

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่

ณพัฐอร บัวฉุน^{1*}

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบของสารสกัดหยาบเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ โดยนำเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ มาสกัดแบบต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ มีร้อยละผลผลิตสูงกว่าสารสกัดเมล็ดมะม่วงไม่รู้โห่ สารสกัดเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (41.27 ถึง 10.20 mgGAE/g) มากกว่าสารสกัดเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ (39.74 ถึง 11.00 mgGAE/g) และสารสกัดเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ มีปริมาณแทนนินทั้งหมด (65.21 ถึง 35.14 mg/g) มากกว่าสารสกัดเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ (65.10 ถึง 37.00 mg/g) และพบสารประกอบกลุ่มสารหลักคือ สารฟลาโวนอยด์ เตอรอยด์-เทอร์นส์ และ สารอัลคาลอยด์ของสารสกัดหยาบเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ นอกจากนี้สารสกัดหยาบเนื้อมะม่วงไม่รู้โห่ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (30.21 ถึง 71.01%) และเมล็ดของมะม่วงไม่รู้โห่ แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (33.15% ถึง 51.02%) ในทุกๆ ความเข้มข้น

คำสำคัญ : สารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด มะม่วงไม่รู้โห่

¹ สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

*ผู้นิพนธ์หลัก e-mail: send2duang@hotmail.com

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TOTAL PHENOLIC FROM SEEDS AND FRUITS OF *CARISSA CARANDAS*

Napattaorn Buachoon^{1*}

Abstract

The objective of this research was to study the antioxidant activity and total phenolic from seeds and เนื้อ *Carissa carandas*. Continuous Soxhlet extraction was used to prepare the leaf and fruits extracts with seven organic solvents. The percent yields of fruits extracts were higher than the seed extracts. Moreover, the fruits extracts showed higher total phenolic content (41.27 to 10.20 mgGAE/g) than seed extracts (39.74 to 11.00 mgGAE/g) and the fruits extracts showed higher total tannin content (65.21 ถึง 35.14 mg/g) than seed extracts (65.10 ถึง 37.00 mg/g). In addition, the เนื้อ extracts was also more active (30.21 to 71.01%) than seed extracts (33.15% to 51.02%) on DPPH inhibitory activity in every concentrations.

Keywords : Antioxidant activity, Total phenolic, *Carissa carandas*

¹ Chemistry Program , Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

* Corresponding author, e-mail: send2duang@hotmail.com

บทนำ

มะม่วงไม่รู้หำ (Carissa carandas) มีชื่อสามัญคือ Karanda, Carunda และ Christ's thorn หรือชื่อพื้นเมืองอื่น ๆ เช่น หนามแดง มะม่วงไม่รู้หำ เป็นผลไม้โบราณพื้นเมืองชนิดหนึ่งที่สามารถเก็บเกี่ยวผลได้ตลอดทั้งปี แต่จะมีมากในช่วงประมาณเดือนพฤษภาคม-กรกฎาคม ดอกมีสีชมพูหรือแดงอ่อน และมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ออกดอกตลอดปี ผลอ่อนจะมีสีชมพูอ่อนๆ และค่อยๆ เข้มขึ้นเป็นสีแดง จนกระทั่งสุกจึงกลายเป็นสีดำ เมล็ดแบน มี 6 เมล็ด เนื่องจากผลสุกของมะม่วงไม่รู้หำมีสีเข้มมากจนถึงดำจึงจัดเป็นแหล่งของแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่สำคัญ และจากรายงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์พบว่าแอนโทไซยานินเป็นหนึ่งในกลุ่มของรงควัตถุที่มีศักยภาพในการป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ ซึ่งปัจจุบันผู้บริโภคเริ่มรู้จัก และต้องการผลมะม่วงไม่รู้หำมากขึ้น เพราะทางวิชาการระบุว่ามิประโยชน์ต่อร่างกาย มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากตามไปด้วยและเป็นตัวช่วยป้องกันการเกิดโรคหลายโรค เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ เป็นต้น และในมะม่วงไม่รู้หำอาจจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าในผักและผลไม้ตามท้องตลาดทั่วไปอีกด้วย การศึกษาเบื้องต้นพบว่ สารสกัดของมะม่วงไม่รู้หำยังประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ เช่น สารโพลีฟีนอลิก (polyphenolic) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ฟลาโวนอน (flavanone) วิตามิน ซี อัลคาลอยด์ (alkaloid) ซาโปนิน (saponin) และ แทนนิน (tannins) ซึ่งสารเหล่านี้เนื่องจากจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังมีความสามารถในการป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน (antidiabetic) และป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (anticancer) (สกุลกานต์ และคณะ, 2556; Kubola *et al.*, 2011; Itankar *et al.*, 2011; Gupta *et al.*, 2014) จึงมีการนำผล มะม่วงหาวมะนาวโห่มาใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น ดอง แช่อิ่ม แยม เยลลี่ และเครื่องดื่ม เป็นต้น และนอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 1 ใน 95% เอทานอล (ชนานันท์ สุวรรณปิฎก และ มยุรี กัลยาวัฒนกุล, 2557) และพบว่าผลสุกสีม่วงเข้มประกอบด้วยสารกลุ่มแอนโทไซยานิน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (จุฑามาศ สื่อประสาร, ทานตะวัน พิทักษ์ และศิริพร เรียบร้อย, 2556)

อนุมูลอิสระ (Free radicals) คือ โมเลกุลของสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระอยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุล มีความไม่คงตัว จึงว่องไวต่อการทำปฏิกิริยา สามารถที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ซึ่งส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ที่อยู่ภายในร่างกาย เช่น การเกิดริ้วรอยเหี่ยวย่น (Wrinkle) หรือเป็นมะเร็งผิวหนังบางชนิด หรืออาจจะเกิดในระบบหัวใจและหลอดเลือดส่งผลให้เกิดหลอดเลือดแข็งตัว ดังนั้น สารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระและต้านการเกิดออกซิเดชัน จึงมีบทบาทในการป้องกันหรือยับยั้งความรุนแรงของอาการหรือโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบเช่น อาหาร เครื่องสำอาง เกิดการหืนได้

สารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีอยู่ในผัก ผลไม้และสมุนไพรสามารถหยุดยั้งอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ รวมทั้งโรคอัลไซเมอร์ (ณพัชร บัวฉวน, 2558) ดังนั้น การศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในผัก ผลไม้และสมุนไพรจึงได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เช่นเดียวกับมะม่วงไม่รู้หำ ซึ่งมีการกล่าวอ้างสรรพคุณต่างๆ ตามภูมิปัญญาชาวบ้านที่ได้รับการถ่ายทอดมาเป็น เวลานาน โดยนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านเป็นยาและอาหาร รวมทั้งยังเป็นพืชทนแล้งและทนต่อมลพิษจากสิ่งแวดล้อม จึงควรมีการเผยแพร่สรรพคุณและส่งเสริมให้มีการปลูกและนำไปใช้ประโยชน์ให้มากขึ้น อย่างไรก็ตามรายงานผลการศึกษาหรือข้อมูล ทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนการกล่าวอ้างดังกล่าวยังไม่เพียงพอ และต้องอาศัยข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เป็นปัจจัยหลักที่ช่วย สนับสนุนและผลักดันให้บรรลุผลดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเน้นศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หำ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ

สารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หำ และเพื่อเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับสมุนไพรไทยและเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาขั้นสูงต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของของสารสกัดหยาบเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หำ
2. เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หำ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำ

เนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำ ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ นำมาจากตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี ในช่วงเดือนกรกฎาคม 2558 การเตรียมสารสกัดหยาบเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำ ทำโดยนำเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำ ซึ่งนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น ทำการแยกบดแต่ละส่วนและนำส่วนที่บดละเอียดมาซึ่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน จำนวนอย่างละ 500 กรัม นำไปสกัดต่อเนื่องด้วยเครื่องชกซ์เลต (Soxhlet extractor) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งหมด 7 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ ที่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ทำการสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งน้ำหนักสารสกัดหยาบแต่ละตัวอย่างที่สกัดได้ คำนวณหาร้อยละผลผลิต และเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

2. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Leite & Dourado, 2013; Lingard & Singlaton, 1977)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดโดยใช้สารละลาย Folin-Ciocalteu เป็นตัวออกซิไดซ์ และใช้สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ทำการผสมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร กับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และสารสกัดที่ทำทดสอบที่ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทำการผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 2.5 % (w/v) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 25 นาที นำสารละลายที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (A_{760}) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หลังจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Gallic acid equivalents, mg GAE/g dried extract)

3. การหาปริมาณสารประกอบแทนนินรวม (Leite & Dourado, 2013; Lingard & Singlaton, 1977)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดโดยใช้สารละลาย Folin-Ciocalteu เป็นตัวออกซิไดซ์ และใช้สารมาตรฐานกรดแทนนิก (Tannic acid) ทำการผสมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร กับสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก และสารสกัดที่ทำทดสอบที่ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทำการผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 2.5 % (w/v) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ทำการเขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 25 นาที นำสารละลายที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis

Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (A_{760}) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หลังจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณแทนนินรวมของสารตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก

4. การตรวจเอกลักษณ์สารสำคัญของสารสกัดหยาบเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำ

การแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลขผิวบาง ประกอบด้วย กลุ่มหลักดังนี้ สารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ สารอัลคาลอยด์ และสารฟลาโวนอยด์

4.1 การวิเคราะห์หาสารกลุ่มสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์

เตรียมสารละลายมาตรฐาน ซึ่ง เบตา-ซิโตสเตอรอล 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในคลอโรฟอร์ม เตรียมน้ำยวานิลลิน-กรดซัลฟูริก ละลายวานิลลิน 3 กรัม ในสารละลาย เอทานอล 100 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริก 0.5 มิลลิลิตร และซังสารสกัดหยาบเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำ อย่างละ 5 กรัม เติมหะเสน 25 มิลลิลิตร เขย่า 30 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 ซะล้างกระดาษกรองด้วยเฮกเซน 5 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ไประเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง นำสารละลายมาตรฐาน จุดบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลขผิวบาง แล้วไล่ลงถึงที่มีวัฏภาคเคลื่อนที่คือ เอทิลอะซีเตต : เฮกเซน ตั้งทิ้งให้วัฏภาคเคลื่อนที่ซิมขึ้นไปบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลขผิวบางเป็นระยะทาง 10 เซนติเมตร หลังจากนั้นนำแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลขผิวบางมาพ่นด้วยน้ำยวานิลลิน-กรดซัลฟูริก (Vanillin- H_2SO_4) ตรวจดูแถบสารภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

4.2 การวิเคราะห์หาสารกลุ่มอัลคาลอยด์

เตรียมสารละลายมาตรฐานควินินซัลเฟต ซึ่งควินินซัลเฟต 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอล เตรียมน้ำยาตราเจนดอร์ฟ สารละลาย A: บิสมัท(III)ไนเตรด 0.85 กรัม ในสารละลายที่มีกรดอะซิติก 99.70 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร และน้ำ 40 มิลลิลิตร สารละลาย B: สารละลายโปตัสเซียมไอโอไดด์ 8 กรัม ด้วยน้ำ 20 มิลลิลิตร Stock Solution: ผสมสารละลาย A และ B ในอัตราส่วนที่เท่ากัน วิธีใช้ ผสม Stock Solution 1 มิลลิลิตร กับกรดอะซิติก 99.70 เปอร์เซ็นต์ 2 มิลลิลิตร และน้ำ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปพ่นบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลขผิวบาง ซังสารสกัดหยาบเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำ อย่างละ 5 กรัม เติมหะเสน 0.1 นอร์มัล กรดซัลฟูริก 100 มิลลิลิตร เขย่า 20 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 ซะล้างกระดาษกรองด้วย 0.1 นอร์มัล กรดซัลฟูริก 10 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ทำให้เป็นด่าง โดยเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 5 จนได้ pH 8-9 สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (3 ครั้ง ปริมาตรครั้ง 40 มิลลิลิตร ครั้งละ 10 นาที) ในกรวยแยก รวมสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มมาแก้จัดน้ำที่ปนอยู่ โดยกรองผ่านโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัสบนกระดาษกรองเบอร์ 42 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยสุญญากาศแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง และนำสารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐานจุดบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลขผิวบางแล้วไล่ลงถึงที่มีวัฏภาคเคลื่อนที่คือ คลอโรฟอร์ม: เมทานอล: น้ำ ตั้งทิ้งให้วัฏภาคเคลื่อนที่ซิมขึ้นไปบนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลขผิวบางเป็นระยะทาง 10 เซนติเมตร นำแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลขผิวบาง พ่นด้วยน้ำยาตราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's Reagent) ตรวจดูแถบสารภายใต้รังสียูวี ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

4.3 การวิเคราะห์หาสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

เตรียมสารละลายมาตรฐานรูทีน โดยซังรูทีน 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเมทานอล และทำการเตรียมน้ำยานเจอรัลโปรดักส์-โพลิเอธิลีนไกลคอล สารละลาย A: ละลายไดฟีนิลโบรลิดีซีเอธิลมีน 1 กรัม ด้วยเมทานอล 100 มิลลิลิตร สารละลาย B: สารละลายโพลิเอธิลีนไกลคอล 5 กรัม ด้วยเอทานอล 100 มิลลิลิตร

วิธีใช้ นี๊ดพ่นสารละลาย A แล้วตามด้วยสารละลาย B ซึ่งสารสกัดหยาบเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำเอย่างละ 10 กรัม เติมน้ำตาล 40 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทิ้งให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 42 ซะล้าง กระดาษกรองด้วยเมทานอล 10 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่ได้ไประเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ละลายด้วยเมทานอล 1 มิลลิลิตร ได้สารละลายตัวอย่าง และนำสารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐาน Spot บนแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลผิวบางแล้วใส่ลงในถังที่มีวัฏภาคเคลื่อนที่ คือ เอทานอล: กรดฟอร์มิก: น้ำ ตั้งทิ้งให้วัฏภาคเคลื่อนที่ซึมขึ้นไปบนแผ่น โครมาโทกราฟีแบบแรงคผลผิวบางเป็นระยะทาง 10 เซนติเมตร นำแผ่นโครมาโทกราฟีแบบแรงคผลผิวบางตรวจดูแถบสารภายใต้รังสี UV ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

5. การศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำเอย่างละ การศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเนื้อและเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH radical scavenging ซึ่งจะเป็นการทดสอบฤทธิ์ด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH โดยผสมสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย 0.15 มิลลิโมลาร์ DPPH ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ให้เข้ากัน และนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (A_{517}) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ(% DPPH radical inhibition) จากสูตร

$$\%Inhibition = [(Ac - As)/Ac] \times 100$$

เมื่อ Ac คือค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม และ As คือค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

ผลการวิจัย

ในการสกัดสารจากเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำเอย่าง โดยผู้วิจัยทำการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ พบว่าร้อยละผลผลิตจากน้ำหนักแห้งของพืชจำนวน 500 กรัม แสดงดังตารางที่ 1 พบว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่ให้อัตราผลผลิตสูงที่สุดทั้งในส่วนที่สกัดได้จากเนื้อและเมล็ดมะม่วงไม่รู้หำเอย่าง คือเอทานอล

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเนื้อและเมล็ดมะม่วงไม่รู้หำไก่ ที่ใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน

สารสกัดหยาบของมะม่วงไม่รู้หำไก่	ตัวทำละลาย	ร้อยละผลผลิต
เนื้อ	เฮกเซน	3.75
	ไดคลอโรมีเทน	2.01
	เอทิลอะซิเตต	2.14
	อะซิโตน	7.02
	เอทานอล	20.25
	เมทานอล	10.98
	น้ำ	15.10
เมล็ด	เฮกเซน	0.52
	ไดคลอโรมีเทน	0.24
	เอทิลอะซิเตต	0.34
	อะซิโตน	5.61
	เอทานอล	18.11
	เมทานอล	8.25
	น้ำ	13.21

เมื่อนำสารสกัดเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หำไก่ มาหาปริมาณฟีนอลิกรวม แทนนินรวม และองค์ประกอบทางเคมี เมื่อใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และองค์ประกอบทางเคมี ของสารสกัดจากเนื้อและเมล็ดมะม่วงไม่รู้หำไก่ ที่ใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน

สารสกัดหยาบ ของมะม่วง ไม่รู้หำไก่	ตัวทำละลาย	ปริมาณ ฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)	ปริมาณ แทนนินรวม (mg/g)	องค์ประกอบทางเคมี		
				สเตอรอยด์- เทอร์ปีนส์	อัลคาลอยด์	ฟลาโวนอยด์
เนื้อ	เฮกเซน	18.34	40.32	NS	NA	NF
	ไดคลอโร มีเทน	10.20	38.21	NS	NA	NF
	เอทิลอะซิ เตต	10.52	35.14	NS	NA	NF
	อะซิโตน	20.41	41.94	NS	NA	✓
	เอทานอล	41.27	65.21	✓	✓	✓
	เมทานอล	25.94	45.32	NS	NS	✓
	น้ำ	30.78	51.94	NS	NS	NF

ตารางที่ 2 (ต่อ)

สารสกัด หยาบของ มะม่วง ไม่รู้โห่	ตัวทำละลาย	ปริมาณ ฟีนอลิกรวม (mgGAE/g)	ปริมาณ แทนนินรวม (mg/g)	องค์ประกอบทางเคมี		
				สเตอรอยด์- เทอร์ปีนส์	อัลคาลอยด์	ฟลาโวนอยด์
เมล็ด	เฮกเซน	14.87	40.94	NS	NS	NF
	ไดคลอโรมีเทน	12.02	38.71	NS	NA	NF
	เอทิลอะซิเตต	11.00	37.00	NS	NA	NF
	อะซิโตน	25.27	41.06	NS	NA	✓
	เอทานอล	39.74	65.10	NS	✓	✓
	เมทานอล	30.81	51.02	✓	NA	✓
	น้ำ	34.67	52.84	NS	NA	NF

NS หมายถึง ตรวจไม่พบสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์

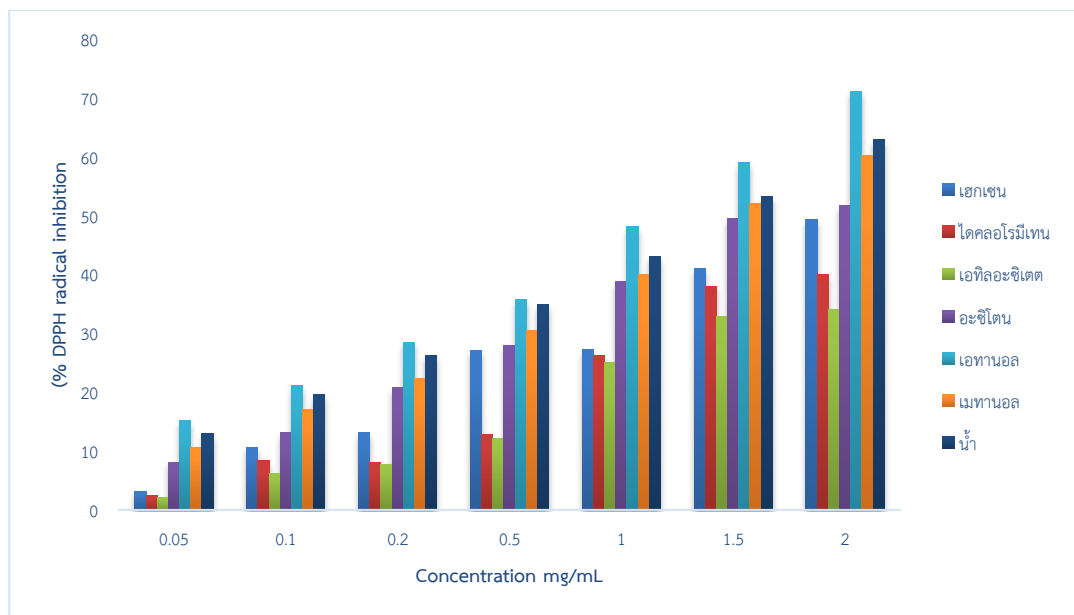
NA หมายถึง ตรวจไม่พบสารอัลคาลอยด์

NF หมายถึง ตรวจไม่พบสารฟลาโวนอยด์

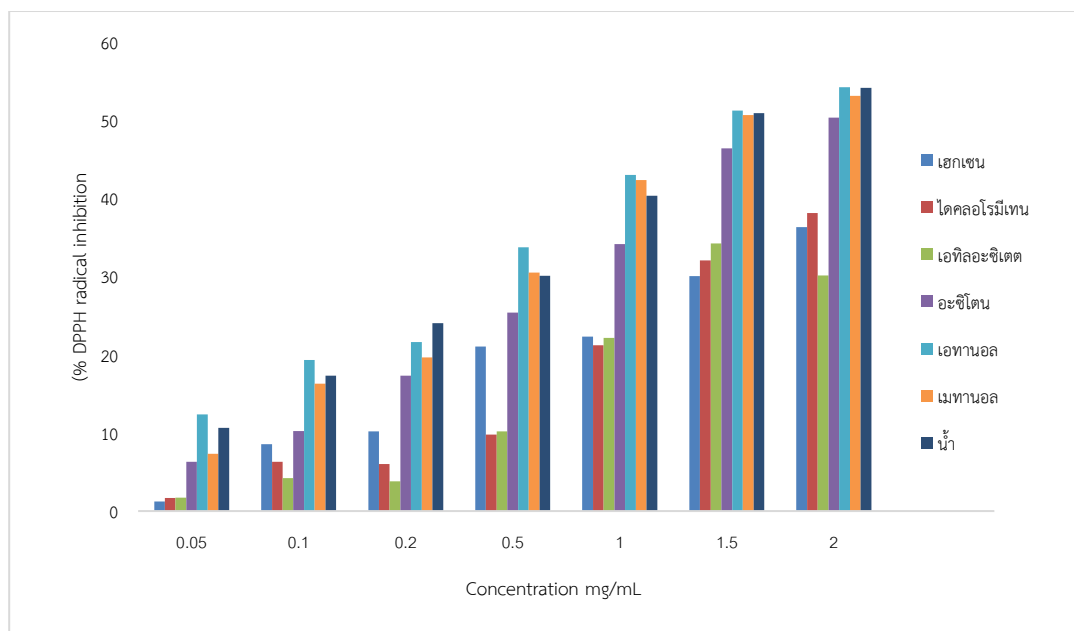
จากตารางที่ 2 เมื่อนำสารสกัดจากเนื้อและเมล็ดมะม่วงไม่รู้โห่ ที่ใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน มาหาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และองค์ประกอบทางเคมี จะพบว่าสารสกัดจากเนื้อมะม่วงหาวมะนาวโห่ มีปริมาณฟีนอลิกรวมตั้งแต่ 41.27 ถึง 10.20 mgGAE/g ปริมาณแทนนินรวม ตั้งแต่ 65.21 ถึง 35.14 mg/g และองค์ประกอบทางเคมีพบว่าสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลจะพบสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ สารอัลคาลอยด์ และจะพบสารฟลาโวนอยด์เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นอะซิโตน เอทานอล และเมทานอล และเมล็ดมะม่วงไม่รู้โห่ มีปริมาณฟีนอลิกรวมตั้งแต่ 39.74 ถึง 11.00 mgGAE/g ปริมาณ แทนนินรวม ตั้งแต่ 65.10 ถึง 37.00mg/g และองค์ประกอบทางเคมีพบว่าสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเมทานอลจะพบสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ ใช้ตัวทำละลายเอทานอลจะพบสารอัลคาลอยด์ และจะพบสารฟลาโวนอยด์เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นอะซิโตน เอทานอล และเมทานอล

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณแทนนินรวม จากสารสกัดเนื้อของมะม่วงไม่รู้โห่ สูงกว่าส่วนสารสกัดจากเมล็ดของมะม่วงไม่รู้โห่ ในทุกตัวทำละลาย และเมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นสูงเช่น เอทานอล เมทานอล และน้ำ จะพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณแทนนินรวม มีปริมาณสูงกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น แสดงให้เห็นว่าปริมาณฟีนอลิกรวม และปริมาณแทนนินรวมจาก สารสกัดเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้โห่ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีความเข้มข้นสูง

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้โห่ แสดงดังภาพที่ 1 และ 2 ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเนื้อมะม่วงไม่รู้หัท



ภาพที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะม่วงไม่รู้หัท

จากภาพที่ 1 พบส่วนสารสกัดหยาบเนื้อมะม่วงไม่รู้หัท มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (30.21 ถึง 71.01% ถึง) และเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หัท แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด (33.15% ถึง 51.02%) ในทุกๆ ความเข้มข้น และพบว่าในส่วนของการสกัดหยาบของเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หัท ทุกๆตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดจะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีกว่าสารสกัดเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หัท สามารถสรุปได้ว่าฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของเนื้อและเมล็ดของมะม่วงไม่รู้หัท นั้นน่าจะเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีขั้วสูง

