

บทที่ 4

รายงานผลและอภิปรายผลการศึกษา

การสกัดสารสำคัญจากใบมะม่วง

การสกัดสารสำคัญจากใบมะม่วงด้วย 95%ethanol โดยใช้ใบมะม่วงสดน้ำหนัก 2 กิโลกรัมจะได้สารสกัดสีเขียวซึ่งมีลักษณะหนืด มีกลิ่นใบมะม่วงปริมาณ 97.11 กรัม ซึ่งสารสกัดคิดเป็นร้อยละ 4.86 โดยน้ำหนัก เมื่อเทียบกับปริมาณใบมะม่วงสด สารสกัดมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4 เมื่อวัดด้วยกระดาษวัด pH และมีค่าการละลายใน propylene glycol (PG), ethanol, methanol และ deionized water คือ 1:1, 1:1, 1:1 และ 1:2 ตามลำดับ เมื่อนำมาหาปริมาณสารแมงจิเฟอรินโดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามีปริมาณแมงจิเฟอรินคิดเป็นร้อยละ 7.36 โดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับปริมาณสารสกัดทั้งหมดและมีปริมาณแมงจิเฟอรินคิดเป็นร้อยละ 0.36 โดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับปริมาณใบมะม่วงสด รายละเอียดของสารสกัดที่ได้แสดงในตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 แสดงรายละเอียดเกี่ยวกับสารสกัด

รายละเอียด	ปริมาณ
น้ำหนักใบสด	2.0 kg
น้ำหนักสารสกัด	97.11 g
%yield ของสารสกัดเทียบกับใบสด	4.86
% แมงจิเฟอรินจากสารสกัด	7.36
%yield ของแมงจิเฟอรินเทียบกับใบสด	0.36
ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด	สีเขียวขี้ม้าหนืด มีกลิ่นใบมะม่วง
pH	4.0
ค่าการละลาย	
- PG	1:1
- Ethanol	1:1
- Methanol	1:1
- Deionized water	1:2

การพิสูจน์เอกลักษณ์

ตารางที่ 4-2 แสดงปริมาณแมงจีเฟอร์ินในสารสกัดที่ 2 อัตราส่วน

ครั้งที่	อัตราส่วน	Retention time	Peak Area	Conc ($\mu\text{g/ml}$)
1	1:10	7.793	13548.7440	223.4859
2		7.766	13606.4408	224.4370
			เฉลี่ย	223.9614
1	1:100	7.7893	1646.5248	26.7290
2		7.896	1660.1136	26.9536
			เฉลี่ย	26.8413

