

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะห่ามและสุกในพื้นที่มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี แล้วทำการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล จากนั้นนำไปตรวจสอบพบทุกษเคมีเบื้องต้น ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และวิเคราะห์หาสารเคอเวอซิติน โดยมีรายละเอียดของผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

4.1 ลักษณะทางกายภาพ

ลักษณะตัวอย่างผลของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ได้ถูกแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือระยะผลห่าม และระยะผลสุก โดยที่ผลห่ามจะมีสีชมพูถึงแดง ส่วนผลสุกจะมีสีม่วงเข้มถึงดำ ผลห่ามมีขนาดเฉลี่ย 2.24 เซนติเมตร และผลสุกมีขนาดเฉลี่ย 2.14 เซนติเมตร แสดงดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะผลห่าม (ซ้าย) และสุก (ขวา)

4.2 ผลการหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบ

จากตัวอย่างผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ระยะห่ามและสุก ในภาพที่ 4.1 ถูกลำมาสกัดด้วยน้ำและเอทานอล โดยในสารสกัดเอทานอลถูกนำไประเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดหยาบ ลักษณะของสารสกัดหยาบเอทานอลและร้อยละผลผลิต สรุปดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักและร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล

ตัวอย่าง	ลักษณะสารสกัดหยาบ	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละผลผลิต
ผลระยะห้าม	ของเหลวหนืดสีชมพูถึงแดง	1.40	4.15
ผลระยะสุก	ของเหลวหนืดสีม่วงเข้มถึงดำ	2.35	7.23

4.3 ผลการตรวจสอบพิษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากผลห้ามและผลสุกของมะม่วงหาวมะนาวโห่ 8 ชนิด ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน เทอร์ปีนอยด์ ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และอิริตอยด์ไกลโคไซด์ ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 พิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลผลมะม่วงหาวมะนาวโห่

พิษเคมี	สารสกัดหยาบเอทานอลผลมะม่วงหาวมะนาวโห่	
	ระยะห้าม	ระยะสุก
สารประกอบฟีนอลิก	+	+
แอลคาลอยด์	+	+
ฟลาโวนอยด์	+	+
แอนทราควิโนน	-	-
เทอร์ปีนอยด์	+	+
ซาโปนิน	+	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-	-
สเตียรอยด์	-	-
- น้ำตาลดีออกซี	+	+
อิริตอยด์ไกลโคไซด์	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย + หมายถึง ตรวจพบ

เครื่องหมาย - หมายถึง ตรวจไม่พบ

จากตารางที่ 4.2 พบว่าทั้งผลห้ามและผลสุกให้พฤษเคมีที่คล้ายกันคือ ตรวจพบสารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และน้ำตาลดีออกซี ส่วนซาโปนินพบในผลห้ามแต่ไม่พบในผลสุก ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีรายงานเกี่ยวกับ พฤษเคมีเบื้องต้นในส่วนผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยเอทานอลหรือตัวทำละลายอื่น ๆ ไม่มากนัก โดยส่วนใหญ่ได้รายงานเป็นค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งให้ผลแตกต่างกันออกไปตามลักษณะของตัวอย่างที่นำมาทดสอบและวิธีหรือตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด (Devmurari, Shivanand, & Jivani, 2010 : pp 81-87, สกกุลกานต์ สิมลา สุรงค์ดี บุญแต่ง และพัชรี สิริตระกูลศักดิ์, 2559 : หน้า 602-606, จันทนา กาญจนภมม, 2559 : หน้า 225-234)

