

**รายงานการวิจัย**

เรื่อง

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

Biological Actiities of*Carissa carandas* L.Extracts

โดย

จันทนา กาญจน์กมล

ได้รับทุนสนับสนุนจาก มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

งบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

โดยการสนับสนุนจากสานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

 จันทนา กาญจน์กมล 2560 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

 อาหาร ยา และศักยภาพทางอุตสาหกรรมของมะม่วงหาวมะนาวโห่ จันทนา กาญจน์กมล 2558

**รายงานการวิจัย**

เรื่อง

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

 Biological Actiities of*Carissa carandas* L.Extracts

.

โดย

จันทนา กาญจน์กมล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ได้รับทุนสนับสนุนจาก มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

งบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

โดยการสนับสนุนจากสานักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

(ก)

**บทคัดย่อ**

ชื่อรายงานการวิจัย : การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่โห่

ชื่อผู้วิจัย : จันทนา กาญจน์กมล

ปีที่ทำการวิจัย : 2560

 งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดและเนื้อของมะม่วงหาวมะนาวโห่โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล เอทานอล เอทิลอะซิเทต และเฮกเซน นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่างกัน 3 วิธี คือวิธี DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์ และ ความสามารถต้านอนุมูลอิสระรวม ผลของการวิจัย พบว่า สารสกัดหยาบจากเมล็ดที่สกัดด้วยเมทานอลจากผลสุกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 332.28±10.63 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดแห้ง (mg GAE/g dry extract) จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH เทียบกับสารมาตรฐาน BHT พบว่า สารสกัดเมทานอลจากเมล็ดของผลสุกมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูล DPPH (SC50) สูงสุดรองลงมาเป็นสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดผลกึ่งสุก มีค่า SC50 เป็น 0.014±0.004และ 0.018±0.001มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (มก./มล.) ตามลำดับ โดยสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารละลายมาตรฐาน BHT ซึ่งมีค่า SC50 เท่ากับ 0.046±0.001 มก./มล. การประเมินความสามารถในการรีดิวซ์ และ ความสามารถต้านอนุมูลอิสระรวม พบว่า สารสกัดเมทานอลจากเมล็ดของผลสุก มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถต้านอนุมูลอิสระรวมระดับสูง มีค่าเท่ากับ 340.57±11.31mg GAE/g dry extract และ 492.80±7.18 mg ascorcic acid/gdry extract ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ 4 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* และ *Listeria monocytogenes* โดยวิธี Agar well diffusion พบว่า สารสกัดเมทานอล และเอทิลอะซิเทตจากเนื้อผลกึ่งสุก มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ได้ดีที่สุด มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย*S. aureus* (Minimum inhibition concentration, MIC) เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่พบว่าสารสกัดจากเฮกเซนไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทุกชนิด

คำสำคัญ: มะม่วงหาวมะนาวโห่ สารประกอบฟีนอลิกรวม การต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อแบคทีเรีย ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

(ข)

**Abstract**

Research Title : Biological Actiities of*Carissa carandas* L.Extracts

Author : Mrs. Chantana Kankamol

Year : 2017

The purposes of this study were tocompare total phenolics compound and the antioxidant activity of methanolic, ethanol, ethyl acetate and hexane extracts of *Carissa carandas* L. leaves, pulp and seeds. The total phenolics compound was determine by the Folin-Ciocalteu colorimetric method and the antioxidant activity of the extracts were evaluated by three different assays, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH), reducing power assay and total antioxidant capacity of the phosphomolybdenum method. Total phenolics compound of methanolic extractof fully-ripened *Carissa carandas* L. seeds presented the highest value (332.28 ±10.63 mg gallic acid equivalent/g dry extract, mg GAE/g) The antioxidant activity was determined by using DPPH radical scavenging assay compared with the standard of butylated hydroxyl toluene (BHT). The results were found that: The methanolic extract of fully-ripenedseed was the most active antioxidant followed by the methanolic extract of half-ripened seed. The values of SC50 were 0.0702±0.0214, 0.0135±0.0043and 0.0179±0.0007mg/mL, respectively. The results indicated that the free radical scavenging capacity of DPPH of the methanolic extract from fully-ripened *Carissa carandas* L.seed was greater than BHT (SC50 = 0.046±0.001 mg/ml). The methanolic extract of fully-ripened seed exhibited high antioxidant activity against the reducing power assay and by the phosphomolybdenium method with 340.57±11.31 mg GAE/g extract and 492.7957±7.1802mg Vitamin C/g extract, respectively. The hexane, methanol, ethanol and ethyl acetate extracts of *Carissa carandas* L. were evaluated against 4 human pathogens**;** *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* by using agar well diffusion method. The methanol and ethyl acetate extracts of half-ripened pulp of *Carissa carandas* L. showed high antibacterial activity. The minimal inhibitory concentration (MIC) of methanol and ethyl acetate extracts against *S. aureus* was5 mg/mL. The results indicate that the hexane extracts showed no antibacterial activity.

