

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสกัดสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า การสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย จะให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อาจเป็นเพราะสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบมีสมบัติมีขั้วจึงละลายได้ดีในเมทานอล ดังนั้น การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม จึงมีความสำคัญในการสกัดสารต่าง ๆ ออกจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ (Laikangbam et al., 2005) ผลจากการทดลองพบว่าสารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซน มีปัญหาการละลายที่ไม่เข้ากันกับตัวทำละลายที่มีขั้วหรือสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการทดลอง ทำให้สารที่นำมาทดสอบไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันทั้งหมด จึงอาจเป็นเหตุหนึ่งที่ทำให้การหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดบางชนิดได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร

การสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยตัวทำละลายนั้น ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัด และฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารประกอบฟีนอลิกขึ้นอยู่กับ ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ เนื่องจากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ จะมีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ ยังขึ้นกับลักษณะของโครงสร้าง ระดับของการเกิด polymerization ของสารประกอบฟีนอลิก วิธีและสภาวะต่าง ๆ ในการสกัด จากการศึกษาที่ผ่านมา โดยมากการสกัดสารฟีนอลิก นิยมใช้เมทานอล เอทานอล เอทิลอะซิเตต เฮกเซน อะซิโตน น้ำ และสารละลายผสมระหว่างน้ำกับตัวทำละลายเหล่านี้ ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมาก คือ เมทานอล เอทานอล และสารละลายที่ผสมกันระหว่างเมทานอลกับน้ำ และเอทานอลกับน้ำ ทั้งนี้สภาพขั้วของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ทำให้สกัดองค์ประกอบทางเคมีได้แตกต่างกัน สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนหรือเอทิลอะซิเตต จึงเป็นสารสกัดที่มีขั้วต่ำหรือไม่มีขั้ว ซึ่งจะแตกต่างจากสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลหรือเอทานอลซึ่งเป็นสารสกัดที่มีขั้วสูง

โดยทั่วไป พบว่าเมทานอล สามารถสกัดพวกสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มพอลิฟีนอลและฟลาโวนอยด์ได้ดี จึงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอื่น ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมาก ส่งผลให้ปริมาณการกำจัดอนุมูลอิสระสูง เนื่องจากสารในกลุ่มฟีนอลิกมีโครงสร้างเป็น Aromatic Ring ต่อกับ Hydroxyl Group ทำให้สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่เป็นโมเลกุลที่มีขั้วและสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ โดยสารประกอบฟีนอลิกมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระ คือ เมื่อสารประกอบฟีนอลิกถูกสารอนุมูลอิสระดึงอิเล็กตรอนออกไป ทำให้โมเลกุลเกิดการสูญเสียอิเล็กตรอน แต่เนื่องจากโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกที่มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูง จึงทำให้อิเล็กตรอนที่มีอยู่อย่างหนาแน่นนั้นสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายไปทั่วโครงสร้างได้และทำให้โครงสร้างเกิดการเสถียร ส่วนสารอนุมูลอิสระเมื่อดึงอิเล็กตรอนไปก็ทำให้มีโครงสร้างที่เสถียรขึ้น ในขณะที่ตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์หรือตัวทำละลาย

ไม่มีข้อขัดแย้งอื่น จะสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดปริมาณน้อยที่สุด แต่ให้ปริมาณร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระได้สูง อาจเนื่องมาจากปิโตรเลียมอีเทอร์สามารถละลายสารพฤษเคมี ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ เบต้าแคโรทีน และวิตามินที่ละลายในไขมันได้ดี ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติที่สามารถพบได้ในใบพืชทั่วไป จึงเป็นผลให้สารสกัดที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ให้ปริมาณการกำจัดอนุมูลอิสระสูง

การศึกษาของผู้วิจัยหลายคณะ พบว่า สารจากพืชที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง มักพบกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก อยู่ในปริมาณมาก (Shukla *et al.*, 2016) การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในระดับหลอดทดลอง พบว่า สารสกัดสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (% Inhibition) เป็น 58.51 ± 5.71 รองลงมาเป็น น้ำจากผลกิ่งสุก สารสกัดเอทิลอะซิเตทจากผล และสารสกัดเมทานอลจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เป็น 56.49 ± 4.29 , 52.27 ± 1.04 และ 49.93 ± 1.12 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3 (ที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Kojic acid ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส สูงถึง 92.84) สารเปรียบเทียบที่ใช้ คือ กรดโคจิก (Kojic acid) ที่เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC₅₀ เพียง 0.05 mg/ml แสดงถึงการมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของกรดโคจิกที่ดีกว่าสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ ในการศึกษาไม่ได้ทำการศึกษาวสารตัวใดที่เป็นตัวออกฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ดังนั้น ควรมีการแยกสารบริสุทธิ์ที่เป็นตัวออกฤทธิ์ในสารสกัดหยาบของมะม่วงหาวมะนาวโห่

สรุปผลการทดลอง

1. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดด้วยเมทานอลจากใบมีสารฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด มีค่าเท่ากับ 136.0 ± 0.00926 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม และสารสกัดที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด คือสารสกัดจากผลที่สกัดด้วยเฮกเซน พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำมาก คือ 2.54 ± 0.0042 มิลลิกรัม gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม
2. สารสกัดเมล็ดที่สกัดด้วยเมทานอลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงที่สุด มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็น 58.51 ± 5.71 ถัดไปเป็นน้ำจากผลกิ่งสุก และสารสกัดจากผลที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท มีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็น 56.49 ± 4.29 และ 52.27 ± 1.04 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) สารมาตรฐานเปรียบเทียบที่ใช้ (positive control) คือ กรดโคจิก (Kojic acid) ที่เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC₅₀ เพียง 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงถึงการมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ดีกว่าของมะม่วงหาวมะนาวโห่ การที่สารสกัดจากเมล็ดด้วยเมทานอลแสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดี อาจเป็นเพราะอิทธิพลมาจากการที่มีสารประกอบฟลาโวนอยด์

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นด้วย
2. ควรมีการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในส่วนต่างๆ ของมะม่วงหาวมะนาวโห่เพิ่ม และเพิ่มชนิดของตัวทำละลายในการสกัดสาร
3. สารสกัดจากเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่นั้นมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ดีกว่าสารสกัดจากส่วนอื่น ดังนั้นจึงควรนำสารสกัดมาประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาในด้านอื่นๆ เช่น เกษศาสตร์ เครื่องสำอาง อาหารเสริมสุขภาพ และ การทำยารักษาโรค เป็นต้น
4. เนื่องจากสารสกัดเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติซึ่งมักมีความแปรปรวนและความแตกต่างในเรื่ององค์ประกอบทางเคมี การควบคุมคุณภาพของสารสกัดจึงมีความสำคัญและจำเป็นมาก