

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

ผลการวิจัยจากโครงการนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่าการเพิ่มคุณภาพของสารสกัดใบฝรั่งควรกระทำตั้งแต่การควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ในการสกัด ได้แก่ปัจจัยจากขบวนการทำให้แห้ง วิธีการสกัด และอายุของใบฝรั่ง เนื่องจากปัจจัยเหล่านั้นมีผลต่อทั้งปริมาณและฤทธิ์ของสารสกัดที่ได้ ขบวนการทำให้แห้งที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุดคือการตากใบฝรั่งก่อนแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส วิธีการสกัดที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุดและทำได้รวดเร็วที่สุดคือวิธี Sonication extraction และการใช้ Ethanol 95% เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารสกัดหยาบของใบฝรั่งจะได้สารสกัดที่มีปริมาณและฤทธิ์ดีกว่าการใช้ Absolute ethanol เป็นตัวทำละลายในการสกัด ใบฝรั่งที่มีอายุอ่อนให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีที่สุด ใบที่มีอายุปานกลางและอายุแก่มีฤทธิ์ Antioxidant ใกล้เคียงกัน

การเตรียมสารสกัดแยกส่วนเป็นการทำให้ได้สารสกัดที่บริสุทธิ์มากขึ้น จากการเตรียมสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่ง โดยใช้ตัวทำละลายต่างขั้ว เริ่มต้นจากที่มีขั้วน้อยที่สุดไปสู่อะมีขั้วมากที่สุด คือ n-Hexane, Ethyl acetate, n-Butanol, Ethanol, Methanol และ น้ำกลั่น ตามลำดับ สามารถสรุปผลการทดลองได้ว่าสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งที่แยกได้จาก Ethanol และ Methanol ให้ฤทธิ์ Antioxidant สูงกว่าที่ได้จากตัวทำละลายชนิดอื่น การทำ HPLC Finger print ของสารสกัดแยกส่วนจากใบฝรั่งเป็นการควบคุมมาตรฐานของสารสกัด Finger print ของสารสกัดแยกส่วนจากใบฝรั่งที่ได้จาก Ethyl acetate แสดง Quercetin ในปริมาณมากที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดแยกส่วนจาก Butanol, Ethanol และ Methanol ตามลำดับ สารสกัดแยกส่วนจาก Hexane ไม่มี Quercetin ผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าในใบฝรั่งนอกจาก Quercetin แล้ว ยังมีสารออกฤทธิ์ตัวอื่น ๆ อีกหลายชนิดอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกัน ได้แก่ Gallic acid และ Ellagic acid

การศึกษาสมบัติการละลายและพฤติกรรมเมื่อได้รับความร้อน สรุปได้ว่าสารสกัดแยกส่วนของใบฝรั่งมีสมบัติการละลายที่ค่อนข้างแตกต่างจากสารมาตรฐาน Quercetin อีกทั้งมีพฤติกรรมเมื่อได้รับความร้อนที่แตกต่างกัน ผลการทดลองนี้ทำให้พิจารณาสกัดสารบริสุทธิ์ Quercetin ออกจากใบฝรั่งเพื่อใช้ในการพัฒนาเป็นอนุภาคนาโนต่อไป

การพัฒนาอนุภาคนาโนของสารสำคัญจากใบฝรั่งได้พิจารณาใช้โคโคซานเป็นสารช่วยหลักในการก่ออนุภาคนาโน ได้มีการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่ออนุภาคนาโนที่

เตรียมได้ ผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าไคโตซานที่มีความแตกต่างกันในด้าน molecular weight (MW) และ degree of deacetylation (DD) รวมถึงแหล่งที่มา เช่นไคโตซานจากสัตว์ต่างชนิดกัน และขบวนการเตรียมอนุภาคนาโน เช่น ระบบตัวทำละลาย ความเข้มข้นของอัลจินต และลำดับการเติมสารต่าง ๆ ล้วนมีผลต่อสมบัติเคมีกายภาพของอนุภาคนาโนทั้งสิ้น โดยสรุปผลของแต่ละปัจจัยได้ดังต่อไปนี้

ปัจจัยด้านลำดับการเติมสารเพื่อให้เกิดอนุภาคนาโน สรุปได้ว่าการผสมสารละลายอัลจินตเข้ากับสารละลายของสารสำคัญก่อน แล้วจึงเติมสารละลายของ calcium chloride และสารละลายของไคโตซานตามลงไปตามลำดับ จะทำให้ได้อนุภาคนาโนไคโตซานที่มีสมบัติเหมาะสมที่สุด กล่าวคือมีขนาดเล็กและการกระจายขนาดน้อยที่สุด