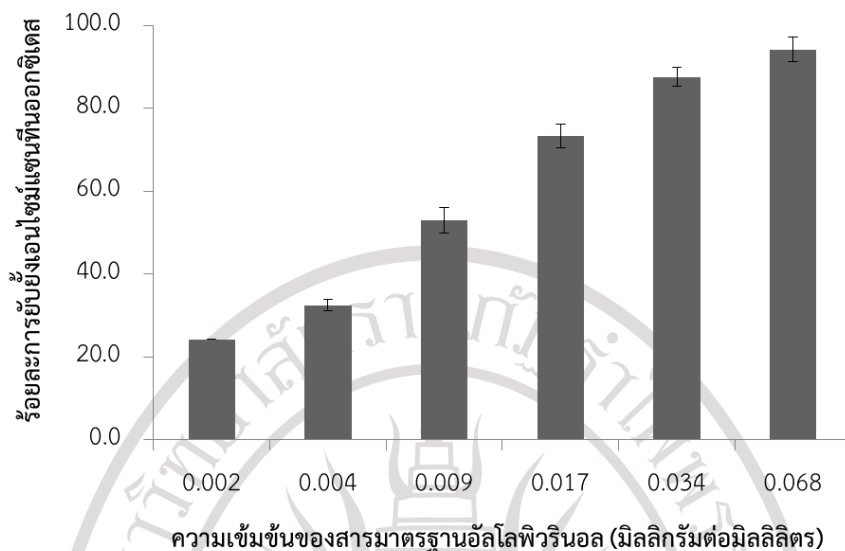
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสด้วยเครื่องยิวี-วิลิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

4.4.1 ผลการหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารมาตรฐาน

อัลโลพิวรินอล

อัลโลพิวรินอลเป็นยาในกลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยยับยั้งขั้นตอนการเปลี่ยนสารไฮโปแซนทีนเป็นแซนทีน และจากแซนทีนเป็นกรดยูริกในขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการเมตาบอลิซึมของสารพิวรีนในร่างกายมนุษย์ ในการทดลองนี้จึงใช้สารมาตรฐานอัลโลพิวรินอลเป็นตัวควบคุมสำหรับการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยใช้สารมาตรฐานอัลโลพิวรินอลในตัวทำละลายไดเมทิลซัลโฟไซด์ (Dimethyl Sulfoxide, DMSO) ความเข้มข้น 0.02-0.068 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลแสดงดังภาพที่ 4.2 พบว่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารมาตรฐานอัลโลพิวรินอลเพิ่มขึ้น โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0079 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 7.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสและความเข้มข้นของสารมาตรฐานอัลโลพิวรีนอล

4.4.2 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารสกัดน้ำและเอทานอลจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่

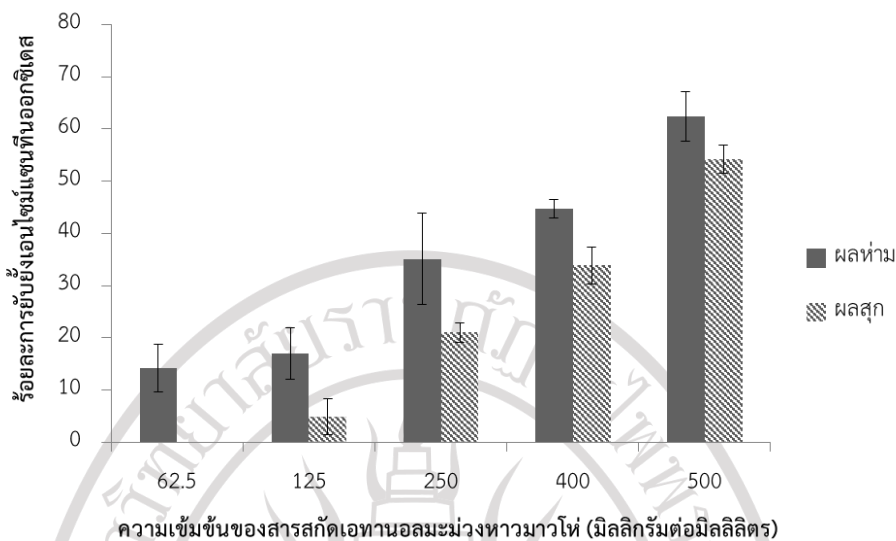
จากการนำสารสกัดน้ำและเอทานอลของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะผลห่ามและผลสุกที่ยังไม่ได้ทำการระเหยแห้งมาวิเคราะห์ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส พบว่าค่าร้อยละการยับยั้งของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ในผลห่ามและผลสุกที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลแสดงดังตารางที่ 4.3 โดยพบว่าในสารสกัดน้ำของผลสุกมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสใกล้เคียงกับผลห่าม ส่วนในกรณีสารสกัดเอทานอลผลสุกมีฤทธิ์ในการยับยั้งน้อยกว่าผลห่าม และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวทำละลายน้ำกับเอทานอล สารสกัดเอทานอลให้ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากกว่าสกัดน้ำทั้งในผลห่ามและผลสุก

