Published Online: 24 JUL 2023

ปริมาณสารพฤกษเคมี การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย จากสารสกัดใบมังคุด

Phytochemical content, antioxidant and anti-bacteria activities from mangosteen leaves

เมธาวี จีนพันธ์

อีเมล: 6251701282@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. ถวนันท์ ศรีพิสุทธิ์

อีเมล: tawanun.sri@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดใบมังคุด โดยศึกษาสารสกัดด้วยวิธีการแช่ใน 50% เอทานอล 70% เอทานอล และไดคลอโรมีเทนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตลอดจนวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนินและซาโปนินรวม อีกทั้งยังมีการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP รวมไปถึงการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterum acnes* พบว่าการสกัดใบมังคุดด้วยเอทานอลแสดงร้อยละผลผลิตสูงกว่าการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลยังคงให้ผลปริมาณสารพฤกษเคมีสูงและแสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยการหาค่าความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดจากใบมังคุดด้วยไดคลอโรมีเทนแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่าสารสกัดจากเอทานอล

คำสำคัญ: ใบมังคุด, ปริมาณสารพฤกษเคมี, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

Abstract

The objective of this research was to prepare the extract of mangosteen leaves by maceration with 50% ethanol, 70% ethanol, and dichloromethane for 24 hours. Furthermore, the phytochemical content including phenolic, flavonoid, tannin, and saponin compounds were evaluated. Antioxidant activity was also assessed by DPPH, ABTS, and FRAP assays. Additionally, the anti-bacterial activity of these extracts against *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* and *Cutibacterum acnes* was studied. The ethanol extract of mangosteen leaves revealed a higher extractive yield than dichloromethane extract, which corresponded to phytochemical content and antioxidant activity. However, the dichloromethane extract demonstrated stronger antibacterial activity, as evidenced by the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC), compared to the ethanol extract of mangosteen leaves.

Keywords: Mangosteen leaves, Phytochemical content, Antioxidant activity, Anti-bacteria activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล

จากการเก็บเกี่ยวผลมังคุดในทุกๆปี เกษตรจะต้องเตรียมต้นมังคุดเพื่อให้พร้อมสำหรับการออกดอก โดยวิธีการตัดแต่งกิ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญอย่างมากขั้นตอนหนึ่งในการเตรียมต้นมังคุด เพื่อลดการบังแสงในต้นเดียวกันและต่างต้น เพื่อให้ใบมังคุดได้รับแสงในปริมาณที่เพียงพอสำหรับการสังเคราะห์แสง ช่วยให้อากาศถ่ายเทได้ดีเป็นผลช่วยลดการเกิดเนื้อแก้วยางไหลในผลผลิตในสภาวะที่มีความชื้น หลังจากการตัดแต่งกิ่งจึงมีใบมังคุดที่ไม่เป็นที่ต้องการของเกษตรกรจำนวนมาก การนำใบมังคุดไปใช้ประโยชน์เป็นอีกช่องทางหนึ่งที่ช่วยลดสิ่งเหลือใช้และเพิ่มมูลค่าสิ่งเหลือใช้ทางการเกษตร (วันทนา บัวทรัพย์, 2551) จากรายงานการวิจัยสารสกัดจากเปลือกผล เปลือกไม้ แก่นไม้ และใบมังคุด พบว่ามีสารประกอบกลุ่มหลักคือ สารกลุ่มแซนโทน (Xanthone) ได้แก่ สารแมงโกสติน (Mangostin) และอนุพันธ์ของแมงโกสตินที่มีฤทธิ์ช่วยลดการอักเสบและต้านเชื้อ *Cutibacterum acnes* และ *Staphylococcus epidermidis* นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Chomnawang et al. (2007) พบว่าสารสกัดจากเปลือก ใบ เปลือกไม้มังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล ส่วนเปลือกมีสารแซนโทนจำนวนมากโดยเฉพาะสารแอลฟาแมงโกสติน (α-Mangostin) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี (Palakawong et al., 2010) และสารที่พบมาก

ที่สุดในใบมังคุดคือ สารแมงโกสติน (Mangostin) ดามมาร์ (Dammar) เรซิน (Resin) แทนนิน (Tannin) ไตรเทอร์พีนอยด์ (Triterpenoid) และเทอร์เพนทีน (Turpentine) นอกจากนี้ใบมังคุดประกอบไปด้วยอนุพันธ์แซนโทนกลุ่ม Isoprenylated xanthones ที่สำคัญ 3 ชนิดได้แก่ 1,6-dihydroxy-3-methoxy-2 (3 - methyl- 2 - butenyl) xanthone, 1 ,5 ,8 - trihydroxy- 3 - methoxy- 2 (3 - methyl- 2 - butenyl)xanthone และ gartanin ยิ่งกว่านั้นมีรายงานว่าสารสกัดใบมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลประกอบไปด้วยสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แทนนิน (Tannins) แอลคาลอยด์ (Alkaloids) และซาโปนิน (Saponins) ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบคือ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ (Suhartati et al., 2019)