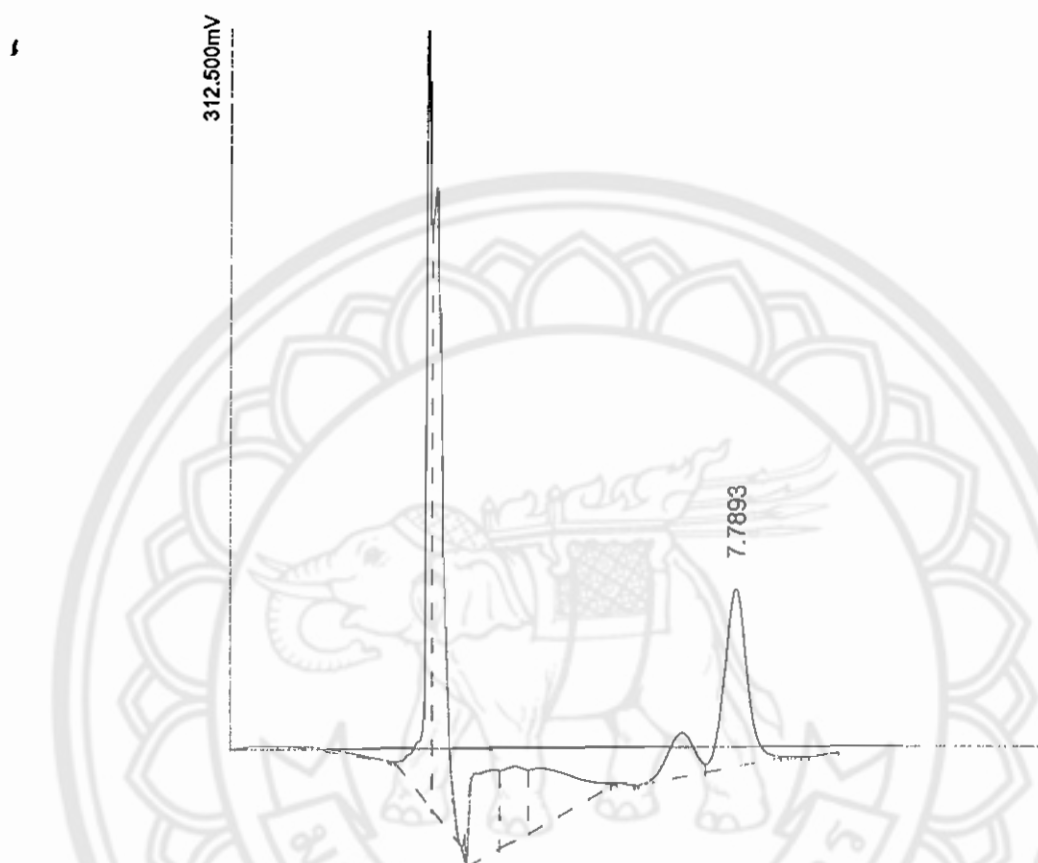
**หมายเหตุ ชั่งสารมา 0.9076 g

เนื่องจากแมงจีเฟอร์ินที่อัตราส่วน 1:100 และ standard mangiferin ที่มีความเข้มข้น $25 \mu\text{g/ml}$ ให้ peak area ประมาณ 1600 ดังนั้นจึงใช้วิธีการพิสูจน์เอกลักษณ์แบบ spike โดยนำสารทั้งสองชนิดมาผสมกันด้วยอัตราส่วนอย่างละ 1:2 หลังจากนั้นนำไปวัด peak area สารผสมด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 4-3 แสดงค่า peak area ของสารผสมระหว่างสารสกัดที่อัตราส่วน 1:100 และ standard mangiferin ความเข้มข้น $25 \mu\text{g/ml}$ ได้ค่า retention time ประมาณนาทีที่ 8 เช่นเดียวกับ standard mangiferin

ฉีดครั้งที่	Retention time (minutes)	Peak area	Conc($\mu\text{g/ml}$)
1	7.826	1896.9871	30.87
2	7.790	1904.3285	30.99

รูปที่ 4-1 แสดงโครมาโตแกรมของสารแมงจีเฟอรินเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยสารแมงจีเฟอรินมี Retention time ที่น่าที่ที่ 8



จากโครมาโตแกรมพบว่าสารแมงจีเฟอรินมีค่า retention time เท่ากับ 7.7893 มี peak area เท่ากับ 1646.5248 เมื่อนำค่าที่ได้ไปคำนวณพบว่ามีความเข้มข้นของสารแมงจีเฟอรินเท่ากับ 26.9536 $\mu\text{g/ml}$

หมายเหตุ	สารที่วิเคราะห์	: แมงจีเฟอริน
	Column	: Alltech C18
	Mobile phase	: Acetonitrile : H_2O : Phosphoric acid = 15 : 84 : 1
	Flow rate	: 1.0 ml/min
	Injection	: 20 μl