อภิปรายผล

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หัท พบว่า สารสกัดหยาบเนื้อมะม่วงไม่รู้หัท จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (41.27 ถึง 10.20 mgGAE/g) และปริมาณแทนนินทั้งหมด (65.21 ถึง 35.14 mg/g) สูงกว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (39.74 ถึง 11.00 mgGAE/g) และปริมาณแทนนินทั้งหมด (65.10 ถึง 37.00 mg/g) ของสารสกัดหยาบเมล็ดมะม่วงไม่รู้หัท เมื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี โดยการนำสารสกัดหยาบเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หัท ไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแรงเคลือบผิวบาง พบสารประกอบกลุ่มสารหลัก คือ สารสเตอรอยด์ - เทอร์ปีนส์ สารอัลคาลอยด์ และสารฟลาโวนอยด์ ในสารสกัดหยาบเนื้อมะม่วงไม่รู้หัท ใช้ตัวทำละลายเอทานอล อะซิโตน และ น้ำ และองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบเมล็ดมะม่วงไม่รู้หัท พบสารสเตอรอยด์-เทอร์ปีนส์ สารอัลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นอะซิโตน เอทานอล และเมทานอล สอดคล้องกับงานวิจัยของ มนสิชา ขวัญเอกพันธ์ และคณะ (2555) ที่ได้สกัดจากส่วนเถาของมะม่วงไม่รู้หัท พบว่า สารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายร้อยละ 80 เมทานอล และร้อยละ 80 เอทานอล มีร้อยละของสารสกัด คือ 3.23 และ 6.12 และพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม เท่ากับ 10.54 และ 10.18 มิลลิกรัมแกลลิกต่ออาน้ำหนักแห้งตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหยาบเมล็ดและเนื้อมะม่วงไม่รู้หัท มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะพบว่า สารสกัดหยาบจากเนื้อจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุรชาติพย อินทรกำธรชัย และคณะ (2555) ที่ได้ทำการสกัดและประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกมะลิลา พบว่าจากการสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกมะลิลาด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ ให้ผลผลิตสารสกัดร้อยละ 39.64 และ 21.24 สำหรับดอกแห้งและดอกสด ตามลำดับ สารสกัดดอกมะลิลาที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 56.05 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง (mg GAE/g) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกมะลิลาพบค่า IC_{50} เท่ากับ 0.87 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการศึกษาดังกล่าวนั้น สามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเป็นแหล่งข้อมูลอ้างอิงของสารต้านอนุมูลอิสระและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ได้

เอกสารอ้างอิง

- จุฑามาต สือประสาร ทานตะวัน พิรัชย์ และศิริพร เรียบร้อย. (2556). การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารแอนโทไซยานินจากผลหนามแดง. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51: สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์, สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชนานันท์ สุวรรณปิฎกกุล และมยุรี กัลยาวัฒนกุล. (2557). การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่. รายงานการศึกษาอิสระ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, เชียงราย.

- ณพัฐอร บัวฉวน. (2558). สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากปลิงกาสา. การประชุมวิชาการระดับชาติ ราชภัฏวิจัย ครั้งที่ 3. นครศรีธรรมราช (45-50).
- _____. (2558). สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะเอมไทย. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์**. 10(2), 78-95.
- มนสิชา ขวัญเอกพันธ์ และคณะ. (2555).ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากส่วนเถาชะเอมไทย. เชียงราย : มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- สกุลกานต์ สิมลา, สุรศักดิ์ บุญแต่ง และพัชรี สิริตระกูลศักดิ์. (2556). การประเมินปริมาณสารฟฤษเคมีบางประการและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระใน *Carissa carandas* L. **แก่นเกษตร** 41 ฉบับพิเศษ: 602-606.
- สุธาทิพย์ อินทรกำธรชัย และคณะ. (2555). การพัฒนาครีมชะลอวัยผสมสารสกัดดอกมะลิลา. เชียงราย: มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- Gupta, P., I. Bhatnagar, S-K. Kim, A. K. Verma, and A. Sharma. 2014. *In-vitro* cancer cell cytotoxicity and alpha amylase inhibition effect of seven tropical fruit residues. **Asian Pac J Trop Biomed**. 4(2), S665-S671.
- Itankar, P. R., S. J. Lokhande, P. R. Verma, S. K. Arora, R. A. Sahu, and A. T. Patil. Antidiabetic potential of unripe *Carissa carandas* Linn. Fruit extract. **J. Ethnopharmacology**. 135, 430-433.
- Kubola, J., S. Siriamornpun, and N. Meeso. 2011. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. **Food Chemistry**. 126, 972-981.