จากงานวิจัยที่กล่าวมาผู้วิจัยสนใจศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวทำละลายกับปริมาณสารพฤษเคมีและฤทธิ์ทางเครื่องสำอางจากใบมังคุด ดังนั้นงานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดใบมังคุด เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเลือกใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอางและเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับใบมังคุด

ระเบียบวิธีวิจัย

1. เตรียมสารสกัดจากใบมังคุด ตากแห้งใบมังคุดในที่อากาศถ่ายเทได้สะดวกและบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำผงใบมังคุดจำนวน 500 g มาสกัดด้วยวิธีการแช่ (Maceration) โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันด้วย 50% เอทานอล 70% เอทานอล และไดคลอโรมีเทน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatmann paper no. 1) นำสารที่สกัดได้มากำจัดตัวทำละลายด้วย Rotary evaporator ที่ 40°C เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบซึ่งได้จากการสกัดตัวทำละลายแตกต่างกัน จากนั้นนำสารสกัดแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C (Diniatik et al., 2018)

2. วิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีจากสารสกัดใบมังคุด

2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เมื่อเตรียมสารละลายตัวอย่างในความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวม 6000 µL ผสมกับ Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 500 µL เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 เข้มข้น 20% (w/v) ปริมาตร 1500 µL และเติมน้ำกลั่น 2000 µL ตามลำดับ หลังจากนั้นเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 nm โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการกราฟมาตรฐาน Gallic acid (Obeng et al., 2020)

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบสารฟลาโวนอยด์รวม เตรียมสารละลายตัวอย่างในความเข้มข้นที่ต้องการแล้วเติมน้ำกลั่น 3300 µL จากนั้นปิเปตสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) เข้มข้น 5% (w/v) 150 µL เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มไว้ 5 นาที แล้วเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์

($AlCl_3$) เข้มข้น 10% (w/v) 150 µL เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มไว้ 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ 1000 µL เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 10 วินาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการกราฟมาตรฐาน Quercetin (Obeng et al., 2020)

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินรวม เตรียมสารละลายตัวอย่างในความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว แล้วเติมเอทานอลเพื่อปรับปริมาตรแต่ละหลอดเป็น 200 µL จากนั้นเติมน้ำกลั่น 2500 µL ผสมกับ Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 200 µL เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 เข้มข้น 7% (w/v) 2000 µL เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาทีในที่มืดแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 nm โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก (ขนิษฐา พันชูกลาง และคณะ, 2563)

2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบซาโปนินรวม เมื่อเตรียมสารละลายตัวอย่างในความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ผสมกับสารละลายเมทานอล เข้มข้น 80% (v/v) จนมีปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 250 µL จากนั้นปิเปตสารละลายวานิลิน 250 µL และปิเปตสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น 72% (v/v) 2500 µL เขย่าให้เข้ากันบ่มไว้ที่ 60 ℃ เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำเย็นเป็นเวลา 3-4 นาที แล้วนำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 544 nm โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการกราฟมาตรฐานไดออสจีนิน (Tiwari et al., 2016)

3. ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบมังคุด

3.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay เมื่อเตรียมสารสกัดตัวอย่างในความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว เติมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 mM ปริมาตร 1 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการกราฟมาตรฐาน Ascobic acid (Brand-Williams et al., 1994)

3.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay เตรียมสารละลาย 2-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS reagent) และเตรียมสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว เติมสารละลาย ABTS 800 µL แล้วนำไปวางไว้ที่ Water bath 30 ℃ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำสารไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการกราฟมาตรฐาน Ascorbic acid (Re et al., 1999)

