



STUDY ON THE PRO-OXIDATIVE ACTIVITY IN THAI SPICES

KANCHANA DUMRI

N

กัญฉณา ดุมริ

จาก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUTE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2001

ISBN 974-04-0469-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
K16 A
2001

4136655 SCBT/M : MAJOR: BIOTECHNOLOGY; M.Sc. (BIOTECHNOLOGY)

KEY WORDS : PRO-OXIDATIVE ACTIVITY, ANTI-OXIDATIVE
ACTIVITY, SPICES

KANCHANA DUMRI : STUDY ON THE PRO-OXIDATIVE ACTIVITY
IN THAI SPICES. THESIS ADVISORS: SITTIWAT LERTSIRI, Ph.D., UDOM
CHANTHARAKSRI, Ph.D., APINYA ASSAVANIG, Ph.D. 129. ISBN 974-04-
0469-3

This thesis was done to investigate the pro-oxidative activity in Thai spices. Twenty methanolic spice extracts were assessed for pro-oxidative activity using a liposome model system. The four different systems for detection of pro-oxidative activity were: (i) non-metal induced system; (ii) 50 μM FeCl_3 / 3 mM H_2O_2 / 100 μM EDTA; (iii) 50 μM FeSO_4 / 50 μM ascorbic acid; and (iv) 100 μM CuSO_4 / 3 mM H_2O_2 . The safflower, lemongrass, and nutmeg extracts showed pro-oxidative activity while the ginger, chili, coriander, clove, and oregano extracts showed anti-oxidative activity. Clove had the highest content of total phenolic compounds. The total phenolic compounds of the total 20 spices had no correlation with their anti- or pro-oxidative activity.

Under the conditions studied, safflower, lemongrass, and nutmeg extract concentrations presented either anti- or pro-oxidative activity in liposome oxidation, depending on their concentrations and metal ion concentrations. The effects of pro-oxidative spices of safflower, lemongrass, and nutmeg extracts on bovine serum albumin (BSA) model system were also investigated. The results indicated that prolonged incubation in the presence of the extracts affected BSA fragmentation and increased free amino group content. On the SDS-PAGE study, the fragments at 33, 40, and 52 kDa were observed with the presence of safflower extract. The three extracts treated with the $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ system showed BSA fragmentation, similarly to the positive control (BSA treated with $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$). The hydroxyl radical released into these systems could be readily scavenged by mannitol (10 mM). However, mannitol did not completely protect the BSA fragmentation in the $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$.

Under the conditions studied, benzoate hydroxylation due to the hydroxyl radical was also investigated. Hydroxyl radical formation depended on the concentration of the three extracts. Mannitol could protect the hydroxyl radical formation in such a system.

From this thesis it can be concluded that the pro-oxidative activity of spices depended on environmental conditions, such as dosage and transition metal. In further studies, it would be of considerable interest to the pro-oxidative role of these spices *in vivo*.

4136655 SCBT/M : สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ ; วท.ม (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาณูจนา ดำริห์ : การศึกษาฤทธิ์โปรออกซิแดนซ์ของเครื่องเทศไทย (STUDY ON THE PRO-OXIDATIVE ACTIVITY IN THAI SPICES). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : สิริวิวัฒน์ เลิศศิริ, Ph. D., อุดม จันทราภิรักษ์ศรี, Ph. D., อภิญา อัครนิกร, Ph.D. 129 หน้า. ISBN 974-04-0469-3

ในการศึกษานี้เป็นการศึกษาเพื่อทำการตรวจสอบฤทธิ์ pro-oxidative ของเครื่องเทศไทย โดยนำสกัดเครื่องเทศด้วยเมทานอลจำนวน 20 ชนิดมาศึกษาในระบบจำลองของไลโปโซม โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ระบบคือ 1. ระบบที่ไม่มีการกระตุ้นด้วยโลหะ 2. ระบบที่กระตุ้นด้วย $FeCl_3/EDTA/H_2O_2$ 3. ระบบที่กระตุ้นด้วย $FeSO_4/ascorbate$ และ 4. ระบบที่กระตุ้นด้วย $CuSO_4/H_2O_2$ จากการทดลองพบว่าสารสกัดดอกคำฝอย ตะไคร้และลูกจันทน์เทศ แสดงฤทธิ์ pro-oxidative แต่สารสกัดขิง พริก ผักชี กานพลูและออริกาโน แสดงฤทธิ์เป็น antioxidant นอกจากนี้เมื่อทำการตรวจสอบ total phenolic compounds ของสารสกัดเครื่องเทศทั้งหมด พบว่ากานพลูมีค่า total phenolic compounds สูงที่สุด แต่อย่างไรก็ตามค่า total phenolic compounds ของสารสกัดเครื่องเทศทั้งหมดไม่แสดงความสัมพันธ์กับฤทธิ์ antioxidant หรือ pro-oxidative แต่อย่างใด

สารสกัดดอกคำฝอย ตะไคร้ และลูกจันทน์เทศ ยังสามารถแสดงฤทธิ์ทั้ง anti-oxidative และ pro-oxidative โดยขึ้นอยู่กับค่าความเข้มข้นของสารสกัดเหล่านี้และความเข้มข้นของโลหะที่เปลี่ยนแปลงไป และเพื่อที่จะตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดเหล่านี้ในระบบจำลองโปรตีน โดยทำการตรวจสอบจากการแตกตัวของโปรตีนอัลบูมิน พบว่าเมื่อเวลาของการบ่มเพิ่มขึ้นมีผลต่อการแตกตัวของโปรตีนอัลบูมิน และมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของกลุ่มอะมิโนอิสระ และจากการทดสอบด้วย gel electrophoresis พบว่าสารสกัดดอกคำฝอยมีผลทำให้โปรตีนอัลบูมินมีการแตกตัวโดยวัดขนาดของโปรตีนที่แตกตัวได้คือ 33 40 และ 52 kDa และนอกจากนี้ยังพบการแตกตัวของโปรตีนอัลบูมินในระบบที่มีสารสกัดเครื่องเทศทั้ง 3 ชนิด ในสภาวะที่มี Cu^{2+}/H_2O_2 เป็นตัวกระตุ้นอยู่

เป็นที่ทราบว่าคุณอนุมูลอิสระ hydroxyl อาจถูกปลดปล่อยจากระบบโดยมีโลหะเป็นตัวกระตุ้น ในการทดลองนี้ mannitol ที่ความเข้มข้น 10 mM สามารถที่จะป้องกันการเกิดการแตกตัวของโปรตีนอัลบูมิน แต่ไม่สามารถป้องกันการแตกตัวของโปรตีนอัลบูมินได้ในระบบที่มี Cu^{2+}/H_2O_2 เป็นตัวกระตุ้น และเมื่อทำการตรวจสอบปริมาณการเกิดอนุมูลอิสระ hydroxyl โดยใช้วิธี benzoate hydroxylation พบว่าผลของความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อปริมาณการเกิดอนุมูลอิสระ hydroxyl และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้น mannitol สามารถลดการเกิดอนุมูลอิสระ hydroxyl ลงได้

จากการศึกษาฤทธิ์ pro-oxidative ของเครื่องเทศ พบว่าการแสดงออกของฤทธิ์ pro-oxidative ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมขณะนั้นไม่ว่าจะเป็นปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดหรือความเข้มข้นของโลหะ และในขั้นต่อไปของการศึกษาจะเป็นการศึกษาฤทธิ์ pro-oxidative ของเครื่องเทศในระบบของสิ่งมีชีวิต