การหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะม่วงป่า

The investigation of antioxidant capacity of *Mangifera coloneura* Kurz.

โสรญา มะสูงเนิน

ธราธิป รัตนมนตรี

มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

พ.ศ.2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม ปีงบประมาณ 2559)

หัวข้อวิจัย การหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากมะม่วงป่า
ผู้ดำเนินการวิจัย สางสาวโสรญา มะสูงเนิน
นายธราธิป รัตนมนตรี
ที่ปรึกษาหลัก ดร. พรพิมล พลคำ
ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. คมศร ลมไธสง
หน่วยงาน สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
ปี พ.ศ. 2559

บทคัดย่อ

มะม่วงป่าสุกถูกนำมาศึกษาหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ น้ำ 70% เอทานอล และ เมทานอล จากการศึกษาพบว่า การใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน และต่างวิธีนั้น มะม่วงป่าสุกจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน คือ สารสกัดด้วยน้ำจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (90.16%) รองลงมาคือสารสกัดด้วย 70% เอทานอล (52.60%) และ เมทานอล (4.64%) เมื่อศึกษาด้วยวิธี DPPH นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดด้วยน้ำ มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (95.49%) รองลงมาคือ เมทานอล (82.70%) และ 70% เอทานอล (9.28%) เมื่อศึกษาด้วยวิธี ABTS

Research Title The investigation of antioxidant capacity of *Mangifera coloneura* Kurz.

Researcher Mss. Soraya Masongnuan

Mr. Taratip Rattanamontree

Research Consultants Dr. Pornpimol Ponkham

Asst.Prof. Dr. Khomsorn Lomthaisong

Organization Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology Rajabhat Maha Sarakham University

Year 2016

Abstract

Antioxidant capacity of *Mango capacity* Kurz. was investigated by DPPH assay and ABTS assay with three different solvents extract; water, 70% ethanol and methanol. The results showed that extraetion with the different solvents extract and different methods results in the different of antioxidant capacity. DPPH assay provided highest antioxidant capacity (90.16%) from water extracted consequently 70% ethanol (52.60%) and methanol (4.64%). Additionally, ABTS assay exhibited highest antioxidant capacity (95.49%) from water extracted follow by methanol (82.70%) and 70% ethanol (9.28%).

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร. พรพิมล พลคำ ผศ.ดร. คมศร ลมไธสง อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ศรินทร์ ทองธรรมชาติ อาจารย์มนชวัน วังกุลางกูร อาจารย์สุชนา วานิช คณะกรรมการสอบ ในโครงงานวิจัยเป็นอย่างสูง ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน และตรวจสอบแก้ไข ข้อบกพร่องเพื่อให้งานวิจัยนี้มีความสมบูรณ์ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี ช่วยในการอบรมสั่งสอน ชี้แนะ ให้ความรู้ และข้อคิดต่าง ๆ ทั้งในด้านของการทำงานวิจัยและการใช้ชีวิตอีกทั้งยังเสียสละอันมีค่าเพื่อให้คำปรึกษาแก่ข้าพเจ้า ทำให้โครงงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี โดยโครงการวิจัยเป็นโครงการที่เกี่ยวข้องกับมะม่วงป่า ซึ่งได้รับการสนับสนุนจากอาจารย์ที่ปรึกษาในการทำวิจัย และขอขอบพระคุณคณะอาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่าน ที่ได้ชี้แนะ อบรมสั่งสอนข้าพเจ้าทั้งให้ความรู้ คุณธรรม จริยธรรม ตลอดจนการดำเนินชีวิตตลอดมาทำให้ข้าพเจ้ามีความรู้ความสามารถ

ขอขอบคุณนางสาวอรุณรัตน์ อุทัย นักวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเคมี ประจำศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ นางอัญชลี มาคิน นางสาวนงลักษณ์ ศรีแก้ว นักวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม นายสมเกียรติ ระวังแก้ว พนักงานวิทยาศาสตร์ นายศุภชัย หมื่นแก้ว พนักงานห้องปฏิบัติการ นางสาวมลฤดี กงชัยภูมิ และนางสาวจิราภรณ์ พิมพ์ภูมี นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่คอยอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับเครื่องมือ และอุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดแนะนำการใช้เครื่องมือให้ถูกวิธี และเสียสละเวลาอันมีค่าในการช่วยเหลือการทำวิจัยครั้งนี้

ขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคามที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ทุนอุดหนุนในการทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาของข้าพเจ้าที่คอยอบรมเลี้ยงดูข้าพเจ้า คอยให้กำลังใจ ให้ความรัก และสนับสนุนข้าพเจ้าในทุก ๆ อย่างและทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จในหลาย ๆ ด้านอย่างทุกวันนี้

คณะผู้วิจัย

2559

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ		ก
Abstract		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญ		ง
สารบัญภาพ		ฉ
บทที่ 1	**บทนำ**	1
	1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
	1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	4
	2.1 อนุมูลอิสระ	4
	2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ	5
	2.3 มะม่วงป่า	10
	2.4 ปฏิกิริยาที่ใช้ในการศึกษาหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ	12
	2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
บทที่ 3	**วิธีดำเนินการวิจัย**	15
	3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	15
.	3.2 วิธีการวิจัย	16
	3.2.1 การเตรียมตัวอย่างมะม่วงป่า	16
	3.2.2 การเตรียมสารสกัดจากเนื้อผลมะม่วงป่าสุก	16
	3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากเนื้อผลมะม่วงป่าสุกด้วย DPPH assay	17
	3.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากเนื้อผลมะม่วงป่าสุกด้วย ABTS assay	18
บทที่ 4	**ผลการวิจัย**	20

4.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay 20
4.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay 22
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย 25

บรรณานุกรม 26

ภาคผนวก 28
ภาคผนวก ก การเตรียมสาร และการคำนวณหาปริมาณ สารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay 29
ภาคผนวก ข การเตรียมสารและการคำนวณหาปริมามาณ สารต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay 32
ภาคผนวก ค เครื่องมือที่ใช้ในโครงการวิจัย 35
ภาคผนวก จ ขั้นตอนการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay จากสารละลายตัวอย่าง 38
ภาคผนวก ง ขั้นตอนการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay จากสารละลายตัวอย่าง 40

ประวัติผู้วิจัย 42

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	สูตรโครงสร้างของ Butylated Hydroxyl Anisole (BHA)	7
2.2	สูตรโครงสร้างของ Butylated hydroxyltoluene (BHT)	8
2.3	สูตรโครงสร้างของ tert-butylhydroxyquinone (TBHQ)	9
2.4	สูตรโครงสร้างของ 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman -2-carboxylic acid (Trolox)	9
2.5	ลักษณะทางกายภาพของมะม่วงป่า (ก) ต้นมะม่วงป่า (ข) ผลมะม่วงป่าดิบ (ค) ผลมะม่วงป่าสุก	11
2.6	การเกิดปฏิกิริยาของ DPPH assay	12
2.7	การเกิดปฏิกิริยาของ ABTS assay	13
4.1	เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH ของสารสกัดมะม่วงป่าที่สกัดด้วยน้ำ 70% เอทานอล และเมทานอล	20
4.2	ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH ของมะม่วงป่าสุก (ก) กราฟมาตรฐาน Trolox (ข) ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH ของมะม่วงป่าสุกเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่สกัดด้วยน้ำ 70% เอทานอล และเมทานอล	21
4.3	เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS ของสารสกัดมะม่วงป่าสุกที่สกัดด้วยน้ำ 70% เอทานอล และเมทานอล	22
4.4	ความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS ของมะม่วงป่าสุก (ก) กราฟมาตรฐาน Trolox (ข) ความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS ของมะม่วงป่าสุกเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ที่สกัดด้วยน้ำ 70% เอทานอล และเมทานอล	23
ค-1	เครื่องชั่งสี่ตำแหน่ง	36
ค-2	ตู้เย็น	36
ค-3	เครื่อง Rotary evaporator (รุ่น RVCHT)	37
ค-4	เครื่อง Spectrophotometer	37
จ-1	การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay จากสารละลายตัวอย่าง	38
ง-1	การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay จากสารละลายตัวอย่าง	40

บรรณานุกรม

กนก ชวนานนท์. กรุงเทพฯ : **ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท**, [ม.ป.ป.].