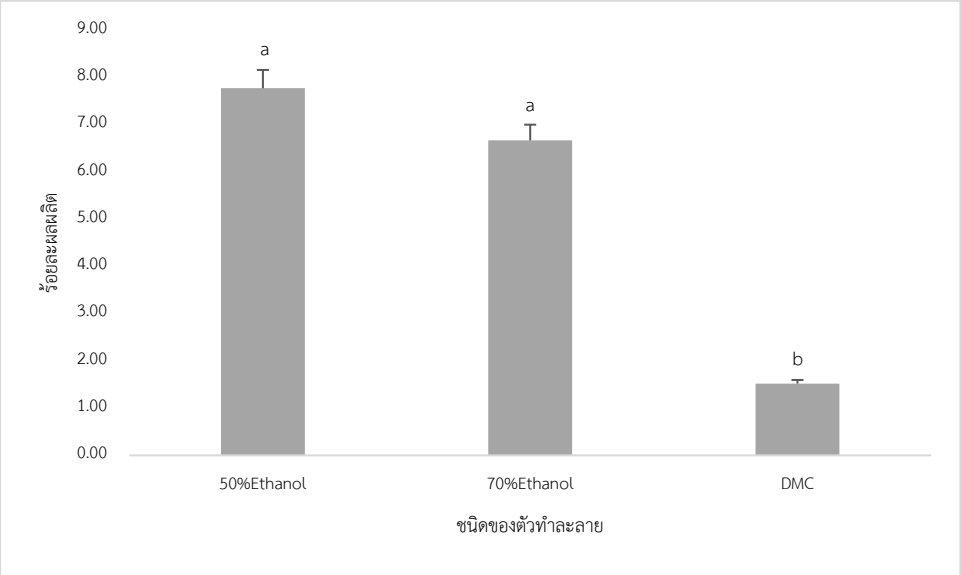
3.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP Assay เตรียมสารละลาย FRAP และเตรียมสารสกัดตัวอย่างที่มีความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว ปิเปต Acetate buffer 70 µL จากนั้นเติมสารละลาย FRAP 3000 µL ในหลอดทดลองที่เติมสารตัวอย่างแล้วบ่มไว้ที่ 37 ºC เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 nm โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการกราฟมาตรฐาน Ascorbic acid (Obeng et al., 2020)

4. ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดใบมังคุด ด้วยการทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) โดยวิธี Broth microdilution นำเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* และ *Cutibacterum acnes* เพาะเลี้ยงบนอาหาร Trypticase soy agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C นาน 24 ชั่วโมง อ่านปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับสารละลายแบเรียมซัลเฟต McFarland no. 0.5 ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้น 0.85% (w/v) แล้วเจือจางต่อให้มีเชื้อประมาณ 1.0 x 10 6 CFU/mL ด้วย MHB เตรียมสารสกัดใบมังคุดให้มีความเข้มข้นที่ต้องการ ด้วยตัวทำละลาย DMSO เข้มข้น 10% (v/v) ใน Microtiter plate แบบ 96 หลุม ให้มีปริมาตรหลุมละ 20 µL ดูด MHB ใส่ลงใน Microtiter plate หลุมละ 80 µL ดูดเชื้อใส่ลงใน แต่ละหลุม หลุมละ 100 µL เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C นาน 16-20 ชั่วโมง อ่านผลบันทึกความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่แบคทีเรียไม่สามารถเติบโตได้เป็นค่า MIC ส่วนการทดสอบหาค่า MBC นำหลุมที่ไม่มีการเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจากการทดสอบหาค่า MIC เพาะเลี้ยงบนอาหาร Mueller Hinton Ager (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{0}C นาน 18-24 ชั่วโมง บันทึกความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้เป็นค่า MBC (กัลยาณี ธรรมติรัตน์ และคณะ, 2560)

ผลวิจัยและอภิปราย

1. ผลการการเตรียมสารสกัดใบมังคุด พบว่าเมื่อสกัดด้วย 50% เอทานอล จะได้เป็นสารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลอมเหลือง และการสกัดด้วย 70% เอทานอล จะได้เป็นสารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้ม ส่วนการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนจะได้เป็นสารสกัดหยาบมีลักษณะเป็นของแข็งสีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ เมื่อพิจารณาร้อยละผลผลิตจากการสกัดโดยใช้ทำละลายเป็น 50% เอทานอล, 70% เอทานอล และไดคลอโรมีเทนพบว่าสารสกัดใบมังคุดมีร้อยละของผลผลิต 7.77±0.12, 6.67±0.82 และ 1.52±0.04 ตามลำดับเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสารสกัดใบมังคุดที่สกัดด้วย 50% เอทานอล และ 70% เอทานอล ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ ซึ่งมีผลร้อยละผลผลิตสูงที่สุดโดยสารที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ ซึ่งมีผลร้อยละผลผลิตน้อยที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 1 สอดคล้องกับการศึกษาของ Assemian และคณะ (2562)

