

Abstract

Melatonin, an endogenous neurohormone, is secreted primarily from the pineal gland. It is a natural antioxidant and controls circadian rhythm of the body. Reduction of melatonin levels has been associated with various chronic diseases and cancer. Melatonin is present in many plants, particularly medicinal plants, vegetables and fruit. No data are available on the level of melatonin in Thai fruits and levels in the body after fruit consumption.

This is the first study measuring melatonin and oxidative stress in humans after consumption of Thai fruits. The purpose of this study was to measure levels of melatonin of six Thai fruits: banana, pineapple, orange, papaya, makmao (Thai berry) and mango, based on their potentially high melatonin or tryptophan content (tryptophan is a precursor of melatonin synthesis). Following fruit extraction based on a protocol, HPLC with fluorescent detector was developed and used to analyze levels of melatonin in the fruit extracts. Antioxidant properties of the fruit extracts were evaluated using DPPH and FRAP methods. The study also examined urine 6-sulfatoxymelatonin (aMT6-s) concentrations, the major melatonin metabolite, and 8-isoprostane levels, a marker of oxidative stress in the body, in a clinical, crossover study with 30 healthy volunteers (15 male and 15 female) after consumption of the selected fruits. Volunteers consumed one fruit at the time, with one week wash-out period before starting the next fruit, until they completed all six fruits.

The results show that makmao contained the highest antioxidant activity and exhibited nearly saturated capacity even at low concentration. Other fruits showing high antioxidant activities are mango, papaya, orange, pineapple and banana, respectively. Analysis of melatonin in fruits show the highest level in orange (472 ± 80 ng/g), following by banana (419 ± 71 ng/g), mango (251 ± 43 ng/g), pineapple, (158 ± 27 ng/g) makmao (79 ± 13 ng/g) and papaya (35 ± 6 ng/g). In human study, there were significantly increased levels of urinary volume-adjusted aMT6-s concentrations after consumption of pineapple (127% increase, $p = 0.001$), banana (103% increase, $p = 0.004$), and orange (20% increase, $p = 0.007$). Consumption of papaya, makmao and mango did not significantly change aMT6 levels. There is a trend of lowered levels of 8-isoprostane in urine after fruit consumption, but there is no statistical significance ($p = 0.07$).

Thai fruits appeared to contain high antioxidant capacities as determined by DPPH and FRAP assay and contain melatonin at higher level than previously reported. In human study, eating fruits with high melatonin content produced significantly increased levels of melatonin urine metabolite. However, type of fruits producing higher melatonin level detected in humans does not appear to correlate with those reported of high antioxidant capacities in the laboratory. There is a trend of reduced oxidative stress in the body after fruit consumption but not significant due to limited sample size. Further study with larger sample size using melatonin markers in the blood is warranted. The effect of tryptophan content of the fruits needs investigation as a potential precursor or up-regulator of melatonin synthesis.

บทคัดย่อ

เมลานินเป็นฮอร์โมนในระบบประสาทที่ส่วนใหญ่หลั่งมาจากต่อมไพเนียล เป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีในร่างกายตามธรรมชาติ และควบคุมระบบวัฏจักรประจำวันของร่างกาย การลดลงของระดับเมลานินในเลือดสัมพันธ์กับภาวะโรคเรื้อรังหลายชนิดรวมถึงโรคเมอเร็ง มีรายงานพบเมลานินในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะพืชสมุนไพร ผัก และผลไม้ แต่ยังไม่พบการศึกษาในระดับเมลานินในผลไม้ไทย และระดับเมลานินในร่างกายหลังจากรับประทานผลไม้