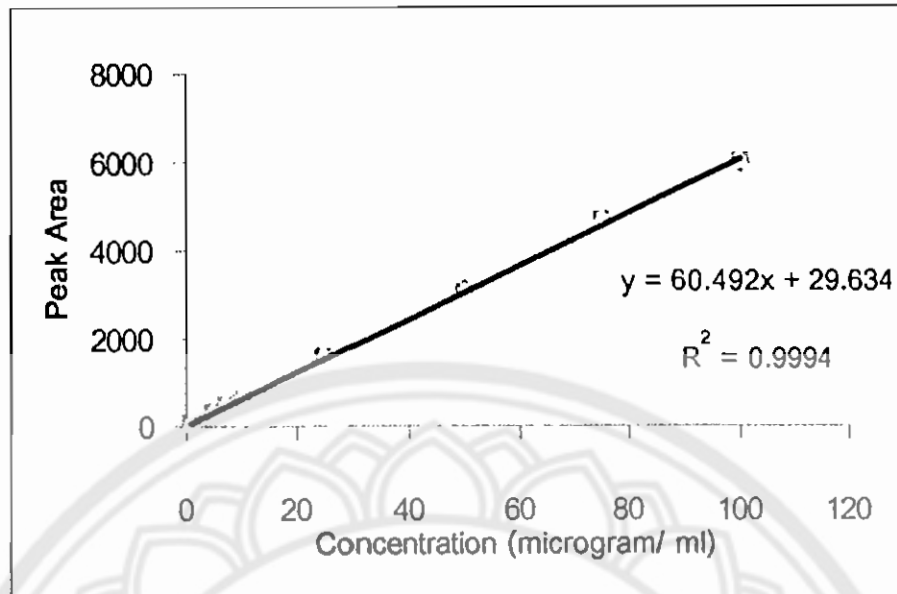
% Recovery ของแมงจีเฟอรินที่เวลาเริ่มต้น

ตารางที่ 4-4 แสดงปริมาณแมงจีเฟอรินที่เวลาเริ่มต้นของ mangiferin standard cream โดยคิดปริมาณสารแมงจีเฟอรินที่สกัดได้จากเนื้อครีมเทียบกับปริมาณสารแมงจีเฟอรินเริ่มต้นที่ใส่ลงไปในตัวรับยาครีม

ตัวรับ	วัดครั้งที่	ชั่งครีมมา (g)	Peak Area	Conc ($\mu\text{g/ml}$)	%Recovery
Rx2	1	1.0321	1120.083	18.024	86.89
	2	1.0294	1096.4318	17.6353	85.23
	3	1.0418	1184.9823	19.0992	91.21
	เฉลี่ย				88.22
Rx3	1	1.0397	1176.6553	18.9615	90.73
	2	1.047	1089.4816	17.5204	84.60
	3	1.0303	1179.9102	19.0003	91.75
	เฉลี่ย				89.03
Rx4	1	1.0404	1130.1281	18.1924	86.99
	2	1.0408	1160.4108	18.6930	89.35
	3	1.0587	1197.0986	19.2995	90.75
	เฉลี่ย				89.03

การเตรียม Standard curve

เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดใบมะม่วงและค่า peak area ของสารมาตรฐานแมงจีเฟอรินในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0-100 $\mu\text{g/ml}$ ให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4-5 และเมื่อนำมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดใบมะม่วงกับค่า peak area ของสารแมงจีเฟอรินเป็นเส้นตรงตาม Beer's law โดยมีค่า $R^2 = 0.9994$, slope = 60.492 และค่า Y-intercept = +29.635 ดังแสดงในรูปที่ 4-1