พบว่าเมื่อสกัดใบมังคุดด้วย 80% เอทานอลและไดคลอโรมีเทนสามารถสกัดได้ส่วนสกัดหยาบร้อยละของผลผลิต 26.72 และ 13.12 ตามลำดับ

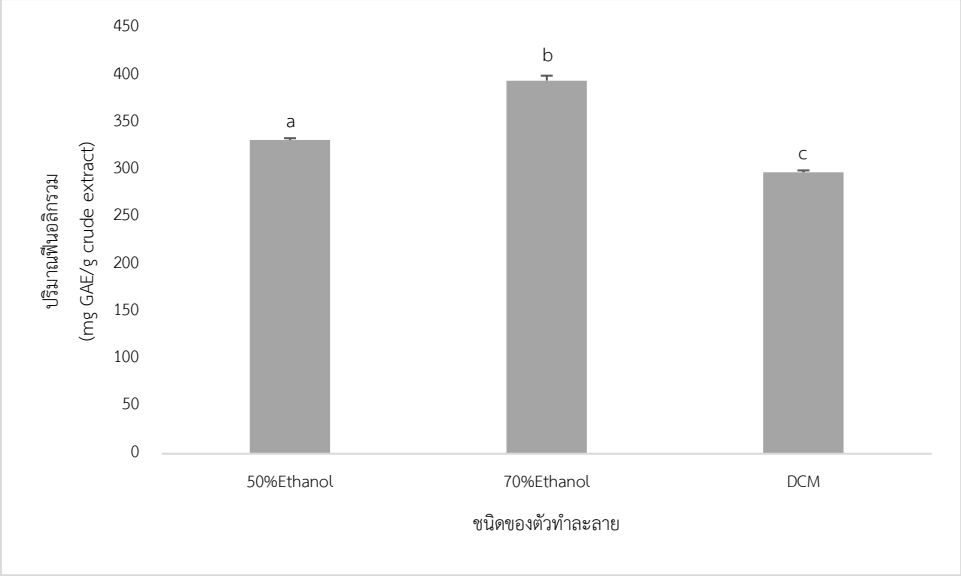


หมายเหตุ. a และ b แสดงถึงสารสกัดใบมังคุดซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

ภาพที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากใบมังคุดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีจากสารสกัดใบมังคุด

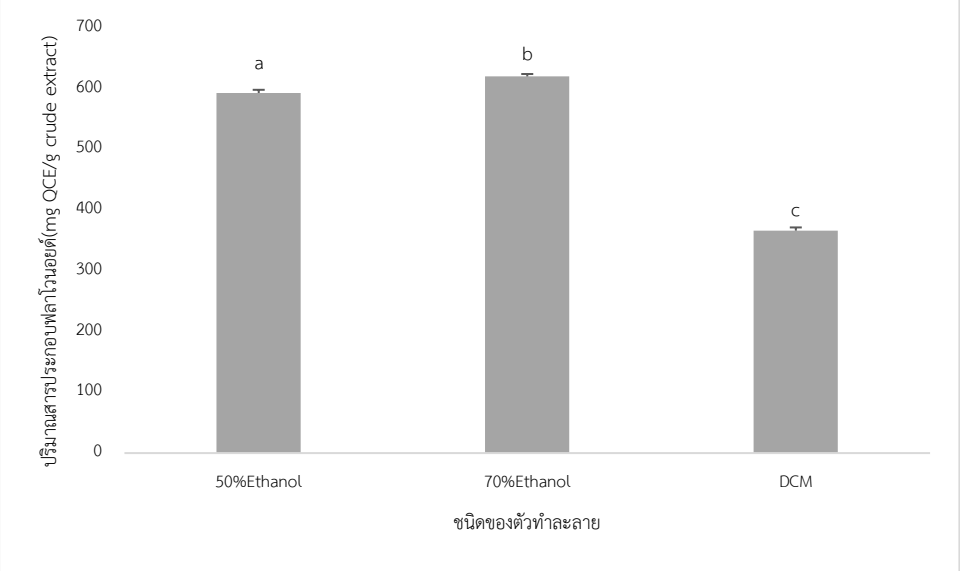
2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากใบมังคุด พบว่าสารสกัดจากใบมังคุดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเมื่อนำกรดแกลลิกมาเตรียมเป็นสารมาตรฐาน สามารถสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อแสดงค่า gallic acid equivalent (GAE) ในหน่วย mg GAE / g crude extract เป็น 331.87±2.00, 394.76±5.29 และ 297.81±2.00 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ โดยสารสกัดใบมังคุดสกัดด้วย 70% เอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกสูงสุด รองลงมาคือสารสกัดใบมังคุดที่สกัด 50% เอทานอล และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2



