

บทที่ 4

ผลการวิจัย

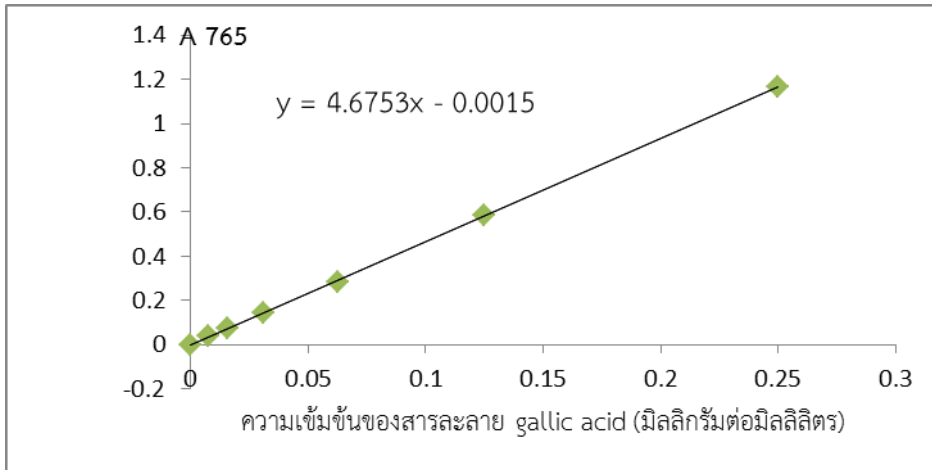
4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากผลและเมล็ดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล สารสกัดเมทานอลจากใบ น้ำจากผลกึ่งสุก (half-ripened) และผลสุก (fully-ripened) โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric Method เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน gallic acid พบว่า สารสกัดด้วยเมทานอลจากใบมีสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด มีค่าเท่ากับ 136.0 ± 0.00926 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม และสารสกัดที่มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมดต่ำที่สุด คือสารสกัดจากผลที่สกัดด้วยเฮกเซน พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำมาก พบปริมาณ 2.54 ± 0.0042 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม ซึ่งการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดในตัวทำละลายต่างๆ กันจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1) สมการของกราฟเส้นตรง คือ $Y = 4.6753x - 0.0015$

ตารางที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ความเข้มข้น Gallic acid (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 nm
0.0078125	0.03897 ± 0.00571
0.015625	0.07177 ± 0.0014
0.03125	0.1449 ± 0.00807
0.0625	0.28157 ± 0.00601
0.125	0.58473 ± 0.02308
0.25	1.16847 ± 0.01975

จากตาราง 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้น 0.0078125 – 0.25 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงแปรผันตามความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Gallic acid



ภาพที่ 4.1 กราฟมาตรฐานแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

จากภาพที่ 4.1 แสดงกราฟมาตรฐานแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงแปรผันตามความเข้มข้น ได้กราฟมีลักษณะเป็นเส้นตรง

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดชนิดต่าง ๆ จากมะม่วงหาวมะนาวโห่

ชิ้นส่วน / ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม)
ผล/เมทานอล	20.3738±0.8436
ผล/เอทิลอะซิเตต	9.4368±0.2408
ผล/เฮกเซน	2.54±0.0042
เมล็ด/เมทานอล	114.9618±0.6525
เมล็ด/เอทิลอะซิเตต	27.4214±0.3995
เมล็ด/เฮกเซน	2.8067±0.0364
น้ำจากผลสุก	13.1289±0.5720
น้ำจากผลกึ่งสุก	13.4938 ±.5604
ใบ/เมทานอล	136.0 ±1.97569

หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองแต่ละครั้ง แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดชนิดต่าง ๆ จากมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า สารสกัดจากใบที่สกัดด้วยเมทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด (136.0 ± 1.97569) รองลงมาคือ สารสกัดเมทานอลจากเมล็ด (114.9618 ± 0.6525) (ตารางที่ 4.2) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของสารสกัดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก สมการของกราฟคือ $Y = 4.6753x - 0.0015$

มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาสมบัติของสารประกอบฟีนอลิก พบว่า มีความสามารถเกี่ยวกับการต้านอนุมูลอิสระ โดยกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิก มีหลายแบบ ดังนี้

- 1) สามารถกำจัด reactive species ต่างๆ โดยตรง เช่น อนุมูลไฮดรอกซี (OH[•]), ไนโตรเจน และไดออกไซด์ (NO₂[•])
- 2) สามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) หรือ
- 3) สารประกอบฟีนอลสามารถคีเลตไอออนของโลหะ โดยจับเฉพาะ Fe²⁺ และ Cu²⁺ ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลตัวอื่นๆ (Halliwell & Gutteridge, 2007)

4.2 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดย Dopachrome method

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยเอนไซม์ไทโรซิเนสทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การเปลี่ยนสารตั้งต้น L-dopa ไปเป็นสารโดปาควิโนน และเปลี่ยนเป็นโดปาโครม ในปฏิกิริยามีการเติมสารสกัดชนิดต่างๆของมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยทำการทดสอบสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัด โดยค่าที่ได้คิดเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก (kojic acid) ซึ่งเป็นชุดควบคุมเชิงบวกที่ระดับความเข้มข้น 0.0078–0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีลักษณะของค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของกรดโคจิก จากการศึกษา พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กรดโคจิก แสดงร้อยละยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็น 92.84

ตารางที่ 4.3 แสดงร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	% ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส
ผล/เมทานอล	49.93±1.12
ผล/เอทิลอะซิเตต	52.27±1.04
ผล/เฮกเซน	39.35±1.15
เมล็ด/เมทานอล	58.51±5.71
น้ำจากผลกิ่งสุก	56.49±4.29

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะเกิดได้ดีเมื่อสารสามารถเข้าจับกับโลหะคอปเปอร์ที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ นอกจากนี้ ยังพบว่าตำแหน่งและจำนวนหมู่แทนที่บนวงเบนซีนก็มีส่วนในการออกฤทธิ์เช่นกัน

จากการทดลองได้ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่าสารสกัดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด คือ สารสกัดเมล็ดที่สกัดด้วยเมทานอล (58.51±5.71) น้ำจากผลกิ่งสุก (56.49±4.29) และ สารสกัดจากผลที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (52.27±1.04) (ตารางที่ 4.3) สารเปรียบเทียบกับที่ใช้คือ กรดโคจิก (Kojic acid) ที่เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC₅₀ เพียง 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงถึงการมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ดีกว่าของมะม่วงหาวมะนาวโห่

ในการศึกษานี้ไม่ได้ทำการแยกสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ให้บริสุทธิ์ ดังนั้นควรมีการแยกสารบริสุทธิ์ที่เป็นตัวออกฤทธิ์ อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นการรายงานครั้งแรก ซึ่งทำให้ได้ข้อมูลในการนำไปต่อยอดและอาจนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนายา สารสกัดนี้ไปใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอางต่อไป