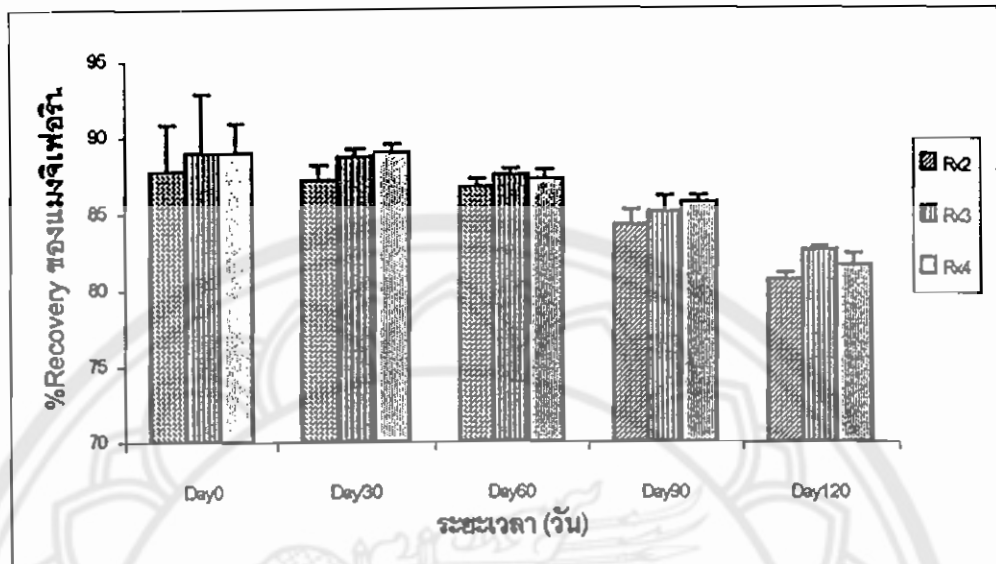
รูปที่ 4-2 แสดง standard curve ของแวนิลลีน

ผลการศึกษาความคงตัวทางกายภาพ

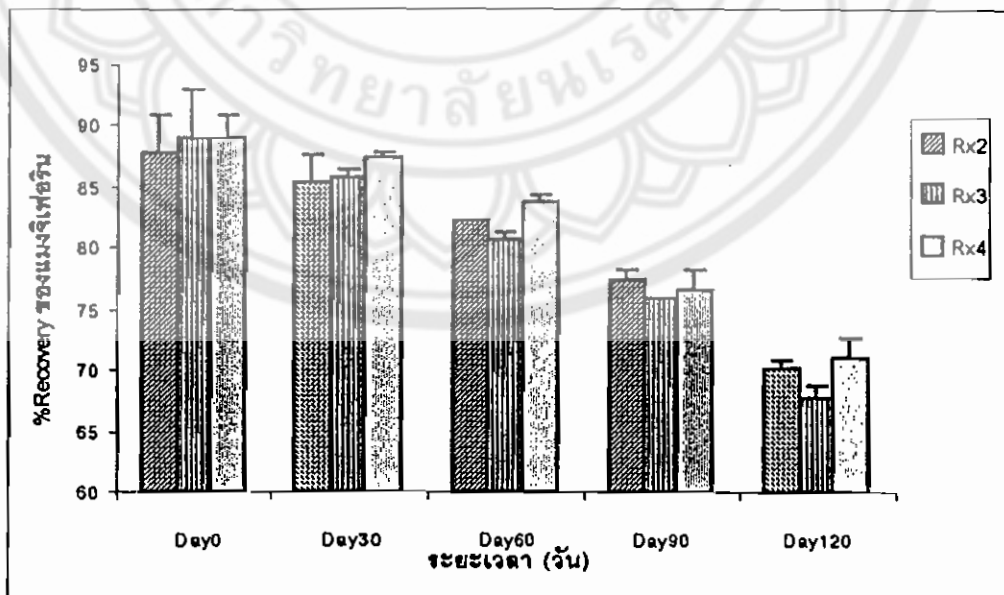
ในการศึกษาพัฒนาตำรับครีมแวนิลลีนจากสารสกัดใบมะม่วงและผลความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของตำรับแบบระยะยาวเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าทั้งชนิดของสูตรตำรับและระยะเวลามีผลต่อความคงตัวของตำรับครีมแวนิลลีนจากสารสกัดใบมะม่วง โดยตำรับครีมสารสกัดที่มีสารต้านออกซิเดชัน 2 ชนิด คือ Butylated Hydroxyanisole (BHA) และ Sodium Metabisulfite จะเกิดการแยกชั้นใน Cycle ที่ 4 หลังเข้าสภาวะแรงฟริชทอร์ และที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 45°C เมื่อเวลาผ่านไป 2 และ 1 เดือน ตามลำดับ ส่วนคุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆ ของทุกตำรับพบว่าการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก

ผลการศึกษาความคงตัวทางเคมี

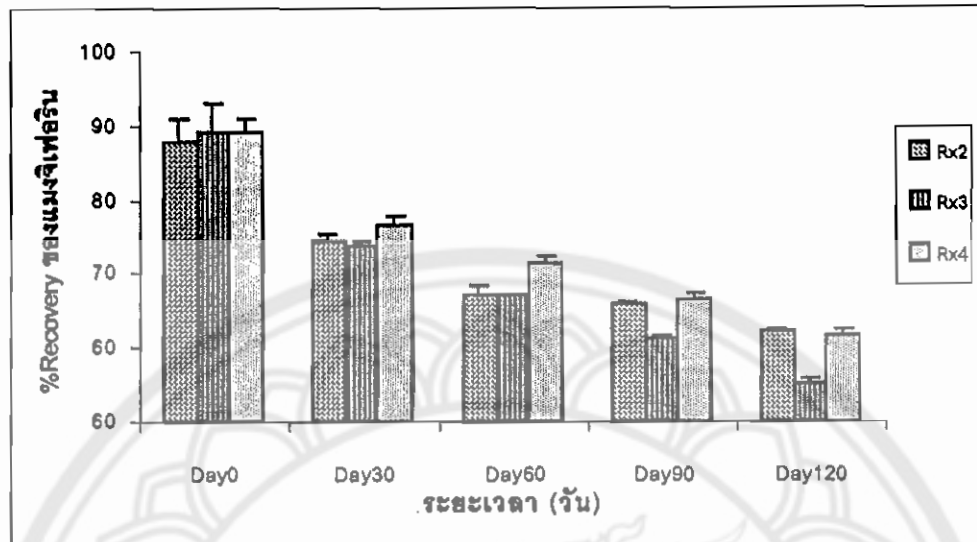
ผลการศึกษาความคงตัวทางเคมีของทุกตำรับ พบว่าปริมาณแวนิลลีนมีแนวโน้มลดลงในทุกสภาวะที่ทำการทดสอบ โดยพบว่าตำรับที่คงตัวมากที่สุด คือ ตำรับสารสกัดจากใบมะม่วงที่ไม่มีสารต้านออกซิเดชัน โดยที่ตำรับดังกล่าวมีการเสื่อมสลายอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -22°C (ดังแสดงในรูปที่ 4-2), อุณหภูมิห้อง (ดังแสดงในรูปที่ 4-3) และอุณหภูมิ 45°C (ดังแสดงในรูปที่ 4-4) เป็นเวลา 4, 3 และ 1 เดือนตามลำดับ ส่วนตำรับที่มีสารต้านออกซิเดชันทั้ง 2 ตำรับจะมีการเสื่อมสลายอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาเพียง 2 เดือน และที่ Cycle 7 หลังเข้าสภาวะแรงฟริชทอร์พบว่าตำรับครีมสารสกัดที่ไม่มีสารต้านออกซิเดชัน และตำรับครีมที่เติม BHA มีความไม่คงตัวอย่างมีนัยสำคัญ (ดังแสดงในรูปที่ 4-6)



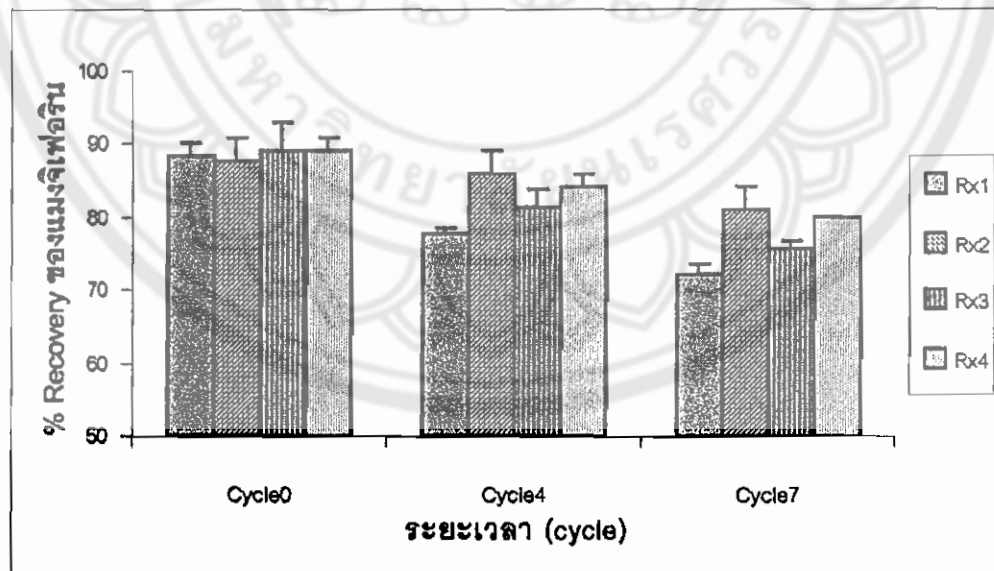
รูปที่ 4-3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของปริมาณสารแป้งในกล้ามเนื้อที่เหลือยู่ในตัวรับและระยะเวลา (วัน) ที่อุณหภูมิ -22°C



รูปที่ 4-4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของปริมาณสารแป้งในกล้ามเนื้อที่เหลือยู่ในตัวรับและระยะเวลา (วัน) ที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 4-5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของปริมาณสารแมงกานีสฟอสเฟตที่เหลืออยู่ในน้ำกับและระยะเวลา (วัน) ที่อุณหภูมิ 45°C



รูปที่ 4-6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละของปริมาณสารแมงกานีสฟอสเฟตที่เหลืออยู่ในน้ำกับและระยะเวลา (cycle) ที่อุณหภูมิ 45°C

จากผลการทดลองพบว่าการเติมสารต้านออกซิเดชันทั้ง 2 ชนิด ไม่มีผลเพิ่มความคงตัวของสารแมงจิเฟอรินจากสารสกัดใบมะม่วงในรูปแบบยาครีม ซึ่งอาจเกิดจากตำรับยาครีมที่ใส่สารต้านออกซิเดชันทั้ง 2 ตำรับเกิดการแยกชั้นของครีมและสารแมงจิเฟอรินอาจอยู่ในชั้นที่เกิดการแยกออกมา ซึ่งความไม่คงตัวทางกายภาพนี้อาจเกิดได้จากหลายกลไก ได้แก่ Coalescence และ Solvolysis เป็นต้น หรือการเสื่อมสลายของสารแมงจิเฟอรินอาจเกิดจากปฏิกิริยาอื่นๆที่ไม่ใช่ปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้การเตรียมตำรับโดยใช้สารสกัดในรูปสมุนไพรจากใบมะม่วงซึ่งไม่ทราบชนิดและปริมาณของสารที่แน่นอนในสารสกัดจึงทำให้ไม่ทราบกลไกแน่ชัดในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและทางกายภาพของตำรับยาครีมแมงจิเฟอรินจากสารสกัดใบมะม่วงได้รวมทั้งอาจมีผลจากปัจจัยอื่น ได้แก่ วิธีการสกัดสาร วิธีการเก็บ และอุณหภูมิที่เก็บตัวอย่าง เป็นต้น



สำนักหอสมุด
สาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ

18 ก.ค. 2546

4670193