หมายเหตุ. a-c แสดงถึงสารสกัดใบมังคุดซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

ภาพที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดใบมังคุด

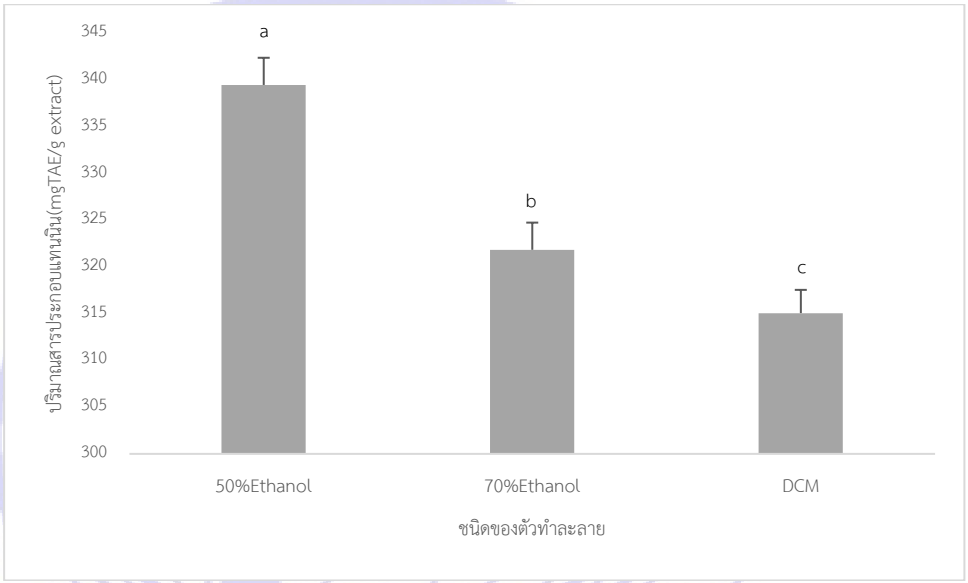
2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากใบมังคุด พบว่าสารสกัดจากใบมังคุดมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคอร์ซิติน 592.69±5.27, 619.91±4.02 และ 366.15±5.27 mg QCE/g crude extract ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ โดยสารสกัดใบมังคุดสกัดด้วย 70% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด รองลงมาคือสารสกัดใบมังคุงที่สกัดด้วย 50% เอทานอล และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 3



หมายเหตุ. a-c แสดงถึงสารสกัดใบมังคุดซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

ภาพที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดใบมังคุด

2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินของสารสกัดจากใบมังคุด พบว่าสารสกัดจากใบมังคุดมีปริมาณสารประกอบแทนนินรวมเมื่อนำกรดแทนนิกมาเตรียมเป็นสารมาตรฐาน พบสารสกัดจากใบมังคุดมีปริมาณแทนนินรวม 339.50±2.91, 321.85±2.91 และ 315.07±2.49 mgTAE/g extract ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณแทนนินรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ โดยสารสกัดใบมังคุดสกัดด้วย 50% เอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือสารสกัดใบมังคุงที่สกัดด้วย 70% เอทานอล และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4