เจนจิรา จิรัมย และประสงค สีหานาม, 2554, **อนุมูลอิสระและสารตานอนุมูลอิสระ : แหลงที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา**, ว.วิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ 1(1): 59-70.

เดชา ศิริภัทร, **ต้นไม้ใบหญ้า นิตยสารหมอชาวบ้าน** เล่มที่: 162/ ตุลาคม 2535.

นฤมล เบญจปัก, ประสาร สวัสดิ์ชิตัง, ธนเศรษฐ์ เสนาวงค์ และ สายันต์ ตันพานิชย์. **"ความสามารถต้านออกซิเดชันของผักหวานบ้านในเซลล์ human embryonic kidney 293 (HEK-293 cells)" ว. วิทย์. กษ.** 39(3) (พิเศษ) : 197-200 (2542)

บุหรัน พันธุสวรรค, ไมตรี สุทธจิตต และสุพักตร พวงบางโพ, 2553, **ฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระของกะทกรก ทองพันชั่ง ผักหวานปาเพกา และมะระขี้นก ในพื้นที่มหาวิทยาลัยนเรศวร พะเยา**, รายงานวิจัย, มหาวิทยาลัยนเรศวรพะเยา, พะเยา, 34น.

ไมตรี สุทธจิตต, 2555, **ความรูพื้นฐานของออกซิเดชัน**, น. 1-14, ใน วรพล เองวานิช (บรรณาธิการ), อนุมูลอิสระและสารตานอนุมูลอิสระ, คณะวิทยาศาสตรการแพทย มหาวิทยาลัยพะเยา รวมกับ สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย,สำนักพิมพนวัตกรรมสุขภาพ, เชียงใหม.

โรสวัณย์ พิริยะสมบูญธุ์. **'อาหารต้านอนุมูลอิสระ'Antioxidant ตัวการโรคร้าย ปัจจัยความเสี่ยง.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : Feel good, 2544

วีณา เชิดบุญชาติ. 2545. **ปลูกผักไทยได้ทั้งอาหารและยา** . กรุงเทพฯ : บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด.

ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์. **สารต้านอนุมูลอิสระ จำเป็นต่อร่างกายอย่างไร.** นิติยสารหมอชาวบ้าน เล่ม : 316, 08/2548

ศวรรณี เหลืองสุนทรชัย. **มหัศจรรย์สารต้านอนุมูลอิสระ.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : ใกล้หมอ, 2540

ภูวนาถ นนทรีย์. กรุงเทพฯ : **โครงการหนังสือเกษตรชุมชน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**, (2539).

โอภา วัชระคุปต์ และคณะ. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : พี. เอส. พริ้นท์, (2540).

Beaca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., & Morelli, I. (2544). Antioxidant principles from Bauhinia tarapotensis. Journal of Natural Products, 64(7), 892-895.

Halliwell, B., 2542, Antioxidant defensemechanism: From the beginning to the

end, Soc. Free Radic. Biol. Med. 31: 261-272.

Lim, Y. Y., Lim, T. T., & tee, J. J. (2550). Antioxidant properties of several tropical f A comparative study. *Food Chemistry*. 103(3), 1003-1008.

Moon, J. K., & Shibamoto, T. (2552). Antioxidant assay for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1655-1666.

Senevirathne, et al.,2006 Antioxidant activity of some leafy vegetables of lndia: A comparative study. *Food Chemistry*. 101(2), 471-474.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสาร และการคำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay

การเตรียมสารละลาย DPPH stock solution (ความเข้มข้น 0.0005 มิลลิโมลาร์)

1. ชั่ง DPPH มา 0.049 g ละลายในเมทานอล และปรับปริมาตรเป็น 250 ml ด้วยเมทานอล ใน volumetric flask ซึ่งจะได้เป็น stock solution เก็บในขวดสีชา ที่ 4 ˚C

2. เมื่อจะนำไปใช้ต้องเจือจางเป็น 0.0001 Mm ด้วย เมทานอล โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง 0.0005 Mm DPPH กับ เมทานอล เป็น 1:4