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรก ที่ศึกษาปริมาณเมลานินและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในมนุษย์ หลังจากรับประทานผลไม้ไทย 6 ชนิด วัดคุณสมบัติของการศึกษาเพื่อวัดระดับเมลานินในผลไม้ไทย 6 ชนิด คือ กล้วย สับปะรด ส้ม มะละกอ หอมกเฒ่า (ผลไม้ประเภทเบอร์รี่) และมะม่วง โดยเลือกจากผลไม้ที่เคยมีรายงานหรือเป็นประเภทเดียวกับที่เคยมีรายงานว่าเมลานินสูง หรือมีรายงานระดับกรดอะมิโนทริปโตแฟนที่สูง เนื่องจากทริปโตแฟนเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์เมลานินในร่างกาย หลังจากสกัดผลไม้ตามวิธีการที่กำหนด ได้วิเคราะห์ปริมาณเมลานินในสารสกัดผลไม้แต่ละชนิดด้วยวิธี HPLC fluorescent detector และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลไม้โดยวิธี DPPH และ FRAP จากนั้น วัดปริมาณเมลานินที่พบในร่างกาย โดยวัดปริมาณ 6-sulfatoxymelatonin (aMT6-s) ในปัสสาวะ ซึ่งเป็นเมตาโบไลต์หลักของเมลานิน และวัดปริมาณ 8-isoprostane ซึ่งเป็นตัวชี้วัดของภาวะเครียดออกซิเดชันในร่างกาย โดยใช้การศึกษาทางคลินิกแบบ crossover ในอาสาสมัครสุขภาพดี 30 คน (ชาย 15 หญิง 15) และวัดผลในปัสสาวะหลังจากรับประทานผลไม้ที่ศึกษา กำหนดให้อาสาสมัครรับประทานผลไม้ครั้งละ 1 ชนิด จากนั้นเว้นไป 1 สัปดาห์ ก่อนที่จะเริ่มผลไม้ชนิดต่อไป จนกระทั่งครบทั้ง 6 ชนิด

ผลการศึกษาพบว่าหอมกเฒ่าเป็นผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุด และพบความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงเกือบถึงจุดอิ่มตัว แม้ในความเข้มข้นที่ต่ำ ผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันรองลงมาคือ มะม่วง มะละกอ ส้ม สับปะรด และกล้วย ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ปริมาณเมลานินพบว่า ส้ม มีปริมาณเมลานินสูงสุด (472 ± 80 ng/g) รองลงมาคือ กล้วย (419 ± 71 ng/g) มะม่วง (251 ± 43 ng/g) สับปะรด (158 ± 27 ng/g) หอมกเฒ่า (79 ± 13 ng/g) และมะละกอ (35 ± 6 ng/g) ตามลำดับ ผลการศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดี พบว่า ผลไม้บางชนิดเพิ่มระดับ aMT6-s ในปัสสาวะ (เมตาโบไลต์หลักของเมลานิน) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเพิ่มมากที่สุดที่ สับปะรด (127%, $p = 0.004$) รองลงมาคือ กล้วย (103%, $p = 0.001$) และ ส้ม (20%, $p = 0.007$) ส่วนการรับประทานมะละกอ หอมกเฒ่า และมะม่วงในปริมาณที่ศึกษา ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ aMT6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ 8-isoprostane ในปัสสาวะ (ตัวชี้วัดภาวะเครียดออกซิเดชัน) มีแนวโน้มลดลงหลังจากรับประทานผลไม้ แต่ยังไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.07$)

ผลไม้ไทยมีสารต้านออกซิเดชันตามวิธีวิเคราะห์ด้วย DPPH และ FRAP ในปริมาณสูง และยังพบเมลานินในผลไม้ทั้ง 6 ชนิด ในปริมาณที่สูงกว่าที่เคยมีรายงานมา การศึกษาในคนแสดงให้เห็นว่าการรับประทานผลไม้ที่มีเมลานินสูงสามารถเพิ่มระดับเมตาโบไลต์ของเมลานินได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ชนิดของผลไม้ที่เพิ่มระดับเมลานินในร่างกายได้สูงนั้น ไม่สัมพันธ์กับชนิดที่มีรายงานฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงในห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นแนวโน้มของการลดภาวะเครียดออกซิเดชันหลังจากรับประทานผลไม้ แต่ยังไม่พบนัยสำคัญทางสถิติเนื่องจากจำนวนตัวอย่างยังไม่เพียงพอ การศึกษาต่อไปควรศึกษาในอาสาสมัครจำนวนมากขึ้น รวมทั้งวัดปริมาณเมลานินในเลือดรวมด้วย นอกจากนี้ ควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับบทบาทของทริปโตแฟนในผลไม้ ที่อาจเป็นสารตั้งต้นหรือเพิ่มการผลิตเมลานินในร่างกาย