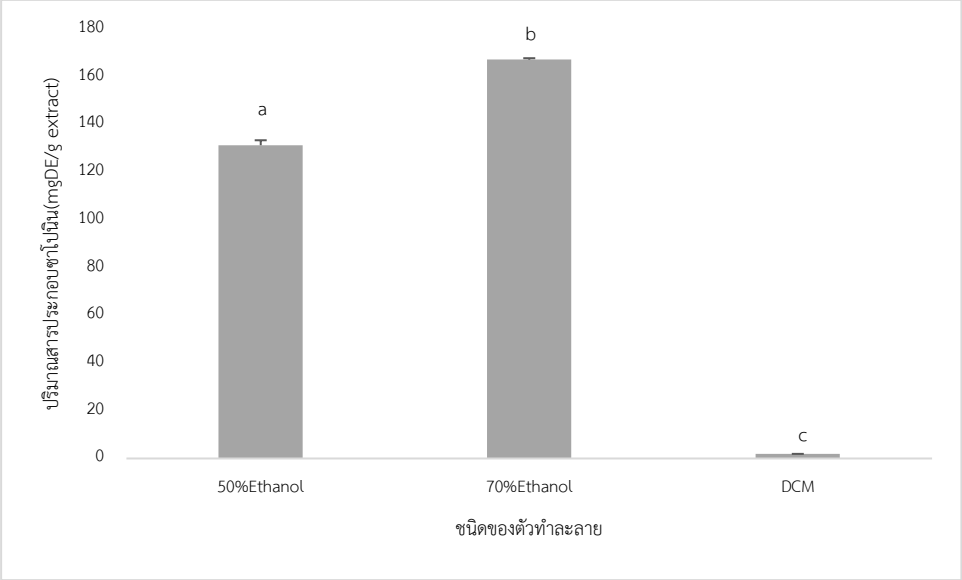


หมายเหตุ. a-c แสดงถึงสารสกัดใบมังคุดซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

ภาพที่ 4 ปริมาณสารประกอบแทนนินของสารสกัดใบมังคุด

2.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบซาโปนิน พบว่าสารสกัดจากใบมังคุดมีปริมาณสารประกอบซาโปนิน 131.36±2.08, 167.27±0.58 และ 1.92±0.02 mgDE/g extract ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสารสกัดจากใบมังคุดมีปริมาณสารประกอบซาโปนินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมัน $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดทั้งหมดแล้ว พบว่าสารสกัดจากใบมังคุดที่สกัดด้วย 70% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบซาโปนินสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดใบมังคุดที่สกัดด้วย 50% เอทานอล และไดคลอโรมีเทนตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 5 ซึ่งเป็นสารประกอบ

กลุ่มเทอร์พีนที่พบได้ในใบมังคุดจากผลการทดลองของ Parveen และคณะ (2534) พบไตรเทอร์พีนจากสารสกัดใบมังคุดคือ 3β-hydroxy-26-nor-9,19-cyclolanost-23-en-25-one



หมายเหตุ. a-c แสดงถึงสารสกัดใบมังคุดซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

ภาพที่ 5 ปริมาณสารประกอบซาโปนินของสารสกัดใบมังคุด

3. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมังคุดด้วย 3 วิธี คือ DPPH , ABTS และ FRAP พบว่าสารสกัดใบมังคุดจาก 50% เอทานอล มี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS สูงที่สุด คือ 7.63±1.06 และ 4.71±3.25 mgAE/g extract ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากใบมังคุดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ70% เอทานอล ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ ส่วนสารสกัดจากใบมังคุดที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนมีความแตกต่างกันทางสถิติจากสารสกัดใบมังคุดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ70% เอทานอล ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย FRAP พบว่า สารสกัดใบมังคุดจาก 70% เอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองมา คือ 50% เอทานอล และ ไดคลอโรมีเทน 295.77±3.07, 278.11±3.07 และ 188.63±1.06 mgAE/g extract ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับ Assemian et al. (2019) ซึ่งสกัดใบมังคุดด้วยเอทานอลและไดคลอโรมีเทนพบว่าสารสกัดจากใบมังคุดด้วยเอทานอลมีโพลีฟีนอล (328.78±34.32 mg GAE/g) และฟลาโวนอยด์ (43.60±1.48 mg QE/g) ส่วนสารที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน พบสารทั้งสองชนิดน้อยมาก และศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระพบว่าการสกัดด้วยเอทานอลพบสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์สูงกว่าการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน เนื่องจาก

เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสามารถละลายสารประกอบที่มีขั้วได้ดี ส่วนไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายซึ่งสามารถละลายสารประกอบอินทรีย์ได้ดี

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบมังคุด

สารสกัด	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (mg AEAC /mg extract)		
	DPPH	ABTS	FRAP
50% เอทานอล	7.63±1.06[a]	4.71±3.25[a]	278.11±3.07[a]
70% เอทานอล	7.60±1.06[a]	4.69±5.17[a]	295.77±3.07[b]
ไดคลอโรมีเทน	5.66±1.06[b]	3.70±2.25[b]	188.63±1.06[c]

หมายเหตุ. a-c แสดงถึงสารสกัดใบมังคุดซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกันซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