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.3 ผลร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ ด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล

ตัวทำละลาย	ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	
	มะม่วงหาวมะนาวโห่ผลห่าม	มะม่วงหาวมะนาวโห่ผลสุก
น้ำ	11.36 \pm 0.01	12.03 \pm 2.45
เอทานอล	62.43 \pm 4.78	54.23 \pm 2.77

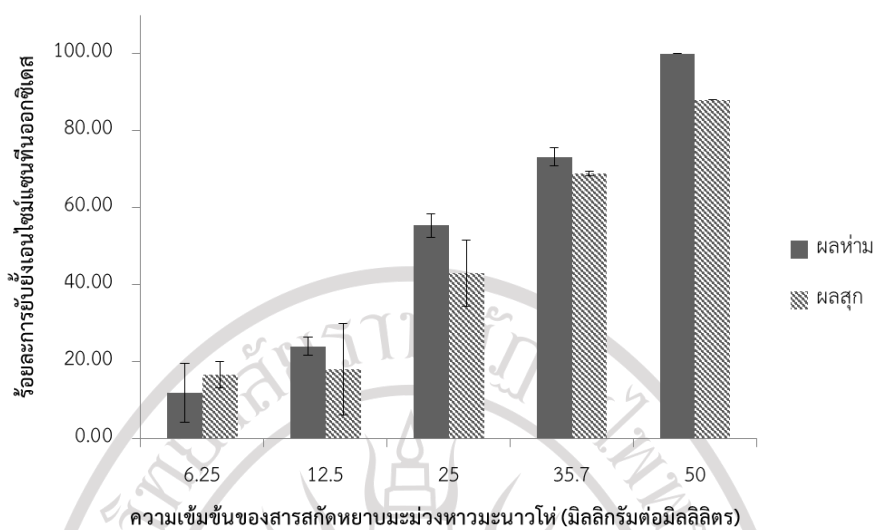
จากผลการทดลองที่ได้มาจากสภาพขั้วของตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดต่างกัน น้ำจะมีขั้วสูงกว่าเอทานอลจึงสกัดสารที่มีขั้วสูงกว่าออกมา ส่วนสารที่ถูกสกัดออกมาในตัวทำละลายเอทานอลจะเป็นกลุ่มที่มีขั้วต่ำกว่าน้ำ ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าสารที่ถูกสกัดออกมาในสภาพขั้วใกล้เคียงกับเอทานอลให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ดีกว่าสารที่ถูกสกัดออกมาในน้ำ และจากผลดังกล่าวจึงได้ทำการหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสที่ความเข้มข้น 6.25-500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดเอทานอลจากผลห่ามและผลสุก (ภาพที่ 4.3) ซึ่งหาค่าการยับยั้งที่ร้อยละ 50 หรือ IC₅₀ ได้เท่ากับ 408.8 \pm 24.6 และ 491.1 \pm 7.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากภาพที่ 4.3 พบว่าที่ทุกความเข้มข้นของผลสุกจะให้ค่าร้อยละการยับยั้งน้อยกว่าผลห่าม อาจกล่าวได้ว่ามีสารออกฤทธิ์บางส่วนหายไปเมื่อมะม่วงหาวมะนาวโห่เข้าสู่ระยะสุก จึงทำให้ในผลสุกที่มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสลดลง และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างพิกษเคมีและร้อยละการยับยั้งของเอนไซม์ ในกรณีสารฟีนอลิกที่พบได้ในผลห่ามและสุก ได้มีรายงานวิจัยที่ศึกษาระยะการสุกต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด พบว่าผลในระยะสุกที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 40 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าในระยะผลห่ามและดิบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเดียวกัน ซึ่งเมื่อพิจารณาผลการยับยั้งเอนไซม์ในภาพที่ 4.3 จะพบว่าร้อยละการยับยั้งกลับลดลงในผลระยะสุก จึงเป็นไปได้ว่าสารกลุ่มฟีนอลิกอาจไม่ใช่สารกลุ่มหลักที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสในสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่ (Devmurari, Shivanand, & Jivani, 2010 : pp 81-87) ดังนั้นสารที่มีความสำคัญต่อการยับยั้งเอนไซม์อาจจะเป็นสารกลุ่มอื่น เช่น ซาโปนิน เนื่องจากผลการตรวจ สอบพิกษเคมีเบื้องต้นพบซาโปนินแค้ในผลห่ามแต่ไม่พบในผลสุก ซึ่งมีงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ทำการแยกสารประกอบกลุ่มซาโปนินออกมาได้ 4 ชนิด จากรากของพืช *Ilex pubescens* ที่พบในประเทศจีน โดยทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ดี (Lin, Qu & Liang, 2011 : pp 697-700) อย่างไรก็ตามข้อมูลดังที่กล่าวมาเป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้น สารสำคัญที่ยับยั้งเอนไซม์อาจจะเป็นสารกลุ่มอื่นซึ่งต้องทำการศึกษาให้ละเอียดลงไป