Keywords: *Carissa**carandas* L., total phenolics compound, antioxidant activity, antibacterial, minimum inhibition concentration (MIC)

(ค)

**กิตติกรรมประกาศ**

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ที่ได้ให้การสนับสนุนเงินทุนในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ อีกทั้งขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ที่ให้การสนับสนุนทางด้านอุปกรณ์และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในงานวิจัยเป็นอย่างดี

หวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานการวิจัยเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษา การค้นคว้า วิจัยเกี่ยวกับพืชสมุนไพรต่อไป



 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จันทนา กาญจน์กมล)

 1 กันยายน 2560

(ง)

 **คำนำ**

ในปัจจุบัน พืชสมุนไพรจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง และยังเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพที่เป็นความต้องการทั้งในและต่างประเทศ ซึ่งมีมูลค่าการบริโภคสูงและมีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว สมุนไพรถูกนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านต่างๆหลายประการ เช่น ใช้เป็นยา อาหารเสริม เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมความงาม หรือส่งเสริมและฟื้นฟูสุขภาพ รวมทั้งใช้เป็นอาหาร เครื่องเทศสำหรับปรุงแต่งรส เป็นต้น การพัฒนาสมุนไพรจึงเป็นการพัฒนาศักยภาพของประเทศไทยในการพึ่งพาตนเองทั้งในด้านสุขภาพและด้านเศรษฐกิจ ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดเมทานอล เอทานอล เอทิลอะซิเทต และเฮกเซน จากใบผล และ เมล็ด รวมทั้งน้ำจากผลสดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ จากงานวิจัยนี้ทำให้ทราบถึงองค์ความรู้และข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการนำพืชสมุนไพรชนิดนี้ไปใช้ประโยชน์ทางยา

 

 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จันทนา กาญจน์กมล)

 1 ก.ย. 2560

(จ)

**สารบัญ**  **หน้า**

บทคัดย่อ (ก)

ABSTRACT (ข)กิตติกรรมประกาศ (ค)

คำนำ (ง)

สารบัญ (จ)

สารบัญตาราง (ช)

สารบัญภาพ (ฌ)

สัญลักษณ์และคำย่อ (ญ)

**บทที่ 1 บทนำ**

 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย 1

 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 4

 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย 4

 1.4 สมมติฐานการวิจัย 5

 1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย 5

 1.6 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยี 6

**บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

 2.1 มะม่วงหาวมะนาวโห่ 7

 2.2 อนุมูลอิสระ 8

(ฉ)

  **หน้า**

 2.3 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด 12

 และตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

 2.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 15

 2.5 การประเมินความเป็นพิษของสารสกัดต่อเซลล์ 20

**บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย**

 3.1 3.1 การเก็บตัวอย่างมะม่วงหาวมะนาวโห่21

3.2วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี 21

3.3 การสกัดสารสำคัญจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ 22

 3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีโนลิคทั้งหมด 24

 3.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 24

 จากมะม่วงหาวมะนาวโห่

 3.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 26

 3.7 การหาความเป็นพิษต่อเซลล์ 28

 3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีทางสถิติ 28

**บทที่ 4 ผลการทดลอง**

4.1การเก็บตัวอย่างมะม่วงหาวมะนาวโห่ 29

4.2 การสกัดสารสำคัญจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ 30

4.3การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด 33

4.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 35

 ของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

(ช)

 **หน้า**

4.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 42

4.6 การหาความเป็นพิษต่อเซลล์ 52

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 53 บรรณานุกรม 55

(ซ)

**สารบัญตาราง**

 **ตารางที่ หน้า**

4.1 แสดงน้ำหนักสารสกัดที่ได้ (% yield) จากส่วนเนื้อและเมล็ด 32

ของผลกึ่งสุก (Half-ripened) และผลสุก (fully -ripened) ของ

มะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

4.2 แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดของสารสกัดจากผลและ 34

เมล็ดของผลกึ่งสุกและผลสุกมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วย

ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

 4.3 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย 36

1 ,1-diphenyl-2-picrylhy-drazyl (DPPH) (SC50) ของสารสกัด

จากใบ ผล และเล็ดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

 4.4 ความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากผลและเมล็ดของผลกึ่งสุก 38

 และผลสุกมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

 4.5 แสดงค่า Total antioxidant capacity สารสกัดจากผลและ 41

เมล็ดของผลกึ่งสุกและผลสุกมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วย

ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

 4.6 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากเนื้อผลกึ่งสุกของ 43

มะม่วงหาวมะนาวโห่ (half-ripened) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

 4.7 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากเนื้อผลสุก 44

 (fully-ripened) มะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

(ฌ)

 **ตารางที่ หน้า**

4.8 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากเมล็ดผลกึ่งสุก 45

 ของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

4.9 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากเมล็ดผลสุก 46

 ของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ต่อเชื้อ

4.10 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคชนิดต่าง ๆ ของน้ำจากผลสุกของ 47

มะม่วงหาวมะนาวโห่

4.11 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดเอทิลอะซิเทตจาก 48

ใบมะม่วงหาวมะนาวโห่

4.12 แสดงการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดเมทานอล 49

เอทานอล และเอทิลอะซิเทตจากผลกึ่งสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่

ที่ความเข้มข้นต่างๆ และน้ำคั้นจากผลสุก

4.13 สดงการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อ *S. typhimurium* ของสารสกัดเมทานอล 50

เอทานอล และเอทิลอะซิเทตจากผลกึ่งสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่

ที่ความเข้มข้นต่างๆ และน้ำคั้นจากผลสุก

4.14 แสดงค่า MIC ของสารสกัดจากเนื้อ เมล็ด และน้ำคั้นจาก 51

 มะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

 โดยวิธี Agar well diffusion

(ญ)

**สารบัญภาพ**

**ภาพที่ หน้า**

4.1 แสดงส่วนของผลระยะต่างๆ 29

4.2 ขั้นตอนการอบส่วนเนื้อและเมล็ดให้แห้ง 30

4.3 การแช่ตัวอย่างในตัวทำละลาย 31

4.4 การระเหยสารสกัดให้แห้งในระบบสุญญากาศโดย Rotary Evaporator 31

4.5 สารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่หลังการระเหยตัวทำละลายออก 31

4.6 กราฟมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน 33

ในการวิเคราะห์ค่า Total antioxidant capacity

4.7 แสดงการเปรียบเทียบค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด 35

 ของสารสกัดจากผลและเมล็ดของผลกึ่งสุกและผลสุกมะม่วงหาวมะนาวโห่

ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

4.8 แสดงเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารมาตรฐาน 37

 Butylated hydroxytoluen (BHT) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

 4.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm ของ 39

 สารมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

4.10 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัด 39

 จากผลและเมล็ดของผลกึ่งสุกและผลสุกมะม่วงหาวมะนาวโห่

 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

(ฎ)

 **ภาพที่ หน้า**

4.11 กราฟมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ 40

 ในการวิเคราะห์ค่า Total antioxidant capacity

4.12 แสดงการเปรียบเทียบค่า Total antioxidant capacity 42

 ของสารสกัดจากผลและเมล็ดของผลกึ่งสุกและผลสุก

 มะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

4.13 แสดงการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดเมทานอล 49

 เอทานอลและเอทิลอะซิเทตจากผลกึ่งสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่

 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

4.14 แสดงการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ของสารสกัด 50

 เมทานอล เอทานอลและเอทิลอะซิเทตจากผลกึ่งสุกของ

 มะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

(ฏ)

**สัญลักษณ์และคำย่อ**

**สัญลักษณ์ ความหมาย**

µg ไมโครกรัม

μl ไมโครลิตร

 mg มิลลิกรัม

 **คำย่อ**

 0Cองศาเซลเซียส

ม.ล.มิลลิลิตร

MHAMueller-Hinton Agar

 DMSO Dimethyl sulfoxide

 MICMinimal Inhibitory Concentration