3.1 จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากใบมังคุด โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน การแปลผลค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบ่งเป็น 5 ระดับ (Hinkle et al., 1998) คือ ค่าความสัมพันธ์ (r) การแปรผล 0.90-1.0 มีความสัมพันธ์ในระดับสูงมาก 0.70-0.90 มีความสัมพันธ์ในระดับสูง 0.50-0.70 มีความสัมพันธ์ในระดับปานกลาง 0.30-0.50 มีความสัมพันธ์ในระดับต่ำ 0.00-0.30 มีความสัมพันธ์ในระดับ ต่ำมาก พบว่าสารพฤกษเคมีจากสารสกัดใบมังคุดมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือ ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และซาโปนิน มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP assay อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p < 0.05$) โดยมีความสัมพันธ์ในระดับสูงมาก ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์ในระดับสูง และปริมาณแทนนินมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบได้ในสารสกัดใบมังคุด โครงสร้างหลักประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกซึ่งแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล โดยมีกลไกต้านอนุมูลอิสระคือเมื่อสารจำพวกฟีนอลจับกับอนุมูลอิสระ ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนทั่วโครงสร้าง (delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดอนุมูลอิสระต่อไป (Pietta., 2000)

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารพฤกษเคมี	ระดับความสัมพันธ์ของปริมาณสารพฤกษเคมีกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ		
	DPPH	ABTS	FRAP
ปริมาณสารฟีนอลิก	0.760	0.757	0.858
ปริมาณสารฟลาโวนอยด์	0.994	0.993	0.998
ปริมาณสารแทนนิน	0.696	0.699	0.567
ปริมาณสารซาโปนิน	0.975	0.975	0.999

4. ผลศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดใบมังคุด โดยการทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *C. acnes* พบว่าสารสกัดจากใบมังคุดที่สกัดจากไดคลอโรมีเทนมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและทำลายเชื้อที่ทดสอบสูงที่สุด รองลงมาคือสารที่สกัดด้วย 70% เอทานอล และ 50% เอทานอล ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบมังคุดจากไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *C. acnes* ได้สูงกว่าสารสกัดด้วยเอทานอล สอดคล้องกับ Pothitira et al. (2010) พบสารกลุ่มแซนโทนซึ่งสกัดจากมังคุดด้วยไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* และ *C. acnes* ได้ดีกว่าสารสกัดมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าไดคลอโรมีเทนสามารถสกัดสารกลุ่มแซนโทนจากมังคุด 46.2% w/w ซึ่งสารกลุ่มแซนโทนที่พบในใบมังคุดที่คาดว่ามีผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอล อาทิ 1,6-dihydroxy-*3*-methoxy-*2*-isopre-nyl-xanthone , 1-hydroxy-6-*acetoxy*-3-methoxy-2-isoprenylxanth-one และ gartanin (Chaverri et al., 2008) และจากผลการทดลองพบว่าค่า MBC สูงกว่าค่า MIC ในช่วงสารสกัดเดียวกัน ซึ่งพบรายงานของ Ehsani et al. (2012) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบและผลของไม้สนพบว่าค่า MBC ของแบคทีเรียแกรมบวกยังคงมีค่าที่สูงกว่า ค่า MIC ในช่วงสารสกัดเดียวกัน และมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเช่นเดียวกับ *S. epidermidis* และ *C. acnes* ซึ่งมีความสามารถในการพัฒนากลายเป็นเชื้อดื้อยาได้ในอัตราที่สูง (Penesyan et al., 2015) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากใบมังคุด

สารสกัด	*S. aureus*		*S. epidermidis*		*C. acnes*	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
50% เอทานอล	256	512	128	512	80	640
70% เอทานอล	128	128	32	128	80	320
ไดคลอโรมีเทน	32	32	16	32	20	320

สรุปผลการวิจัย

การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแทนนิน และสารประกอบซาโปนิน รวมถึงศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบมังคุดด้วยวิธีการสกัดด้วยการแช่ (maceration) โดยใช้ทำละลายเป็น 50% เอทานอล, 70% เอทานอล และไดคลอโรมีเทน พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลให้ร้อยละผลผลิตและปริมาณสารพฤกษเคมีสูงกว่าการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน เช่นเดียวกับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้ผลสอดคล้องกัน และจากการทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* และ *C. acnes* พบว่าสารสกัดจากใบมังคุดจากไดคลอโรมีเทนสามารถสามารถยับยั้งและทำลายเชื้อที่ทดสอบได้ดีที่สุด จากผลการวิจัยสารสกัดใบมังคุดในครั้งนี้แสดงให้เห็นค่าร้อยละผลผลิตและการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีมีความสัมพันธ์กับตัวทำละลายไปในทิศทางเดียวกันยืนยันได้ว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม ส่วนการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียควรใช้สารสกัดจากไดคลอโรมีเทนซึ่งสามารถสกัดสารกลุ่มแซนโทนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดี

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาสภาวะการสกัด การสกัดด้วยตัวทำละลายและปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจมีผลต่อปริมาณของสารพฤกษเคมีที่ได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดสูงขึ้น
2. ควรศึกษาการเพิ่มความคงตัว และควรมีการศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดก่อนนำไปใช้
3. ควรศึกษาการจัดทำตำรับเครื่องสำอางจากสารสกัดใบมังคุด

รายการอ้างอิง

กัลยาณี ธรรมติรัตน์, กิ่งกาญจน์ บันลือพืช และสุรศักดิ์ ลิ้มสุวรรณ. (2560). ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อสิวของสารตำรับยาแผนไทยรักษาสิว THF-AC003. ใน *การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยบัณฑิตศึกษา ระดับ นานาชาติและนานาชาติ* วันที่ 10 มีนาคม 2560. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ขนิษฐา พันชูกลาง และอภิชาติ พันชูกลาง. (2563). ผลของแซนแทนกัมต่อการพัฒนาขนมครกแช่เยือกแข็งทดแทนด้วยแป้งข้าวกล้องสังข์หยด. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี), 12*(23), 1-12.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *Thai Science and Technology Journal*, *21*(3), 275-286.

วันทนา บัวทรัพย์. (2551). *คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร: มังคุด.* กรมส่งเสริมการเกษตร.

Alsultan, Q. M. N., Sijam, K., Rashid, T. S., Ahmad, K. B., & Awla, H. K. (2017). Investigation of Phytochemical Components and Bioautography of *Garcinia mangostana* L. Methanol Leaf Extract. *Journal of Experimental Agriculture International*, 1-7.

Assemian, I. C. C. A., Bouyahya, A., Dakka, N., & Bakri, Y. (2019). *Garcinia Mangostana* Leaf Extracts from Ivory Coast Possess Remarkable Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxicological Properties. *Biomedical and Pharmacology Journal*, *12*(2), 571-578.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology, 28*(1), 25-30.

Chomnawang, M. T., Surassmo, S., Nukoolkarn, V. S., & Gritsanapan, W. (2007). Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation caused by Propionibacterium acnes. *Fitoterapia*, *78*(6), 401-408.

Diniatik, M., Sundhani, E., & Nervita, M. (2018, July). Free Radical Scavenging Activity of Juice and Ethanol Extracts of *Garcinia Mangostana* L. Leaves. In *2018 3rd International Conference on Education, Sports, Arts and Management Engineering (ICESAME 2018)* (pp. 330-333). Atlantis Press.

Ehsani, E., Akbari, K., Teimouri, M., & Khadem, A. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of two Juniperus species essential oils. *Afr J Microbiol Res, 6*(38), 6704-10.

Hinkle, D. E., William, W., & Jurs, S. G. (1998). *Applied statistics for the behavior sciences* (4th ed.). Houghton Mifflin.

Obeng, E., Kpodo, F. M., Tettey, C. O., Essuman, E. K., & Adzinyo, O. A. (2020). Antioxidant, total phenols and proximate constituents of four tropical leafy vegetables. *Scientific African, 7,* Article e00227.

Palakawong, C., Sophanodora, P., Pisuchpen, S., & Phongpaichit, S. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) parts and some essential oils. *Int Food Res J*, *17*(3), 583-589.

Parveen, M., & Khan, N. U. D. (1988). Two xanthones from *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*, *27*(11), 3694-3696.

Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M., & Pérez-Rojas, J. M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and chemical toxicology*, *46*(10), 3227-3239.

Penesyan, A., Gillings, M., & Paulsen, I. T. (2015). Antibiotic discovery: Combatting bacterial resistance in cells and in biofilm communities. *Molecules (Basel, Switzerland), 20*(4), 5286–5298.

Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products, 63,* 1035-1042.

Pothitirat, W., Chomnawang, M. T., Supabphol, R., & Gritsanapan, W. (2010). Free radical scavenging and anti-acne activities of mangosteen fruit rind extracts prepared by different extraction methods. *Pharmaceutical Biology, 48*(2), 182-186.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, *26*(9-10), 1231-1237.

Suhartati, R., Apriyani, F., Virgianti, D. P., & Fathurohman, M. (2019). Antimicrobial activity test of Mangosteen leaves ethanol extract (*Garcinia mangostana* Linn) against Pseudomonas aeruginosa bacteria. *Journal of Physics: Conference Series*, *1179*(1), 012167.

Tiwari, S., Lata, C., Chauhan, P. S., & Nautiyal, C. S. (2016). Pseudomonas putida attunes morphophysiological, biochemical and molecular responses in *Cicer arietinum* L. during drought stress and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry, 99*, 108-117. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.11.001