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซีเตสและความเข้มข้นของสารสกัดเอทานอลของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่

4.4.3 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซีเตสของสารสกัดหยาบเอทานอลจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซีเตสของสารสกัดหยาบเอทานอล พบว่า ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซีเตสที่ได้ในผลห่ามและผลสุกให้ผลใกล้เคียงกัน โดยในผลห่ามจะให้ร้อยละการยับยั้งมากกว่าเล็กน้อยในเกือบทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ แสดงผลดังภาพที่ 4.4 ซึ่งเมื่อนำมาหาค่า IC_{50} ได้ผลเท่ากับ 24.0 ± 0.5 และ 28.7 ± 3.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่

เมื่อนำค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มาเปรียบเทียบกับค่า IC_{50} ของอัลโลพิวรินอล (จากหัวข้อที่ 4.4.1) พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบมีฤทธิ์การยับยั้งน้อยกว่าประมาณ 3000 เท่า เนื่องจากสารสกัดหยาบยังไม่ใช่สารบริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว ยังคงประกอบไปด้วยสารต่าง ๆ ที่อาจมีทั้งสารที่ยับยั้งและไม่ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และเมื่อค้นคว้าการศึกษาค่า IC_{50} ของพืชชนิดอื่น ๆ เทียบกับผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ ดังตารางที่ 4.4 จะเห็นว่าพืชแต่ละชนิดให้ประสิทธิภาพการยับยั้งแตกต่างกันออกไปและให้ผลที่ดีกว่ามะม่วงหาวมะนาวโห่ เช่น ส่วนหัวของหญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) ที่สกัดด้วยเอทานอลให้ค่า IC_{50} อยู่ที่ 0.0451 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และส่วนใบของมะละกอ (*Carica papaya*) ที่สกัดด้วยน้ำ ให้ค่า IC_{50} อยู่ที่ 0.00433 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองต่าง ๆ ที่ได้มานั้นมาจากการทดสอบด้วยสภาวะการทดลองตัวทำละลายและวิธีการสกัดต่างกัน ดังนั้นถึงแม้มะม่วงหาวมะนาวโห่จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสน้อยกว่าพืชอื่น ๆ และน้อยกว่าอัลโลพิวรินอล แต่ยังถือว่ามีความน่าสนใจในการศึกษาต่อไป เนื่องจากข้อมูลเกี่ยวกับการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ยังมีรายงานอยู่น้อยมาก จึงอาจต้องทำการศึกษาต่อโดยทำการแยกสารสกัดที่ได้ด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ แล้วทำให้ได้สารบริสุทธิ์เพื่อหาเฉพาะสารสำคัญที่มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสมากที่สุด สำหรับการพัฒนาผลมะม่วงหาวมะนาวโห่เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคเกาต์ที่มีประสิทธิภาพสูง

