บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสกัดสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่า การสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซน และเอทิลอะซิเทต อาจเป็นเพราะสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบมีสมบัติมีขั้วจึงละลายได้ดีในเมทานอล ดังนั้น การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญในการสกัดสารต่าง ๆ ออกจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ (Laikangbam et al., 2005)ผลจากการทดลองพบว่าสารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซนมีปัญหาการละลายที่ไม่เข้ากันกับน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ยากต่อการกระจายของสารสกัด จึงอาจเป็นเหตุหนึ่งที่ทำให้ไม่ปรากฏฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง และการศึกษาของ Parekhและ Chanda (2007) พบว่า การสกัดสารสำคัญด้วยเมทานอลจะมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำ

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบ เนื้อ และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ทั้งในระยะกึ่งสุกและระยะสุกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเทต เอทานอล และเมทานอลจากการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay พบว่า สารสกัดเมล็ดในระยะผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยเมทานอล มีค่า SC50 เท่ากับ 0.0135±0.0043 mg/mL การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Reducing power) โดยคำนวณหาค่าความสามารถรีดิวซ์อนุมูลอิสระเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid พบว่า สารสกัดเมทานอลของเมล็ดในระยะผลสุกมีค่า 340.5676±11.3145 mgGAE/g Extract การทดสอบหาค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด (Total antioxidant capacity) โดยวิธี Phosphomolybdenum method เมื่อนำมาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐาน ascorbic acid พบว่าสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดผลสุก มีค่าสูงที่สุดคือ 492.7957±7.1802 mg VitaminC/g Extracts และการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เมื่อนำมาเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid พบว่า สารสกัดส่วนเมล็ดผลสุกที่ถูกสกัดด้วยเมทานอลมีค่าสูงที่สุด คือ 332.2779±10.6318 mgGAE/g Extract จึงสรุปได้ว่าสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดในระยะผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดและตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารที่ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุดคือเมทานอล

จากการทดลองยังพบว่า สารสกัดเมทานอลจากเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะสุก มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH assay) ดีที่สุด (ค่า SC50 ต่ำ) และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดด้วย จากการทดลองพบว่า สารสกัดจากเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะผลสุกและผลดิบมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ไม่แตกต่างกัน งานวิจัยของสกุลกานต์สิมลาและคณะ (2556) กล่าวว่าในผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีปริมาณวิตามินซีปริมาณ

แอนโทไซยานินปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ในระดับสูงในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของวชิราภรณ์ผิวล่องและคณะ (2556) ซึ่งกล่าวว่าปริมาณสารฟินอลิกทั้งหมดและปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในทุกระยะการสุก และมีข้อมูลสนับสนุนของ Ayoola และคณะ (2008) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ใน*Voacanga africana*ซึ่งเป็นพืชตระกูลตีนเป็ดอยู่ในตระกูลเดียวกับมะม่วงหาวมะนาวโห่พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบมีค่า IC50 0.048 mg/mL และพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสารฟลาโวนอยด์และสารแอนโทไซยานินเท่ากับ 124, 30 และ 90 mg/g ตามลำดับเมื่อนำมาเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid และ Catechin ต่อกรัมสารสกัดพบว่ามีค่าความสัมพันธ์กันระหว่างฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ค่าสัมประสิทธิ์การพยากรณ์ R2 เท่ากับ 0.96 แสดงให้เห็นว่าสารฟลาโวนอยด์มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

นอกจากนี้ งานวิจัยของ Sarma และคณะ (2015) ยังได้กล่าวไว้ว่า สารสกัดเมทานอลจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคทางเดินอาหารและช่วยบำรุงผิวพรรณลดไข้ รักษาโรคไขข้อ และความผิดปกติของระบบน้ำดี จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลมะนาวโห่ โดยวิธีการจัดอนุมูล DPPH ได้ค่า IC50 เท่ากับ 27.45±0.43 μg/ml มีปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมดเท่ากับ 188.75 ± 1.42 μg GAE/g สารสกัด และมีปริมาณวิตามินซีเป็น 62.93 ± 0.35 mg/100 g จากศักยภาพดังกล่าวจึงได้มีการส่งเสริมให้นำผลมาใช้รับประทานเป็นอาหารเสริมเนื่องจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีประโยชน์ต่อร่างกาย สามารถป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ได้

Anupama และคณะ (2015) ได้สกัดผลแห้งมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียม อีเทอร์ และเมทานอลจากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดเมทานอลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดจากปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และ ยังพบว่าการสกัดผลมะม่วงหาวมะนาวโห่โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ให้ปริมาณสารสกัดมากกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซน และ เอทิลอะซิเทต อาจเป็นเพราะสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบมีสมบัติมีขั้วจึงละลายในเมทานอลได้ดีกว่า ดังนั้น การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญในการสกัดสารต่าง ๆ ออกจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ (Laikangbam et al., 2005)

การศึกษาในครั้งนี้ ได้ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบ เนื้อ และเมล็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเทต เอทานอล และเมทานอล และน้ำจากผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยวิธี Agar well diffusion โดยการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*,*Staphylococcus aureus*และ *Listeria monocytogenes* โดยอาศัยหลักการแพร่ของสารสกัดผ่านวุ้นอาหาร จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง โดยทำการเจือจางสารสกัดด้วย DMSO ให้มีความ

เข้มข้นต่างๆ กัน จากการทดลอง พบว่า สารสกัดจากเนื้อ เมล็ด และน้ำจากผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 สายพันธุ์ส่วนสารสกัดเนื้อผลกึ่งสุกจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเทตให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดีที่สุด โดยสารสกัดเมทานอลที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 100mg/mLขึ้นไป มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 4 ชนิด สารสกัด ethanol จากผลกึ่งสุกสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *S. typhimurium* ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 100mg/mL ขึ้นไป แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus และ L. monocytogenes*ส่วนสารสกัดเฮกเซนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทุกชนิด

สารสกัดเอทานอล จากผลสุกที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50mg/mLขึ้นไปมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้ง 4 ชนิด ส่วนสารสกัดจากเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ 3 ชนิด คือ *E. coli, S. typhimurium* และ *S. aureus* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes*ส่วนสารสกัด Ethyl acetate สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ชนิดเดียว คือ *S. typhimurium* และสารสกัดเฮกเซนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค พบว่า สารสกัดเอทิลอะซิเทตจากเมล็ดผลกึ่งสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ ในขณะที่สารสกัดเมทานอลจากเมล็ดผลกึ่งสุกและเมล็ดจากผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 สายพันธุ์ ในสารสกัดเอทิลอะซิเทตจากเมล็ดผลสุกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดี ส่วนน้ำคั้นจากผลสุกที่ทำให้แห้งโดยการใช้ความเย็น (lyophilization) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 สายพันธุ์ แต่พบว่าเมื่อนำน้ำคั้นจากผลสุกมาหยดลงบนจานเพาะเชื้อ จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ผลดี

จากการศึกษา พบว่าสารสกัดชนิดเดียวกัน เมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้น ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจะมากขึ้น ขนาดของบริเวณที่ยับยั้งจึงแปรผันตามความเข้มข้นของสารสกัด และขึ้นกับชนิดของสารสกัด ผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเนื้อเมล็ด และน้ำจากผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เอทิลอะซิเทต เมทานอล และเอทานอล มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ค่า MIC ของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ ต่อเชื้อ *E. coli* และ *S.*

*aureus*มีค่า 0.25 mg/well และค่า MIC ต่อเชื้อ *S.typhimurium* และ *L. monocytogenes* มีค่า 1 และ 0.5mg/well ตามลำดับ

จากการทดลองพบว่า สารสกัดจากเนื้อ และเมล็ดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ยกเว้นสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยสารสกัดจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเทตมีศักยภาพในการยับยั้งดีที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดจากเอทานอลและเมทานอลซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Agarwal และคณะ (2012) ที่สกัดใบมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเทต เอทานอล เมทานอล และน้ำเย็น พบว่า สารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดจากเอทิลอะซิเทตมีการยับยั้งเชื้อแกรมลบ *E. coli* ดีที่สุด ตามด้วยเชื้อ แกรมบวก *S. aureus* แต่ในสารสกัดจากเอทานอล และเมทานอล มีการยับยั้งเชื้อแกรมบวก *S. aureus* ดีที่สุด สาเหตุที่แบคทีเรียแกรมบวกมีความต้านทานต่อสารสกัดน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบเนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) และ Periplasmic space ซึ่งไม่พบในแบคทีเรียแกรมบวก สาร lipopolysaccharide ที่เป็นองค์ประกอบของเหยื่อหุ้มชั้นนอก จะเป็นตัวกั้นการซึมผ่านของสารชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะสารที่มีขั้วสูง ขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกไม่มีโครงสร้างเหล่านี้ สารต่างๆ จึงซึมผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย แกรมบวกได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ จากการทดสอบพบว่าสารสกัดจากเนื้อ เมล็ด และน้ำจากผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ประกอบไปด้วยสารประกอบฟีนอล และมีคุณสมบัติเป็นกรด จึงทำให้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียบางชนิดได้