

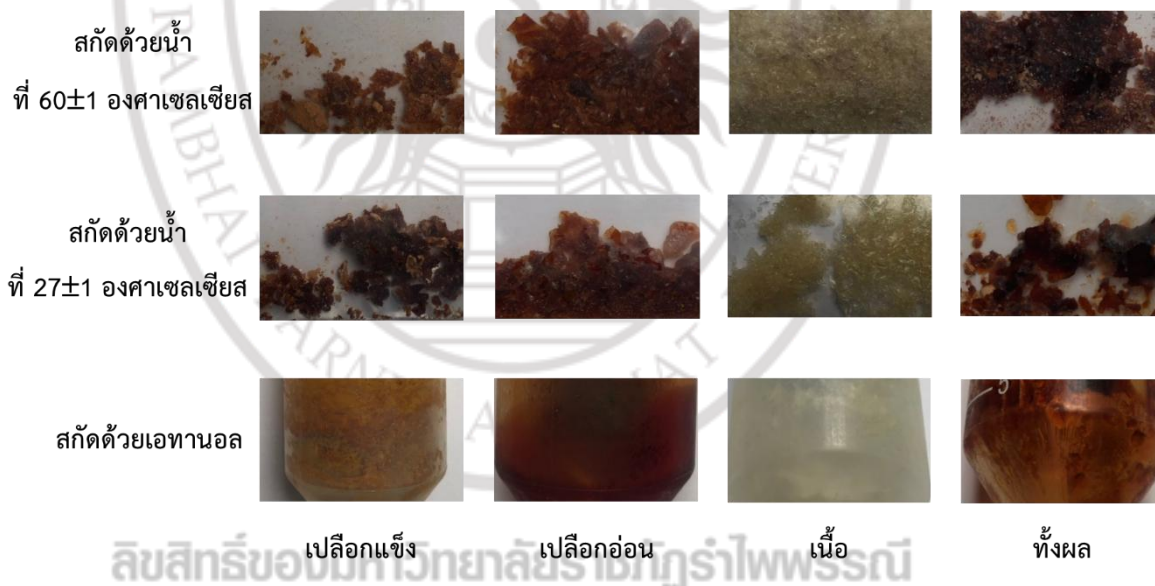
บทที่ 4

ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างผลจาก ที่มีขนาดของผลกว้างและยาวประมาณ 10 และ 12 เซนติเมตร ตามลำดับ ในระยะผลสุกที่มีอายุประมาณ 4 เดือน โดยแบ่งเป็น 4 ลักษณะ คือ เปลือกแข็ง ของผลจากที่มีสีน้ำตาลเข้ม เปลือกอ่อนของผลจากที่มีสีน้ำตาลอ่อน เนื้อของผลจากที่มีสีขาวขุ่น และ ทั้งผลของจากที่มีสีขาวปนสีน้ำตาลเข้ม แล้วทำการสกัดส่วนต่าง ๆ ด้วยน้ำและเอทานอล เพื่อประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยใช้อัลโลพิวรินอลเป็นตัวควบคุมเชิงบวก และตรวจสอบพบทุกขเคมีเบื้องต้น โดยมีรายละเอียดของผลการทดลอง ดังต่อไปนี้

4.1 ผลการหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบ

ตัวอย่างของผลจากระยะผลสุกที่มีอายุ 4 เดือน เมื่อนำมาสกัดส่วนต่าง ๆ ด้วยน้ำและเอทานอล แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดหยาบ โดยลักษณะสารสกัดหยาบที่ได้แสดงดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ลักษณะสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนต่าง ๆ ของผลจาก

จากภาพที่ 4.1 จะเห็นลักษณะของสารสกัดหยาบน้ำที่ 60 ± 1 และ 27 ± 1 องศาเซลเซียส ให้สีที่คล้ายกัน คือส่วนเปลือกแข็ง เปลือกอ่อน และทั้งผล ให้สีน้ำตาลแดง ลักษณะหนืด ส่วนเนื้อจะให้สี

ขาวุ่น ลักษณะเป็นผง ส่วนสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลจะมีความหนักกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ แต่ให้สีที่คล้ายคลึงกันกับสารสกัดน้ำ

ผลการหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบที่แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าสารสกัดหยาบน้ำ ส่วนของเนื้อที่กินได้ที่ 60 ± 1 และ 27 ± 1 องศาเซลเซียส ให้ร้อยละผลผลิตสูงสุดคือ ร้อยละ 3.95 และ 3.54 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบเอทานอลของเปลือกอ่อนให้ร้อยละผลผลิตสูงสุดคือ ร้อยละ 7.40 โดยในภาพรวม พบว่าร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบอยู่ในช่วงร้อยละ 0.39-7.40

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักและร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบผลจากส่วนต่าง ๆ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

ตัวอย่างผลจาก	ตัวทำละลาย	น้ำหนัก (กรัม)	ร้อยละผลผลิต
เปลือกแข็ง	น้ำ (ที่ 60 ± 1 องศาเซลเซียส)	0.37	0.74
	น้ำ (ที่ 27 ± 1 องศาเซลเซียส)	0.54	1.08
	เอทานอล	0.91	1.81
เปลือกอ่อน	น้ำ (ที่ 60 ± 1 องศาเซลเซียส)	1.19	2.38
	น้ำ (ที่ 27 ± 1 องศาเซลเซียส)	0.61	1.21
	เอทานอล	3.70	7.40
เนื้อ	น้ำ (ที่ 60 ± 1 องศาเซลเซียส)	1.98	3.95
	น้ำ (ที่ 27 ± 1 องศาเซลเซียส)	1.77	3.54
	เอทานอล	1.19	2.38
ทั้งผล	น้ำ (ที่ 60 ± 1 องศาเซลเซียส)	2.17	1.42
	น้ำ (ที่ 27 ± 1 องศาเซลเซียส)	0.59	0.39
	เอทานอล	3.62	2.76

4.2 ผลการตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้น

การทดสอบพฤษเคมีเบื้องต้น ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอน - ทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และอิริโดอยด์ไกลโคไซด์ ได้ถูกนำมาศึกษาในสารสกัดหยาบน้ำและเอทานอลของผลจากส่วนต่าง ๆ แสดงผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 พฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบผลจากส่วนต่าง ๆ ที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล

สารสกัดหยาบ	ตัวทำละลาย	พฤษเคมี								
		Ph	Sa	Al	Fl	Te	An	Ir	St	De
เปลือกแข็ง	น้ำ (ที่ 60±1 องศาเซลเซียส)	+	-	-	+	+	-	-	+	-
	น้ำ (ที่ 27±1 องศาเซลเซียส)	+	+	-	+	+	-	-	+	-
	เอทานอล	+	-	-	+	+	-	-	+	+
เปลือกอ่อน	น้ำ (ที่ 60±1 องศาเซลเซียส)	+	-	-	+	+	-	-	+	-
	น้ำ (ที่ 27±1 องศาเซลเซียส)	+	+	-	+	+	-	-	+	-
	เอทานอล	+	-	-	+	+	-	-	+	+
เนื้อ	น้ำ (ที่ 60±1 องศาเซลเซียส)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	น้ำ (ที่ 27±1 องศาเซลเซียส)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เอทานอล	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ทั้งผล	น้ำ (ที่ 60±1 องศาเซลเซียส)	+	-	-	+	+	-	-	+	-
	น้ำ (ที่ 27±1 องศาเซลเซียส)	+	+	-	+	+	-	-	+	-
	เอทานอล	+	-	-	+	+	-	-	+	+

หมายเหตุ: เครื่องหมาย + หมายถึง ตรวจพบ; เครื่องหมาย - หมายถึง ตรวจไม่พบ; Ph คือ ฟีนอลิก; Sa คือ ซาโปนิน; Al คือ แอลคาลอยด์; Fl คือ ฟลาโวนอยด์; Te คือ เทอร์ปีนอยด์; An คือ แอนทราควิโนน; Ir คือ อิริดอยด์ไกลโคไซด์; St คือ สเตียรอยด์; De คือ น้ำตาลดีออกซี

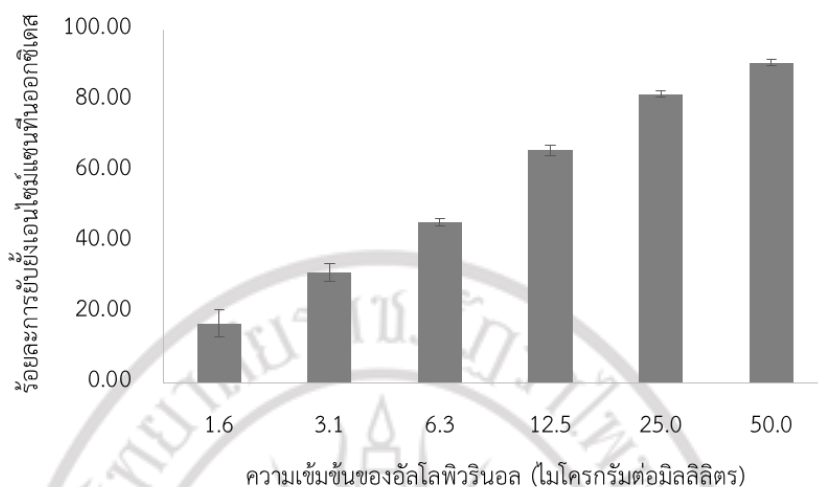
จากตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดหยาบของส่วนเนื้อผลจากทุกสารสกัดตรวจไม่พบพฤษเคมี อาจมาจากในส่วนของเนื้อที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลให้สารพฤษเคมีน้อยมากในระดับที่ไม่สามารถ ตรวจพบได้ด้วยวิธีการที่ใช่ หรือวิธีการสกัดไม่สามารถดึงสารสำคัญออกมาได้มากพอจะตรวจพบได้ แต่ อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยที่ผ่านมา (Prasad, N., *et al.* : 2013, pp 1-9) มีการรายงานผลจากส่วน เนื้อหรือเอนโดสเปิร์มที่สกัด ด้วยเอทานอลร้อยละ 50 ในระยะผลดิบและผลสุก พบว่า ที่ระยะผลดิบมี สารประกอบฟีนอลิก (135.6 ± 4.5 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัม) ปริมาณฟลาโวนอยด์ (68.6 ± 3.1 มิลลิกรัมสมมูลของรูติน/กรัม) และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ สูงกว่าผลจากในระยะผล สุกและตรวจพบสารในกลุ่มฟีนอลิก คือ Chlorogenic acid Protocatechuic acid และ Kaempferol ซึ่งทั้ง 3 ชนิด เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญ สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารที่มีศักยภาพ ของสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ ข้อมูลงานวิจัยดังกล่าวอาจสรุปเบื้องต้นได้ว่าผลจากในระยะสุก มีปริมาณสารสำคัญน้อยกว่าผลจากในระยะดิบ ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยนี้ที่ตรวจไม่พบพฤษเคมีใน ตัวอย่างผลจากสุก

ในสารสกัดหยาบต่าง ๆ ของส่วนเปลือกแข็ง เปลือกอ่อน และทั้งผล ที่สกัดด้วยน้ำและเอทา นอล ให้ผลพฤษเคมีที่คล้ายกัน คือ ตรวจพบ สารประกอบ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และ สเตียรอยด์ โดยที่ตรวจไม่พบแอลคาลอยด์ แอนทราควิโนน และอิริตรอยด์ไกลโคไซด์ ในส่วนของซาโปนิน ตรวจพบในสารสกัดหยาบน้ำของทั้งผล เปลือกแข็ง และเปลือกอ่อนที่ไม่ผ่านกระบวนการต้มคั่วที่ไม่พบ ในสารสกัดหยาบเอทานอล ซึ่งอาจมาจากกลุ่มซาโปนินละลายน้ำได้ดีเนื่องจากมีสภาพขี้เกลือเคี้ยวกัน และความร้อนอาจมีผลให้กลุ่มซาโปนินถูกทำลายจึงตรวจไม่พบในสารสกัดหลังการต้ม ส่วนในกรณีของ น้ำตาลคือออกซิตรวจพบเฉพาะในสารสกัดหยาบเอทานอลเท่านั้นซึ่งนี้เพราะสารกลุ่มน้ำตาลคือออกซิสามารถ ละลายได้ดีในเอทานอลมากกว่าน้ำ

4.3 ผลการหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารมาตรฐาน อัลโลพิวรีนอล

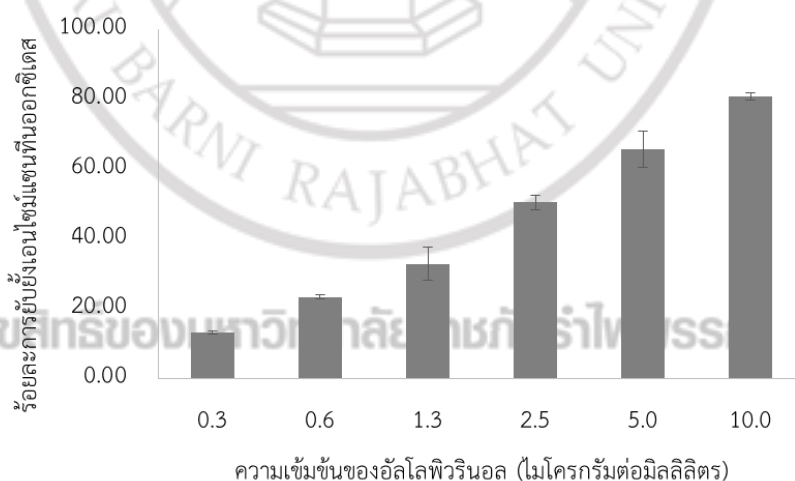
ในการทดลองนี้ใช้สารมาตรฐานอัลโลพิวรีนอลเป็นตัวควบคุมสำหรับการศึกษาฤทธิ์การยับยั้ง เอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของผล จาก ซึ่งอัลโลพิวรีนอลเป็นยาในกลุ่มที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีน - ออกซิเดส โดยใช้สารมาตรฐานอัลโลพิวรีนอลในตัวทำละลายเอทานอลและน้ำ

ในกรณีใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ได้เตรียมอัลโลพิวรีนอลที่ความเข้มข้น $1.6-50$ ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ได้ผลแสดงดังภาพที่ 4.2 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.1 ± 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสและความเข้มข้นของสารมาตรฐานอัลโลพิวรินอลในน้ำ

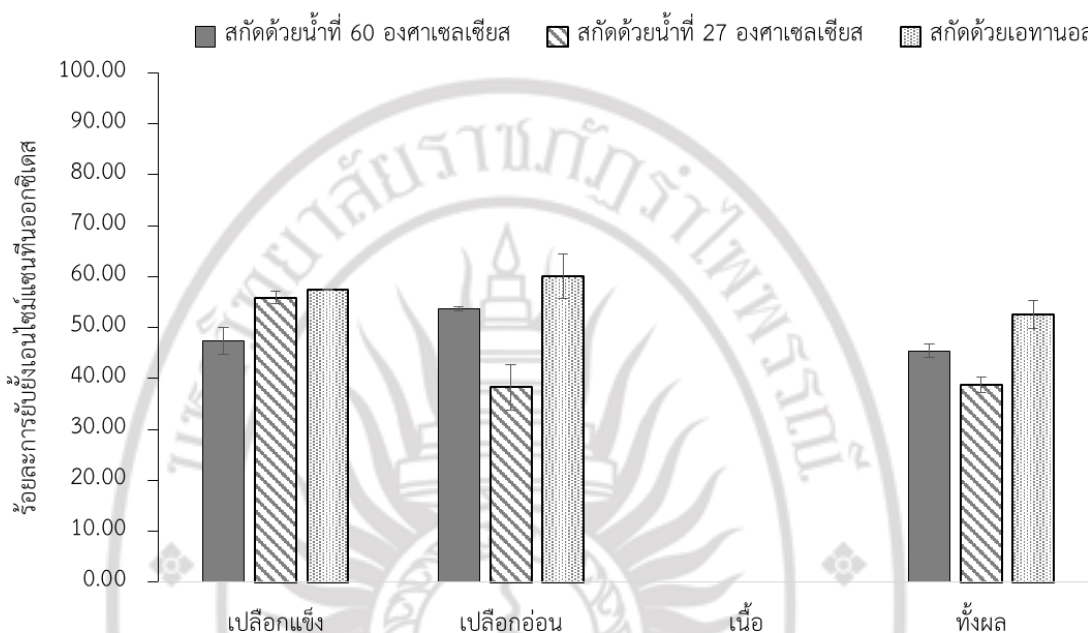
ในกรณีใช้เอทานอล ร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลาย ได้เตรียมอัลโลพิวรินอลที่ความเข้มข้น 0.3 - 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลแสดงดังภาพที่ 4.3 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.4 ± 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจากการศึกษาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารมาตรฐานอัลโลพิวรินอลทั้ง ในตัวทำละลายที่เป็นเอทานอลและน้ำ ให้ค่าการยับยั้งเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของอัลโลพิวรินอลเพิ่มขึ้น และในกรณีที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายให้ค่า IC_{50} ต่ำกว่าในกรณีที่ใช้ น้ำเป็นตัวทำละลาย



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสและความเข้มข้นของสารมาตรฐานอัลโลพิวรินอลในเอทานอล

4.4 ผลการหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารสกัดหยาดผลจาก

จากการนำสารสกัดหยาบน้ำและเอทานอลของผลจากทั้ง 4 ส่วน คือ เปลือกแข็ง เปลือกอ่อน เนื้อ และทั้งผล มาทำการวิเคราะห์ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลแสดงดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากภาพที่ 4.4 ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเนื้อทั้งที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลไม่แสดงผลการยับยั้งเอนไซม์ ในกรณีที่สกัดด้วยเอทานอล ทั้งส่วนเปลือกแข็ง เปลือกอ่อน และทั้งผลสามารถยับยั้งเอนไซม์ได้มากกว่าร้อยละ 50

เมื่อนำสารสกัดหยาบแต่ละส่วนมาเตรียมความเข้มข้นที่ช่วง 0.016 -1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทำการหาค่าการยับยั้งที่ร้อยละ 50 หรือ IC_{50} ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.3

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.3 ผลค่ายับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสของสารสกัดผลจากด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล

ตัวอย่างผลจาก	ตัวทำละลาย	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
---------------	------------	-----------------------------------

เปลือกแข็ง	น้ำ (ที่ 60±1 องศาเซลเซียส)	0.35±0.05
	น้ำ (ที่ 27±1 องศาเซลเซียส)	0.15±0.05
	เอทานอล	0.12±0.01
เปลือกอ่อน	น้ำ (ที่ 60±1 องศาเซลเซียส)	0.14±0.04
	น้ำ (ที่ 27±1 องศาเซลเซียส)	ยับยั้งไม่ถึง ร้อยละ 50
	เอทานอล	0.029±0.001
เนื้อ	น้ำ (ที่ 60±1 องศาเซลเซียส)	ไม่แสดงการยับยั้ง
	น้ำ (ที่ 27±1 องศาเซลเซียส)	ไม่แสดงการยับยั้ง
	เอทานอล	ไม่แสดงการยับยั้ง
ทั้งผล	น้ำ (ที่ 60±1 องศาเซลเซียส)	0.40±0.04
	น้ำ (ที่ 27±1 องศาเซลเซียส)	0.71±0.10
	เอทานอล	0.24±0.06
อัลโลพิวรินอล	น้ำ	0.0081±0.0001
	เอทานอล	0.0024±0.0001

จากตารางที่ 4. 3 สารสกัดหยาบส่วนของเปลือก แข็ง เปลือกอ่อน และส่วนทั้งผลจากที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอล ส่วนใหญ่ ให้ค่าการยับยั้งที่ ดี (ค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.029-0.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่ในกรณีสารสกัดหยาบส่วนเนื้อไม่แสดงการยับยั้งเอนไซม์แม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบให้มากขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลให้ค่าการยับยั้งที่ดีกว่าสารสกัดหยาบน้ำทั้งในส่วนของเปลือกแข็ง เปลือกอ่อน และทั้งผล ซึ่งอาจมาจากสภาพขั้วของตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดต่างกัน น้ำมีขั้วสูงกว่าเอทานอลจึงสกัดสารที่มีขั้วสูงกว่าออกมา ส่วนสารที่ถูกสกัดออกมาในตัวทำละลายเอทานอลจะเป็นกลุ่มที่มีขั้วต่ำกว่าน้ำ ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสารที่ถูกสกัดออกมาในสภาพขั้วใกล้เคียงกับเอทานอลให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสได้ดีกว่าสารที่ถูกสกัดออกมาในน้ำ โดยที่สารสกัดหยาบเอทานอลของเปลือกอ่อนให้ค่าการยับยั้งดีที่สุดด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.029 ± 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับผลของสารละลายมาตรฐานอัลโลพิวรินอลที่มีตัวทำละลายเอทานอล (ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0024 ± 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ให้ค่ายับยั้งที่ต่ำกว่าประมาณ 12 เท่า

ในกรณีผลของการสกัดด้วยน้ำ ที่ผ่านกระบวนการต้ม (60 ± 1 องศาเซลเซียส) และไม่ผ่านกระบวนการต้ม (27 ± 1 องศาเซลเซียส) พบว่าส่วนใหญ่สารสกัดหยาบน้ำที่ผ่านกระบวนการต้มให้ผล การยับยั้งที่ดีกว่าสกัดด้วยน้ำที่ไม่ผ่านกระบวนการต้ม อาจกล่าวได้ว่าความร้อนช่วยในการสกัดสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสออกมาได้ดี โดยในส่วนของ เปลือกอ่อนที่สกัดด้วยน้ำที่ผ่านกระบวนการต้ม ให้ค่าการยับยั้งที่ดีที่สุดด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 0.14 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเมื่อนำมาเทียบกับค่าการยับยั้งเอนไซม์ของสารละลาย มาตรฐานอัลโลพิวรินอลที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย (ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0081 ± 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ให้ค่ายับยั้งที่ต่ำกว่าประมาณ 17 เท่า

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างพฤษเคมีและร้อยละการยับยั้งของเอนไซม์ แชนทีนออกซิเดส จะพบรายงานวิจัยต่าง ๆ ที่ผ่านมา กล่าวถึงสารสำคัญหลาย ๆ กลุ่ม โดยเฉพาะสารกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซิเดสได้ดี (Hanaee, J. et al., 2004 : pp. 243-247, Ryu, H.W. et al. 2012 : pp. 587-594, Isa, S.S.P.M. Ablat, A. & Mohamad, J. 2018 : pp. 1-18, Fischer, S.P.M. et al. 2018 : pp. 505-519) ซึ่งจากผลการวิจัยนี้ พบว่าในกรณีสารสกัดหยาบส่วนเนื้อผลจากทั้งในสารสกัดหยาบน้ำและเอทานอลไม่พบพฤษเคมีทุกชนิด ซึ่งสอดคล้องกับผลการยับยั้งเอนไซม์ที่ไม่พบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซิเดสแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ในกรณีของสารสกัดหยาบน้ำและเอทานอลของส่วนเปลือกแข็ง เปลือกอ่อน และทั้งผล ให้ผลพฤษเคมีที่คล้ายกัน คือ ตรวจพบ สารประกอบ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และสเตียรอยด์ ซึ่งให้ผล การยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซิเดสในทุกสารสกัด ส่วนในกรณีของน้ำตาลดื้อออกซีตรวจพบเฉพาะในสารสกัดหยาบเอทานอลเท่านั้น ซึ่งสารสกัดเอทานอล (IC_{50} เท่ากับ 0.029-0.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ให้ค่าการยับยั้งเอนไซม์ที่ดีกว่าสารสกัดน้ำ (IC_{50} เท่ากับ 0.14-0.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ดังนั้น น้ำตาล ดื้อออกซีอาจจะมีผลช่วยเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซิเดสมากขึ้น อย่างไรก็ตามข้อมูลดังที่กล่าวมาเป็นเพียงข้อมูลเบื้องต้น สารสำคัญที่ให้ค่าการยับยั้งเอนไซม์ที่ดีที่สุด อาจจะเป็นสารกลุ่มอื่นซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป

อย่างไรก็ตาม ผลงานวิจัยนี้ได้ช่วยยืนยันเบื้องต้นว่าสารสกัดหยาบของผลจากสามารถยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซิเดสได้ ซึ่งเป็นการช่วยยืนยันความเป็นไปได้ของภูมิปัญญาของชาวบ้านที่ได้นำน้ำต้มผลจากมาดื่มเป็นสมุนไพรรักษาอาการปวดตามข้อด้วยสาเหตุจากโรคเกาต์ ซึ่งมีความน่าสนใจในการศึกษาต่อไปเนื่องจากข้อมูลเกี่ยวกับผล จากยังมีรายงานอยู่น้อยมาก และผลการยับยั้งเอนไซม์แชนทีนออกซิเดสก็ยังไม่พบการรายงาน ดังนั้นจึงอาจทำการศึกษาต่อโดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ๆ ที่เหมาะสม หรือศึกษาสภาวะการสกัดแบบต่าง ๆ เพื่อการพัฒนาผลจากเป็นยาสมุนไพรรักษาโรคเกาต์ที่มีประสิทธิภาพสูง และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกจากที่เหลือทิ้งจากการประกอบอาหารได้