ตารางที่ 4.4 การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารสกัดจากตัวอย่างพืชชนิดอื่น ๆ

พืช	วงศ์	ส่วนที่ใช้	ตัวทำละลาย	IC ₅₀ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	อ้างอิง
<i>Cyperus rotundus</i> L.	Cyperaceae	หัว	เอทานอล	0.0451	Pongpiriyadacha, Nuansrithong & Sirintharawech, 2009 : pp 94-102
<i>Allium cepa</i> L.	Amaryllidaceae	หัว	เมทานอล	0.013	Hanaee, J. et al. 2004 : pp 243-247
<i>Arctium minus</i>	Asteraceae	เมล็ด	เอทานอล	0.117	Fischer, S.P.M. et al. 2018 : pp 505-519
<i>Broussonetia papyrifera</i>	Moraceae	ราก	เอทานอล	0.0134	Ryu, H.W. et al. 2012 : pp 587-594
<i>Ulmus campestris</i>	Ulmaceae	เปลือก	เอทานอล	0.285	Boudaoud-Ouahmed, H. et al. 2015 : pp 353-363
<i>Rhaponticum acaule</i> (L) DC	Compositae	ดอก	น้ำ	0.0022	Mosbah, H. et al. 2018 : pp 79-90
<i>Aster glehni</i>	Compositae	ใบ	เอทานอล	0.646	Han, E.H. et al. 2018 : pp 1439-1444
<i>Carica papaya</i>	Caricaceae	ใบ	น้ำ	0.00433	Azmi, Jamal & Amid, 2012 : pp 159-165

4.5 การวิเคราะห์หาสารสำคัญเบื้องต้นในเชิงคุณภาพของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