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 1000 µg /ml Trolox เพื่อเทียบกับวิธี DPPH assay

1. ชั่ง Trolox มา 0.01 g ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล เป็น 10 ml เก็บในขวดสีชา ที่ 4 ˚C ซึ่งจะได้เป็น stock solution

การคำนวณ

1.การคำนวณหาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay

1.1 การคำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูล DPPH

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ที่ได้จากการนำสารสกัดตัวอย่างไปวัดมาคำนวณดังตัวอย่างต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH radical-scavenging activity} = \frac{A(\text{control}) - A(\text{sample})}{A(\text{control})} \times 100$$

เมื่อ $A_{(control)}$ = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสาร DPPH (สารละลาย DPPH+น้ำ)

$A_{(sample)}$ = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารสกัดตัวอย่าง (สารละลาย DPPH+สารสกัด)

ตัวอย่าง มะม่วงป่าสุก 5.00 g ได้สารสกัดทั้งหมด 5 ml เมื่อทำการวิเคราะห์แล้วพบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 517 nm เท่ากับ 0.501 และค่าการดูดกลืนแสงของ control ที่ความยาวคลื่น 517 nm เท่ากับ 1.057

จะได้ $\% \text{ DPPH radical-scavenging activity} = \frac{1.057 - 0.501}{1.057} \times 100$

$= 52.601$

1.2 การคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox

จากราฟมาตรฐานเส้นตรงคือ $y = -0.0014x + 1.0298$

นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่มีความยาวคลื่น 517 nm มาแทนค่า y ในสมการแล้วคำนวณหาค่า x ตัวอย่างต่อไปนี้

ตัวอย่าง มะม่วงป่าสุก 5.00 g ได้สารสกัด ทั้งหมด 5 ml เมื่อทำการวิเคราะห์แล้วพบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 515 nm เท่ากับ 0.510

จาก $y = -0.0014x + 1.0298$

จะได้ $x = \frac{(y-1.0298)}{-0.0014}$

แทนค่า y ด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

$x = \frac{0.501-1.0298}{-0.0014}$

$= 372.07$ µg/ ml

นั่นคือ สารสกัด 1 ml มี trolox equivalent = 372.071 µg/ ml

ถ้าสารสกัด 5 ml มี trolox equivalent = 372.071 × 5 = 1860.35 µg

ในการทดลองนี้ใช้ตัวอย่างมะม่วงป่าม่วงสุก 5.00 g

จะได้ว่า ตัวอย่าง 5.00 g มี trolox equivalent = 1860.35 µg

ถ้าตัวอย่าง 1 g มี trolox equivalent = 1860.35/5.00 = 366.93 µg

ดังนั้น ในมะม่วงป่าสุกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน trolox เท่ากับ 366.93 µg Trolox equivalent (TE)/g

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารและการคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay

การเตรียมสารละลาย ABTS

1. ชั่ง ABTS มา 0.0180 g ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั้นสองครั้ง (double-distilled water) เป็น 5 ml ซึ่งจะได้เป็น 7 mM ABTS solution

2. ชั่ง $K_2S_2O_2$ มา 0.0033 g ละลายและปรับปริมาตรด้วย double-distilled water เป็น 5 ml ซึ่งจะได้เป็น 2.45 mM $K_2S_2O_2$ solution

3. นำสารละลายทั้งสองที่เตรียมได้มาผสมกันจะได้เป็น ABTS stock solution เก็บในขวดสีชาที่ 4 ˚C

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 1000 µg /ml Trolox

1. ชั่ง Trolox มา 0.01 g ละลายและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล เป็น 10 ml เก็บในขวดสีชาที่ 4 ˚C ซึ่งจะได้เป็น stock solution

การคำนวณ

1.การคำนวณหาสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

1.1 การคำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูล ABTS

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ที่ได้จากการนำสารสกัดตัวอย่างไปวัดมาคำนวณดังตัวอย่างต่อไปนี้

$$\% \text{ ABTS radical-scavenging activity} = \frac{A(\text{control}) - A(\text{sample})}{A(\text{control})} \times 100$$

