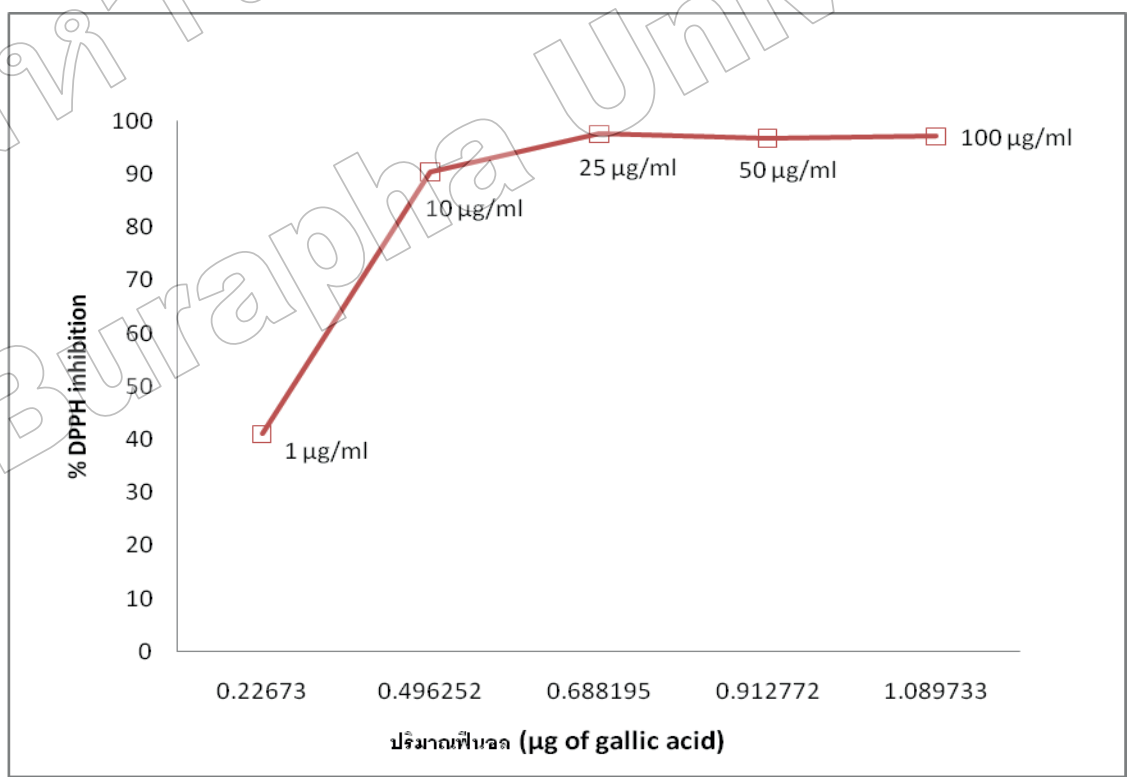
จากผลการศึกษาเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามทั้ง 2 ชนิด พบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานที่ศึกษาโดย Luengthanaphol *et al*. 2004 และพบว่า สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามที่ความเข้มข้น 1 ถึง100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 41.01 ± 4.92 ถึง 91.64 ± 1.38 ซึ่งมากกว่าเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานที่มีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วงร้อยละ 3.2 ± 3.3 ถึง 90.49 ± 0.27 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย IC50 ของร้อยละการยับยั้งสาร DPPH ของเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมีค่า 3.225 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้อยกว่าเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานซึ่งมีค่า 11.875 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ ascorbic acid ซึ่งมีค่า 11.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (65 ไมครอน) ซึ่งแสดงว่าสารสกัดของเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดของเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวาน และ ascorbic acid

จากการเปรียบเทียบผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมี ร้อยละการยับยั้งสาร DPPH มากกว่าสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลที่พบในเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมากกว่าในมะขามหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 3 และ 4) สรุปความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Luengthanaphol *et al*. 2004 และ Sudjaroen *et al*., 2005 โดยสารประกอบฟีนอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่เป็น free radical terminators (Abdel-Hameed, 2009) ที่โครงสร้างหลักประกอบด้วย aromatic ring แทนที่ด้วย hydroxyl group ที่สามารถใช้จับกับอนุมูลอิสระได้ ดังนั้นเมื่อสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามมีปริมาณสารฟีนอลมาก ทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง นอกจากนี้ ผลการศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่า ปริมาณของสารฟีนอลและ ร้อยละการยับยั้งสาร DPPHขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามทั้ง 2 ชนิดอีกด้วย ซึ่ง มีการยืนยันคล้ายคลึงกับงาน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลกับร้อยละ DPPH inhibition ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวาน



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลกับร้อยละ DPPH inhibition ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยว

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิจัยของ Saengkhae *et al*. 2007 ที่ทำการศึกษาสารสกัดจากใบ Nelumbo nucifera Gaertn

สรุปผลการวิจัย

เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลายจากงานวิจัยหลายฉบับว่ามะขามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ถึงอย่างไรก็ตามยังขาดข้อมูลเบื้องต้นที่บ่งบอกถึงความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างมะขามเปรี้ยวและมะขามหวาน การศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลในเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามทั้ง 2 ชนิด โดยใช้ตัวอย่างจากจังหวัดเพชรบูรณ์และอ่างทอง จากผลการศึกษาวิจัยสรุปได้ดังนี้คือ (1) สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมีปริมาณฟีนอลและ ร้อยละการยับยั้งสาร DPPH มากกว่าสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวาน (2) ปริมาณสารประกอบฟีนอลสัมพันธ์กับ ร้อยละการยับยั้งสาร DPPH และ (3) สารฟีนอลและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยในครั้งนี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา (เลขที่สัญญา 46/2552) และขอขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์สำหรับอุปกรณ์ และสถานที่ทำการศึกษาวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์จันทรวรรณ แสงแข ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับเครื่องมือและวิธีการทดลองระหว่างการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Abdel-Hameed, E.S. (2009). Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. *Food Chemistry*, 114, 1271–1277.

Bagchi, K.& Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease. *Eastern Mediterranean Health Journal,* 4, 350-360.

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.

Hensel, A., & Meier, K. (1999). Pectins and xyloglucans exhibit antimutagenic activities against nitroaromatic compounds. *Planta Medica*; 65, 395-399.

Jarvis, M.C., & Apperley, D.C. (1990). Direct observation of cell wall structure in living plant tissues by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. *Plant Physiology*, 92, 61-65.

Komutarina, T., Azadib, S., Butterworthb, L., Keilb, D., Chitsomboona, B., Suttajitc, M., & Meadeb, B.J. (2004). Extract of the seed coat of Tamarindus indica inhibits nitric oxide production by murine macrophages *in vitro* and *in vivo*. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 649–658.

Luengthanaphol, S., Mongkholkhajornsilp, D., Douglas, S., Douglas, P.L., Pengsopa, L., & Pongamphai, S., (2004). Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat–preliminary experiments. *Journal of Food Engineering*, 63, 247–252.

Ramli, S., Bunrathep, S., Tansaringkan, T., & Ruangrungsi, N. (2008). Screening for free radical scavenging activity from ethanolic extract of Minosaceous plants endemic to Thailand. *Journal of Health Research*, 22, 55-59.

Saengkhae, C., Arunnopparat, W., & Sungkhajorn, P. (2007). Antioxidative activity of the leaf of Nelumbo nucifera Gaertn. on oxidative stress-induced erythrocyte hemolysis in hypertensive and normotensive rats. *Thai Journal of Physiological Sciences*, 20, 70-78.

Slinkard, K., & Singleton V.L. (1997). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enoogy and Viticulture*, 28, 49-55.

Strickland, F.M., Kuchel, J.M., & Halliday, GM. (2004). Natural products as aids for protecting the skin's immune system against UV damage. *Cutis*, 74, 24-28.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Strickland, F.M, Sun, Y., Darvill, A., Albersheim, P., Eberhard, S., Pauly, M., & Pelley, R.P. (1999). Inhibition of UV-induced immune suppression and interleukin-10 production by plant oligosaccharides and poly saccharides. *Photochemistry and Photobiology*, 69, 141-147.

Strickland, F.M, Sun, Y., Darvill, A., Eberhard, S., Pauly, M., & Albersheim, P. (2001). Preservation of the delayed-type hypersensitivity response to alloantigen by xyloglucans or oligogalacturonides does not correlate with the capacity to reject ultraviolet-induced skin tumors in mice. *Journal of Investigation Dermatology*, 116, 62-68.

Sudjaroen,Y., Haubner, R.,W¨urtele, G., Hull,W.E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Changbumrung, S., Bartsch, H., & Owen, R.W. (2005). Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 1673–1682.

Zhuang, C., Mizuno, T., Shimada, A., Ito, H., Suzuki, C., Mayuzumi, Y., Okamoto, H., Ma, Y., Li, J. (1993). Antitumor protein-containing polysaccharides from a Chinese mushroom Fengweigu or Houbitake, Pleurotus sajor-caju (Fr.) Sings. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 57, 901-906.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University