ปัจจัยด้านไคโตซาน สรุปได้ว่าไคโตซานชนิดโอลิโกเมอร์ที่ได้จากเปลือกกุ้งเป็นชนิดที่เหมาะสมที่สุด ไคโตซานที่มี MW ต่ำ สามารถเตรียมอนุภาคนาโนได้ดีกว่าที่มี MW สูง โดยจะให้อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าแต่มีประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญได้มากกว่า นอกจากนั้นไคโตซานที่มี DD ต่ำจะให้อนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กกว่า แต่มีประสิทธิภาพการกักเก็บน้อยกว่าไคโตซานที่มี DD สูง แต่ทั้ง MW และ DD ของไคโตซานไม่มีผลต่อ zeta potential ของอนุภาคที่เตรียมได้ นอกจากนั้นการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ จะทำให้ขนาดและการกระจายขนาดอนุภาคเพิ่มขึ้นแต่ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญลดลง การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้เห็นชัดเจนในไคโตซานที่มี DD ต่ำมากกว่าไคโตซานที่มี DD สูง

ปัจจัยด้านระบบตัวทำละลายสารสำคัญ สามารถสรุปได้ว่าระบบตัวทำละลายมีผลต่อขนาด และการกระจายขนาดของอนุภาค รวมทั้งประสิทธิภาพในการกักเก็บสารสำคัญ แต่ไม่มีผลต่อ zeta potential ของอนุภาค ระบบตัวทำละลายที่ให้ผลดีที่สุดในการกักเก็บสารสำคัญคือระบบ water-PEG โดยที่ระบบนี้เป็นระบบที่ให้อนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กที่สุดและมีการกระจายขนาดน้อยที่สุดที่ยังคงให้ประสิทธิภาพการกักเก็บมากที่สุด

ปัจจัยด้านความเข้มข้นของอัลจินต สามารถสรุปได้ว่าอัลจินตมีผลต่อ zeta potential ของอนุภาคที่เตรียมได้ เมื่อปริมาณอัลจินตเพิ่มขึ้นจะทำให้ zeta potential ของอนุภาคเป็นลบมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งจะมีผลทำให้อนุภาคนาโนมีโอกาสเกิด aggregation น้อยลง สามารถแขวนลอยตัวได้นานขึ้น และมีความคงสภาพดีขึ้น ผลของอัลจินตต่อขนาดและประสิทธิภาพการกักเก็บของอนุภาคต้องพิจารณาร่วมกับปัจจัยอื่น ๆ เช่นความเข้มข้นของสารสำคัญและระบบตัวทำละลาย เป็นต้น

การศึกษาด้านการปลดปล่อยสารสำคัญ สามารถสรุปได้ว่าอนุภาคนาโนไคโตซานสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้ในระดับที่แตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ MW และ DD รวมทั้ง

สมบัติการละลายของไคโตซาน ไคโตซานที่มี DD ต่ำ จะปลดปล่อยสารสำคัญช้ากว่าที่มี DD สูง และไคโตซานที่มี MW ต่ำ จะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้เร็วกว่าที่มี MW สูง นอกจากนั้นผลการทดลองนี้ยังสรุปได้อีกว่า อนุภาคนาโนของอนุพันธ์ของไคโตซานที่มีสมบัติละลายน้ำได้ดีกว่าจะสามารถปลดปล่อยสารสำคัญได้มากกว่า

การศึกษาด้านความคงตัว สามารถสรุปได้ว่าอนุภาคนาโนที่เตรียมได้มีความคงสภาพทางเคมีกายภาพดี และสามารถรักษาความคงตัวของสารสำคัญไว้ได้ดีในระดับหนึ่ง สารสำคัญที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนมีการสลายตัวอย่างรวดเร็วและเป็นแบบ First order kinetic degradation อนุภาคนาโนไคโตซานสามารถเพิ่มความคงตัวให้สารสำคัญได้โดยการกักเก็บสารสำคัญไว้ภายในอนุภาค การสลายตัวของสารสำคัญที่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนไคโตซานยังคงเป็นแบบ First order kinetic degradation แต่มี Degradation rate constant ต่ำกว่าที่ไม่ถูกกักเก็บในอนุภาคนาโนอย่างมีนัยสำคัญ

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่า โครงการวิจัยนี้สามารถเพิ่มคุณภาพและสร้างมาตรฐานให้สารสกัดใบฝรั่ง HPLC finger print ที่สร้างขึ้นมาสามารถใช้เป็นตัวควบคุมมาตรฐานของสารสกัดได้เป็นอย่างดี และสามารถเพิ่มความคงสภาพสารสำคัญของใบฝรั่งด้วยหลักการของนาโนเทคโนโลยี นอกจากนั้นการที่โครงการสามารถนำไคโตซานจากเปลือกกุ้งซึ่งเป็นของเหลือใช้และผลิตในประเทศมาเป็นสารช่วยให้เกิดอนุภาคนาโนกักเก็บสารสำคัญของใบฝรั่งได้สำเร็จ จึงสามารถสรุปได้ว่าโครงการนี้เป็นโครงการที่นอกจากจะแสดงถึงความสามารถในการเพิ่มคุณภาพและมาตรฐานให้กับสมุนไพรไทยแล้ว ยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับกากของเหลือใช้ในประเทศได้อีกด้วย ซึ่งเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของโครงการที่ตั้งไว้ทุกประการ