เมื่อ A(control) = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสาร ABTS (สารละลาย ABTS +น้ำ)

A(sample) = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารสกัดตัวอย่าง (สารละลาย ABTS +สารสกัด)

ตัวอย่าง มะม่วงป่าสุก 5.0 g ได้สารสกัดทั้งหมด 5 ml เมื่อทำการวิเคราะห์แล้วพบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 734 nm เท่ากับ 0.140 และค่าการดูดกลืนแสงของ control ที่ความยาวคลื่น 734 ml เท่ากับ 0.711

จะได้ $\% \text{ DPPH radical-scavenging activity} = \frac{(0.711-0.140)}{0.711} \times 100$

$= 80.309$

2.2 การคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox

จากราฟมาตรฐานเส้นตรงคือ $y = -0.0094x + 1.2693$, $R^2 = 0.9935$

นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างที่มีความยาวคลื่น 734 nm มาแทนค่า y ในสมการแล้วคำนวณหาค่า x ตัวอย่างต่อไปนี้

มะม่วงป่าสุก 5.0 g ได้สารสกัดทั้งหมด 5 ml เมื่อทำการวิเคราะห์แล้วพบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 734 nm เท่ากับ 0.140

จาก $y = -0.0094x + 1.2693$

จะได้ $x = (y-1.2693)/0.0094)$

แทนค่า y ด้วยค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

$$x = \frac{(0.140-1.2693)}{(-0.0094)}$$

$$= 120.138 \text{ µg/ ml}$$

นั่นคือ สารสกัด 1 ml มี trolox equivalent เท่ากับ 120.138 µg/ ml

ถ้าสารสกัด 5 ml มี trolox equivalent เท่ากับ 120.138 × 5 =600.69 µg

ในการทดลองนี้ใช้ตัวอย่างมะม่วงป่าสุก 5.0 g

จะได้ว่า ตัวอย่าง 5.0 g มี trolox equivalent เท่ากับ 600.69 µg

ถ้าตัวอย่าง 1 g มี trolox equivalent เท่ากับ (600.69/5.00) = 120.138µg

ดังนั้น ในมะม่วงป่าสุกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน trolox เท่ากับ 120.138 µg Trolox equivalent (TE)/g

ภาคผนวก ค

เครื่องมือที่ใช้ในโครงการวิจัย

ภาพที่ ค-1 เครื่องชั่งสี่ตำแหน่ง

ภาพที่ ค-2 ตู้เย็น

ภาพที่ ค-3 เครื่อง Rotary evaporator (รุ่น RVCHT)

ภาพที่ ค-4 เครื่อง Spectrophotometer

ภาคผนวก จ

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay จากสารละลายตัวอย่าง

การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay จากสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่าง 5 g แล้วเติม
เมทานอล 10 ml แล้วบดให้ละเอียด

ย้ายมาใส่หลอดทดลองและ
ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที

นำมากรองและปรับปริมาตรเป็น 5 ml
ด้วยเมทานอลและเก็บไว้ในขวดสีชา

ปิเปต 0.0001 M DPPH
ในเมทานอล 3 ml

สารตัวอย่าง 0.2 ml เขย่า
และตั้งไว้ในที่มือ 30 นาที

วัดค่าการดูดกลืนที่ 517 nm

ภาพที่ จ-1 การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH assay จากสารละลายตัวอย่าง

ภาคผนวก ง

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay จากสารละลายตัวอย่าง

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay จากสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 5 g แล้วเติม
เมทานอล 10 ml แล้วบดให้ละเอียด

ย้ายมาใส่หลอดทดลองและ
ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที

นำมากรองและปรับปริมาตรเป็น 5 ml
ด้วยเมทานอล และเก็บไว้ในขวดสีชา

วัดค่าการดูดกลืนที่ 517 nm

สารตัวอย่าง 0.1 ml เขย่า
และตั้งไว้ในที่มือ 30 นาที

ปิเปต ABTS radical ที่เจือจาง
แล้วจนได้ A_{734} = 0.7ปริมาตร 1

ภาพที่ ง-1 การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS assay จากสารละลายตัวอย่าง