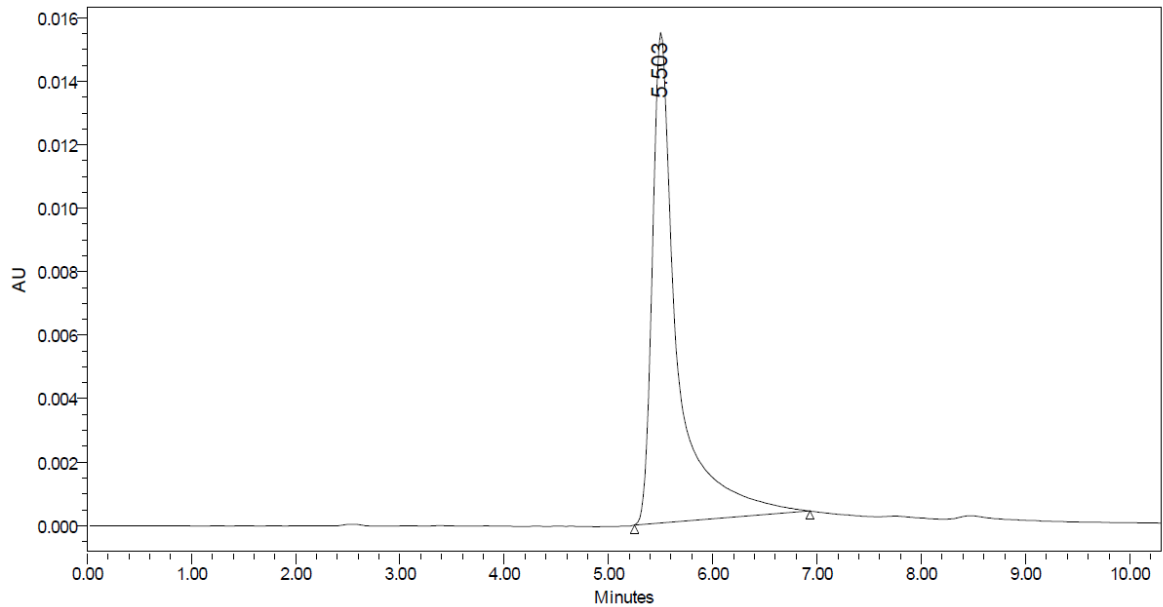
จากผลพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ตรวจพบสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารประกอบฟีนอลิก สารกลุ่มฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ดี เช่น เควอซีติน (Quercetin) แคมพ์เฟอร์อล (Kaempferol) ไมริเซติน (Myricetin) เป็นต้น ดังนั้นในงานนี้ได้เลือกทำการวิเคราะห์หาสารเคอควิซินในผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในเชิงคุณภาพด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งเคอควิซิน คือสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในพืชหลายชนิด (Selloum, L. et al. 2011 : pp 49-56)

ตารางที่ 4.5 ค่า Retention time ของสารละลายมาตรฐานเคอควิซินและสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่

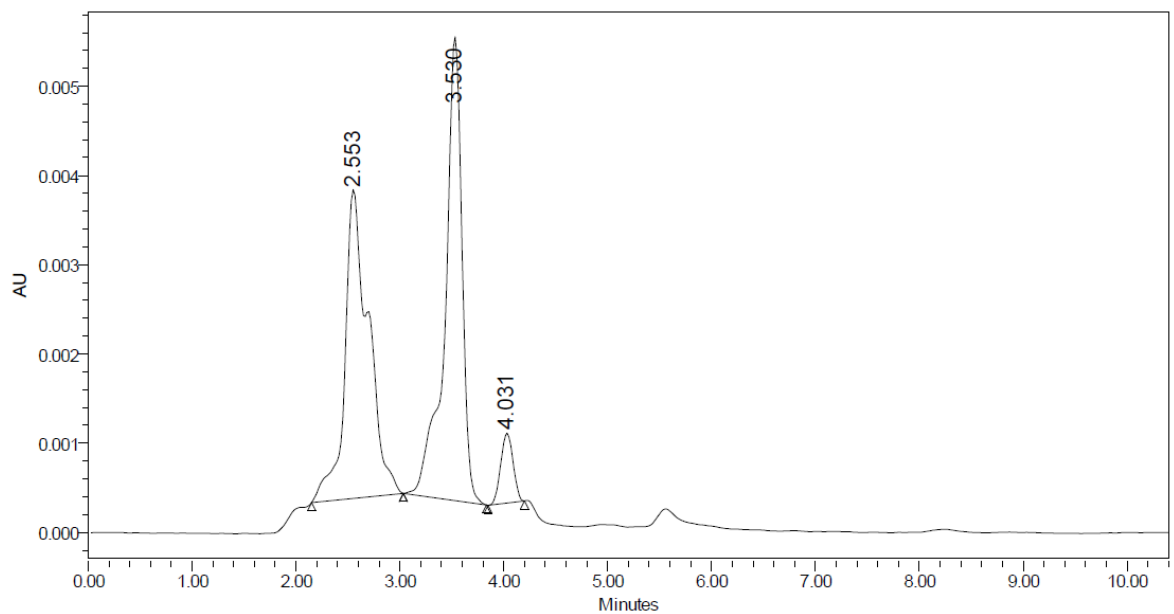
สาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	Retention time (นาที)
สารละลายมาตรฐานเคอควิซิน	5	5.509
	10	5.503
	30	5.504
	50	5.503
สารสกัดหยาบผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะห้าม	10,000	2.553
		3.530
		4.031
สารสกัดหยาบผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะสูง	10,000	2.117
		2.295
		2.547
		2.886
		3.527
		4.024
5.748		

ผลการวิเคราะห์หาสารเคอควิซินในสารสกัดหยาบผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะห้ามและสูง โดยทำการฉีดสารมาตรฐานเคอควิซิน และสารละลายของสารสกัดหยาบ เพื่อหาค่าเวลาที่สารผ่านคอลัมน์ออกมา (Retention time) ในสภาวะการไหลภายในคอลัมน์แบบเดียวกัน ให้ผลแสดงดังตาราง

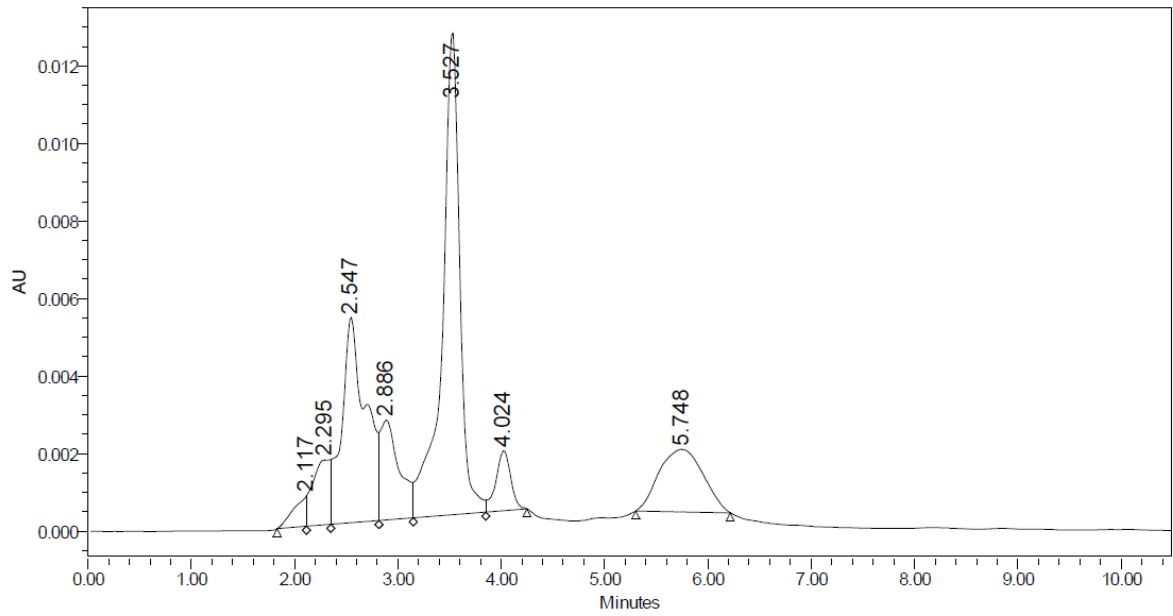
ที่ 4.5 และแสดงโครมาโตแกรม ดังภาพที่ 4.5-4.7 โดยผลที่ได้จะเห็นว่า ทั้งสองตัวอย่างปรากฏโครมาโตแกรมที่ให้ค่า retention time ไม่ตรงกับ retention time ของสารมาตรฐานเควอซีติน ดังนั้นจึงสรุปเบื้องต้นได้ว่าในสารสกัดหยาบทั้งผลห่ามและผลสุกไม่มีสารเควอซีติน หรืออาจมีน้อยมาก



ภาพที่ 4.5 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเควอซีตินที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4.6 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะห่าม



ภาพที่ 4.7 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ในระยะสุก



ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี