

ผลของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดผงของใบอ่อนมะม่วง
เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

EFFECTS OF BIOACTIVE COMPOUNDS IN POWDERED EXTRACTS
YOUNG MANGO LEAVES TO DEVELOP DIETARY SUPPLEMENTS

อรวรรณ วงษ์อนันต์¹ วรณิดา ขวัญนอน² ราไพ โกฏสืบ²

อภินันท์ ลิ้มมงคล³ และกาญจนา วงศ์กระจ่าง^{2*}

Orawan Wonganan¹, Wannida Khwannon², Rampai Kodsueb²,

Apinan Limmongkon³ and Kanjana Wongkrajang^{2*}

บทคัดย่อ

ใบมะม่วงมีสารแมงจิเฟอรินเป็นสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณสูงโดยแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาศักยภาพของสารสกัดผงของใบอ่อนมะม่วง 5 สายพันธุ์ เพื่อต่อยอดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโดยเปรียบเทียบผลของพิษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดน้ำสกัดด้วยเทคนิคไมโครเวฟ และทำผงด้วยเทคนิคทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การเตรียมชาใบอ่อนมะม่วง 5 สายพันธุ์ สามารถทำชาได้ 190-360 ซอง/กิโลกรัมของใบอ่อนสด ได้สารสกัดผงสีเหลือง และสีม่วง (เขียวเสวย) โดยพันธุ์เขียวเสวยได้ร้อยละผลผลิตของสารสกัดมากที่สุด ได้ร้อยละ 26 ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง พบว่าสารหลักที่พบ คือ ฟีนอลิก แซนโทน และฟลาโวนอยด์ และได้เทียบผลจากเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปีพบว่ามีความใกล้เคียงกับสารแมงจิเฟอริน นอกจากนี้ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้ง

¹วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม 75000

¹College of Allied Health Sciences, Suan Sunandha Rajabhat University, Muang District, Samut Songkhram Province 75000

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

²Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Muang District, Phitsanulok Province 65000

³คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

³Faculty of Medical Science and Technology, Naresuan University, Muang District, Phitsanulok Province 65000

*corresponding author e-mail: kanjana_w@psru.ac.th

Received: 30 October 2022; Revised: 5 December 2022; Accepted: 10 December 2022

DOI: <https://doi.org/10.14456/lsej.2023.8>

กิจกรรมแอลฟาไกลูโคซิเดสและอะไมเลส พบว่าสายพันธุ์เขียวสวยและน้ำดอกไม้มีฟีนอลิกปริมาณสูง และแสดงฤทธิ์ชีวภาพดีมาก โดยเฉพาะฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส พบว่าสามารถแสดงฤทธิ์ได้ดีกว่าอะคาร์โบส ประมาณ 10 เท่า ($p < 0.05$) ในอนาคตสารสกัดใบอ่อนมะม่วงสามารถต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารสำหรับผู้สูงอายุและผู้ป่วยโรคเบาหวานได้

คำสำคัญ: ใบอ่อนมะม่วง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร สารออกฤทธิ์ แอลฟาไกลูโคซิเดส

Abstract

Mangiferin is a phenolic compound that abundant in mango leaves and endowed with a wide range of bioactivities. This research aimed to study the potential of extracts of 5 varieties of mango in order to develop supplementary products. The young leaves of 5 local varieties of mango were prepared as tea. The extraction was achieved by using the microwave technique and powdered by freeze-drying technique. The phytochemical and biological activities of water extracts were studied. The greatest extract percentage, 26%, was obtained by Khiew Sawoei. The results of thin-layer chromatography, found that the main substance was phenolic compounds, xanthenes and flavonoids. A Comparison of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy technique was found to similar IR spectrum of mangiferin. In addition, the study of total phenolic content, antioxidant activity and inhibition of α -glucosidase and α -amylase found that Khiew Sawoei and Nam Dok Mai showed the highest content of total phenolic compound and outstanding activities especially the inhibitory effect of α -glucosidase which higher than acarbose 10 times ($p < 0.05$). In the future, mango young leaf extract may be created as a dietary supplement for diabetic patients and the elderly.

Keywords: Young mango leaf, Dietary supplement, Bioactive compound, Alpha-glucosidase

บทนำ

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีบทบาทสำคัญต่อการนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์และการดูแลสุขภาพเป็นอย่างมาก เนื่องจากสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักในผลิตภัณฑ์ธรรมชาติสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีส่วนช่วยในการรักษา บำบัด หรือดูแลสุขภาพได้ สารประกอบ เช่น ฟีนอลิก แชนโทน หรือฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มสารสำคัญที่พบได้ใน ผัก ผลไม้ต่าง ๆ (Fraga et al., 2010; Hesham et al., 2020; Panche et al., 2016) มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญเช่น ด้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดส ด้านการอักเสบ เป็นต้น (Kumar et al., 2021; Gua et al., 2019) ดังนั้นการนำผลิตภัณฑ์

ธรรมชาติที่มีสารสำคัญเหล่านี้เป็นองค์ประกอบมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อดูแลสุขภาพจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) จัดอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae เป็นหนึ่งในพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และพบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีของสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลากหลาย โดยเฉพาะใบมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลสูงได้แก่ ฟีนอลิก แชนโทน ฟลาโวนอยด์ เบนโซฟีโนน และแกลโลแทนนิน (Barreto et al., 2008; Matkowski et al., 2013; Berardini et al., 2004; Kanwal et al. 2009; Gua et al., 2019) สารประกอบโพลีฟีนอลสามารถแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพได้ เช่น ต้านเบาหวาน (Samanta et al., 2019; Kulkarni & Rathod, 2018) ต้านมะเร็ง (Kumar et al., 2021) ต้านอนุมูลอิสระ (Kumar et al., 2021) ต้านการอักเสบ (Swaroop et al., 2018) ต้านจุลชีพ (Hannan et al., 2013) โดยสารออกฤทธิ์ของมะม่วง คือ แลงจิเฟอริน ซึ่งพบที่สามารถใช้รักษาโรคเบาหวาน และระบบทางเดินหายใจได้

สารแลงจิเฟอริน (Mangiferin; 1,3,6,7-tetrahydroxy-2-[3,4,5-trihydroxy-6(hydroxymethyl)oxan-2-yl]-9H-xanthen-9-one) เป็นโพลีฟีนอลที่พบในปริมาณมากในใบมะม่วง มีโครงสร้าง C-glycosyl xanthone และมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ต้านภูมิแพ้ ต้านจุลชีพ ช่วยชะลอวัย ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเบาหวาน ลดไขมันในเลือด นอกจากนี้สามารถออกฤทธิ์ต้านภูมิคุ้มกันบกพร่อง (Imran et al., 2017) สารแลงจิเฟอรินสามารถละลายได้ในน้ำจึงเหมาะกับการนำมาทำผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

งานวิจัยนี้ได้สนใจศึกษาศักยภาพของสารสกัดผงของใบอ่อนมะม่วง 5 สายพันธุ์ คือ น้ำดอกไม้ พาลัน เพชรบ้านลาด โชคอนันต์ และเขียวเสวย ซึ่งเป็นพันธุ์มะม่วงที่พบได้ทั่วไปและปลูกมากในประเทศไทย โดยศึกษาข้อมูลของสารออกฤทธิ์ในแต่ละสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน และเลือกสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์มากที่สุด โดยในการศึกษามีการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารสกัด เนื่องจากคำนึงถึงความปลอดภัย และใช้ไมโครเวฟเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดเนื่องจากสารกลุ่มฟีนอลิกและสารแลงจิเฟอรินละลายตัวยากสามารถสกัดด้วยความร้อนได้ และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยมีการตรวจสอบสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี ตรวจสอบปริมาณฟีนอลิก ตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และตรวจสอบฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน (ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดส และแอลฟาอะไมเลส) ในอนาคตมีการต่อยอดโดยเลือกสายพันธุ์ที่ดีที่สุดไปต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในรูปแบบแคปซูล หรือแบบผงที่ทานได้ทันที หรือเป็นผงแบบขง

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

Gallic acid (บริษัท Sigma-Aldrich) 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich) Folin-Ciocalteu's reagent (Loba chemie) วิตามินซี (L-Ascorbic acid, Merck), Mangiferin (แยกจาก ใบมะม่วงตรวจสอด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปี) 4-Nitrophenyl α -D-glucopyranoside (Sigma-Aldrich) อะคาร์โบส (Acarbose, Fluka) เอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase, Sigma Aldrich) p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNP-G, Sigma Aldrich) เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) ตู้อบ (Oven) รุ่น ED/FD บริษัท ไฮแอนติฟิค โปรโมชัน จำกัด เครื่องไมโครเวฟ ยี่ห้อ LG รุ่น MH6024D เครื่อง Microplate Reader รุ่น Spectrostar Nano บริษัท ไฮแอนติฟิค จำกัด เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (Moisture Analyzer) รุ่น HC 103 บริษัท Mettler Toledo เครื่อง Freeze Dry รุ่น Freezone 6 plus ยี่ห้อ Labconco บริษัท เบคไทย กรุงเทพมหานครอุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด

การเตรียมชาใบมะม่วงอ่อนและสารสกัดผง

ตัวอย่างใบอ่อนมะม่วง เก็บช่วงใบที่ 5-9 จากส่วนยอด ดังภาพที่ 1 (Figure 1) ได้จากเกษตรกร ตำบลท่าพล อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ นำมาล้างให้สะอาด หั่นเป็นเส้นบาง ขนาดกว้าง 0.5-1 มิลลิเมตร เพื่อจะได้ไม่มีฝุ่นผงในการกรองกากหลังการสกัด การทำแห้งมีการอบด้วยตู้อบลมร้อนที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้เป็นผงละเอียด นำไปหาค่าความชื้น ด้วยเครื่อง Moisture analyzer จากนั้นบรรจุในซองชา ปริมาณซองละ 1 กรัม และใส่ในซองฟอยล์อีกชั้น เพื่อกันความชื้นและกันแสง เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การเตรียมสารสกัดผงชาใบอ่อน มะม่วง 5 สายพันธุ์ โดยเลือกตัวทำละลายเป็นน้ำ สัดส่วนของชาต่อน้ำ 1 ชอง : 50 มิลลิลิตร สกัดด้วย เทคนิคไมโครเวฟ 350 วัตต์ 4 นาที (ประมาณ 85-90 องศาเซลเซียส) และแช่ต่ออีก 10 นาที ได้สารสกัดน้ำ นำไปทำผงด้วยเทคนิคทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เก็บผงสารสกัดชาใบอ่อนมะม่วงในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



Figure 1 Young leaves of 5 varieties of mango

A) Nam Dok Mai (NDM) B) Fa Lan (FL) C) Petch Ban Lat (PBL)
D) Chok Anan (CHAN) E) Khiew Sawoei (KSW)

การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วงด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง

การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง เตรียมสารละลายของตัวอย่างสารสกัดใบอ่อนมะม่วง 5 ตัวอย่าง น้ำหนัก 0.4 มิลลิกรัม ละลายด้วยเมทานอล 50 ไมโครลิตร แผ่น TLC สำเร็จ ตัดขนาด 6.5 x 6.5 เซนติเมตร และเตรียมตัวทำละลายผสมตามอัตราส่วนที่กำหนด ดังนี้ ethyl acetate : methanol : formic acid : water (5:0.5:0.02:0.1) หยดสารละลายตัวอย่างสารสกัดที่ตำแหน่งที่กำหนดด้วยหลอด capillary และตรวจสอบผลด้วยแสง UV 254 และ 366 นาโนเมตร และตรวจสอบกลุ่มสารด้วย Anisaldehyde reagent และ Folin-Ciocalteu reagent

การตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม ใช้วิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric assay ดัดแปลงจากวิธีของ Majhenic et al. (2007) เตรียมสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 15.62, 31.25 62.50, 125, 250 และ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น เตรียมสารตัวอย่าง 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ละลายด้วยเอทานอล นำสารตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล 100 ไมโครลิตร และเติม NaOH 0.35 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เทียบกับแบล็ค คำนวณปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานซึ่งเตรียมจากสารละลายกรดแกลลิกในหน่วย mg GAE/g DW

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging และ ABTS radical scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca (Braca et al., 2002) DPPH radical scavenging: ปิเปตสารตัวอย่างจำนวน 20 ไมโครลิตร ผสมในเอทานอล 80 ไมโครลิตรและสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 300 ไมโครโมลาร์จำนวน 100 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 30 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ABTS radical scavenging: ปิเปตสารตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมในเอทานอลจำนวน 80 ไมโครลิตร และสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 0.36 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าและบ่มในที่มืด 30 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader การวิเคราะห์ผลโดยการคำนวณร้อยละการยับยั้ง จากสูตร % inhibition = $\frac{[A-B]}{A} \times 100$, A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

การตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและแอลฟาอะไมเลสของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสด้วยวิธี p-nitrophenol colorimetric method เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Matsui (Matsui et al., 1996) ปีเปตสารตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ผสม sodium phosphate buffer (pH 6.8) 100 ไมโครลิตร และเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (1.0 ยูนิต/มิลลิลิตร) 20 ไมโครลิตร บ่มด้วยอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNP-G) ความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์, 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 1.0 มิลลิโมลาร์, 40 ไมโครลิตร วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสด้วยวิธี 2-chloro-4-nitrophenol colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Gella (Gella et al., 1997) ปีเปตสารตัวอย่าง จำนวน 20 ไมโครลิตร ผสม phosphate buffer (pH 6.8) 100 ไมโครลิตร และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 324 ยูนิต/มิลลิลิตร 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลาย 2-chloro-p-nitrophenyl- α -D-maltotriose (CNPG3) ความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ จำนวน 20 ไมโครลิตร บ่มด้วยอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ จำนวน 40 ไมโครลิตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader การวิเคราะห์ผลโดยการคำนวณร้อยละการยับยั้ง จากสูตร $\% \text{inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$, เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ, B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ และนำผลร้อยละการยับยั้งของสารที่มีความเข้มข้นต่างกัน 5 หรือ 6 ความเข้มข้น ไปหาความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งได้ร้อยละ 50 (IC_{50})

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one way ANOVA) ค่าถูกแสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของ 3 ซ้ำ ของการทดลอง และผลการศึกษาวินิจฉัยทางสถิติระดับ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

ผลการเตรียมชาและสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง

ใบอ่อนมะม่วงสด 5 สายพันธุ์ ดังนี้ น้ำดอกไม้ (NDM) ฟาลัน (FL) เพชรบ้านลาด (PBL) โชคอนันต์ (CHAN) และเขียวเสวย (KSW) นำไปอบได้น้ำหนักในช่วงร้อยละ 19.17 ถึง 36.54 แสดงผลดังตารางที่ 1 (Table 1) โดยจากผลการเตรียมชาของใบอ่อนมะม่วง 5 สายพันธุ์ ได้ปริมาณชาในปริมาณมาก

โดย 3 สายพันธุ์ ที่ให้ผลใกล้เคียงคือ ฟาลัน โขคอนันต์ และเพชรบ้านลาด ผลวัดค่าความชื้นด้วยเครื่อง Moisture analyzer ได้ค่าความชื้นเฉลี่ย ในช่วง 4.76 ± 0.50 ถึง 6.14 ± 0.47 ได้ค่าความชื้นเฉลี่ยไม่เกิน 8% ซึ่งเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ชาสมุนไพร (ฉบับที่ 280 พ.ศ.2547) ทั้งนี้ เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง

Table 1 The number of tea bags obtained from young mango leaves of 5 varieties

Mango varieties	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Number of tea bags / 1 kg fresh young mango leaves
NDM	96.09	18.42	190
FL	49.48	18.08	360
PBL	41.48	14.30	340
CHAN	79.35	25.35	320
KSW	53.35	11.61	210

Remark * Tea 1 gram/sachet

ผลการสกัดชาใบอ่อนมะม่วงด้วยไมโครเวฟ 350 วัตต์ 4 นาที (90 องศาเซลเซียส) แห่ต่ออีก 10 นาที และนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งได้สารสกัดผง (Figure 2) พบว่าพันธุ์เขียวเสวยได้สารสกัดมากที่สุด ลักษณะสารสกัดผงสีเหลือง ยกเว้นพันธุ์เขียวเสวยผงสีม่วง มีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 16.2 ถึง 26.0 แสดงรายละเอียดในตารางที่ 2 (Table 2)

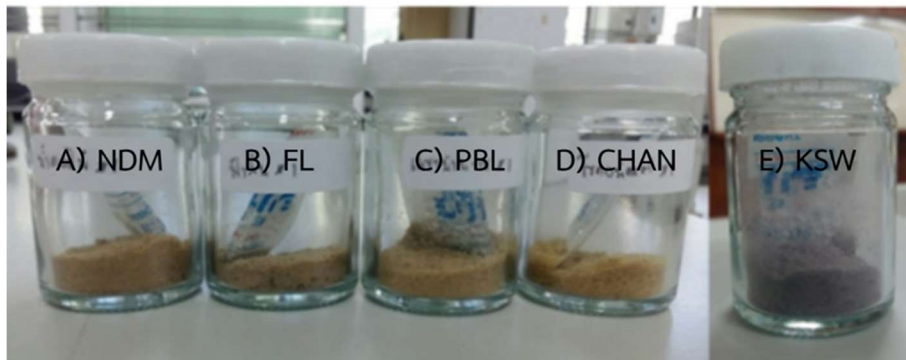


Figure 2 Powder extracts of 5 varieties of mango young leaf tea;

A) Nam Dok Mai (NDM) B) Fa Lan (FL) C) Petch Ban Lat (PBL)
D) Chok Anan (CHAN) E) Khiew Sawoei (KSW)

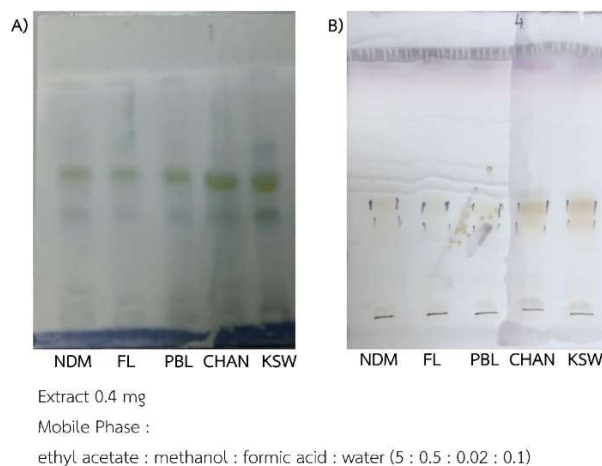
Table 2 Weight of powder extract of 5 varieties of mango young leave tea

Mango young leaves tea	Weight of powder extracts (mg /g DW)*
NDM	238
FL	172
PBL	162
CHAN	182
KSW	260

Remark * Ratio of tea to water (1 sachets: 50 ml) 1 gram per sachet, extracted by microwave 350 watts, 4 minutes, soak for another 10 minutes

การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วงด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบางและเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี

การตรวจสอบสารพิษเคมีในสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วงปริมาณเท่ากันด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบางสามารถตรวจสอบปริมาณและกลุ่มสารเบื้องต้นได้ พบว่า สารสกัด 5 ตัวอย่างมีกลุ่มสารที่เหมือนกันมีปริมาณต่างกันเล็กน้อย สามารถตรวจสอบจากแสง UV มีสารประกอบที่มีระบบคอนจูเกตคาดว่ามีวงอะโรมาติกในโครงสร้างทางเคมี การตรวจสอบด้วย Folin-Ciocalteu's phenol reagent ได้แสดงผลเป็นสีน้ำเงินจัดเป็นสารกลุ่มฟีนอลิก และตรวจสอบ Anisaldehyde reagent ได้แสดงผลเป็นสีเหลืองเข้มจัดเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และหรือแซนโทน ดังภาพที่ 3 (Figure 3) และได้ตรวจสอบผลของหมู่ฟังก์ชัน เช่น -OH วงอะโรมาติก ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (FTIR) พบว่าผลพิกของสารใน FTIR spectrum ของทั้ง 5 สารสกัด มีส่วนที่คล้ายกับสารแมงจีเฟอร์ริน (Kulkarni & Rathod, 2018) คาดว่าสารหลักเป็นสารแมงจีเฟอร์ริน ดังภาพที่ 4 (Figure 4)

**Figure 3** TLC profiling of mango young leave powder extracts;

A) detected by Folin-Ciocalteu's phenol reagent B) detected by Anisaldehyde reagent

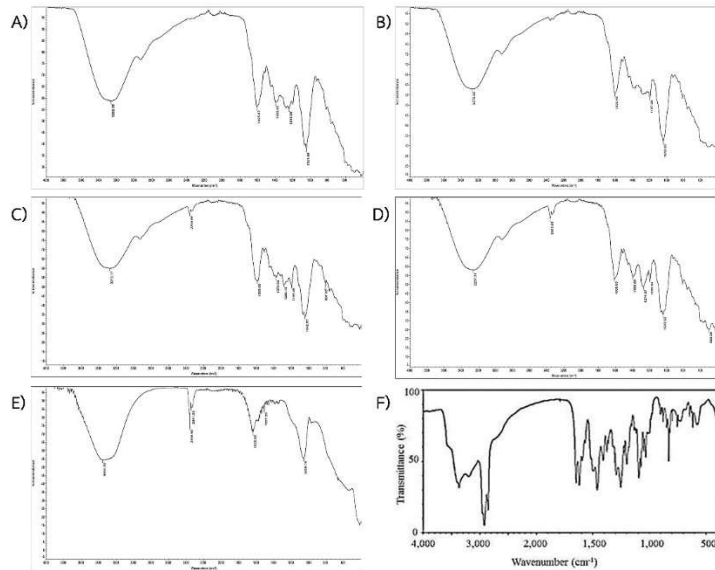


Figure 4 FTIR comparison of extract spectra with Mangiferin;

A) Nam Dok Mai (NDM) B) Fa Lan (FL) C) Petch Ban Lat (PBL)

D) Chok Anan (CHAN) E) Khiew Sawoei (KSW)

F) Mangiferin (Kulkarni and Rathod, 2018)

การตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง

การตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง 5 ตัวอย่าง ผลการทดลองพบว่า มีปริมาณสารอยู่ในช่วง 43-72 mg GAE/g DW พบว่าพันธุ์น้ำดอกไม้และเขียวเสวยมีปริมาณฟีนอลิกรวมในปริมาณมากที่สุดใกล้เคียงกัน โดยใบอ่อนมะม่วงแห้ง 1 กรัม มีปริมาณฟีนอลิกรวม ประมาณ 69-72 มิลลิกรัม แสดงรายละเอียดของผลในตารางที่ 3 (Table 3)

Table 3 Total phenolic content of 5 varieties of mango young leaves powder extracts

Mango young leaves powder extract*	Total phenolic content (mg GAE/g DW)
NDM	72.44±0.03
FL	48.19±0.14
PBL	43.67±0.35
CHAN	53.60±0.12
KSW	69.14±0.32

Remark * Extracted by microwave 4 minutes, 350 W, 90°C, soaked for another 10 minutes

ผลการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง 5 สายพันธุ์ ด้วยเทคนิค DPPH assay และ ABTS assay ผลการทดลองพบว่าสารสกัดพันธุ์เขียวเสวยและน้ำดอกไม้แสดงฤทธิ์ที่ดี โดยเฉพาะพันธุ์เขียวเสวยแสดงฤทธิ์ที่ดีเท่ากับสารแมงกนิเฟอร์ินและโทรลอกซ์ รายละเอียดผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4 (Table 4) ได้มีการทดสอบฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวาน คือ ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ผลการทดลองพบว่าสารสกัดพันธุ์เขียวเสวยและน้ำดอกไม้แสดงฤทธิ์ที่ดี โดยเฉพาะพันธุ์เขียวเสวย แสดงฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่ดีเทียบเท่าสารแมงกนิเฟอร์ินและดีกว่าอะคาร์โบส (ซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน) ประมาณ 10 เท่า เนื่องจาก ค่า IC_{50} เป็นค่าที่แสดงความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งได้ร้อยละ 50 ดังนั้นผลที่แสดงค่า IC_{50} น้อย จึงแสดงฤทธิ์ที่ดี ผลการทดลองดังตารางที่ 5 (Table 5)

Table 4 The results of antioxidant activity of 5 varieties extracts

Mango young leaves powder extracts	IC_{50} (DPPH) ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{50} (ABTS) ($\mu\text{g/ml}$)
NDM	20.81 $\pm$ 0.08	15.33 $\pm$ 0.06
FL	24.46 $\pm$ 0.03	15.96 $\pm$ 0.02
PBL	47.66 $\pm$ 0.08	21.94 $\pm$ 0.08
CHAN	39.44 $\pm$ 0.04	28.09 $\pm$ 0.05
KSW	18.61 $\pm$ 0.09	12.18 $\pm$ 0.06
Mangiferin	18.64 $\pm$ 0.04	-
L-Ascorbic acid	7.74 $\pm$ 0.03	3.87 $\pm$ 0.06
Trolox	8.25 $\pm$ 0.05	15.01 $\pm$ 0.05

Table 5 The results of alpha glucosidase and alpha amylase activities of 5 varieties extracts

Mango young leaves powder extract	IC_{50} (Alpha-glucosidase) (mg/ml)	IC_{50} (Alpha-amylase) (mg/ml)
NDM	0.08 $\pm$ 0.02	3.79 $\pm$ 0.03
FL	0.08 $\pm$ 0.01	5.47 $\pm$ 0.01
PBL	0.31 $\pm$ 0.06	3.43 $\pm$ 0.02
CHAN	0.26 $\pm$ 0.03	4.35 $\pm$ 0.02
KSW	0.07 $\pm$ 0.02	3.84 $\pm$ 0.02
Mangiferin	0.07 $\pm$ 0.06	-
Acarbose	0.81 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01

อภิปรายผล

ผลจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบมะม่วงมีรายงานการพบสารสำคัญ คือ สารแมงจิเฟอริน (Kumar et al., 2021) ซึ่งเป็นสารกลุ่มแซนโทนที่ให้สีเหลือง เมื่อทำปฏิกิริยากับ Anisaldehyde reagent โดยจากผลของเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง และ IR spectrum พบสารกลุ่มนี้มีองค์ประกอบในปริมาณที่ใกล้เคียงกันของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วงทั้ง 5 สายพันธุ์ นอกจากนี้ยังพบสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดซึ่งสอดคล้องกับที่เคยมีรายงานการพบสารประกอบฟีนอลิกในใบมะม่วง (Kumar et al., 2021) จากผลการทดลองพบว่ามะม่วงน้ำดอกไม้และมะม่วงเขียวเสวยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงใกล้เคียงกันคือ 72.44 ± 0.03 และ 69.14 ± 0.32 mg GAE/g DW ตามลำดับ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วงทั้ง 5 สายพันธุ์ ด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าสายพันธุ์น้ำดอกไม้และเขียวเสวย แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ดังตารางที่ 4 (Table 4) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดผงใบอ่อนมะม่วง และเป็นไปตามที่เคยมีรายงานถึงการออกฤทธิ์ของสารประกอบฟีนอลิกต่อการยับยั้งสารอนุมูลอิสระ (Zeb, 2020) การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและอะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในการชะลอการดูดซึมน้ำตาลจากอาหารผ่านลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือด เพื่อช่วยการลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานหลังการรับประทานอาหาร ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดใบอ่อนมะม่วงน้ำดอกไม้และเขียวเสวยได้แสดงฤทธิ์การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและอะไมเลสได้ดีที่สุด ดังตารางที่ 5 (Table 5) สารแมงจิเฟอรินเป็นสารอยู่ในกลุ่มแซนโทนสามารถแยกได้จากใบมะม่วง ซึ่งผลเป็นไปทิศทางเดียวกับข้อมูลที่เคยมีรายงานในสารกลุ่มแซนโทนสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสและอะไมเลสได้ (Santos et al., 2018) ดังนั้นการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์สำคัญทั้ง 2 ชนิดนี้ของสารสกัดใบอ่อนมะม่วงน้ำดอกไม้และเขียวเสวย มีความเป็นไปได้สูงที่เกิดจากผลการออกฤทธิ์ของสารแมงจิเฟอริน โดยสอดคล้องกับผลของสารพฤษเคมีที่ตรวจสอบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง และยืนยันจากผล IR spectrum ของสารสกัดใบอ่อนมะม่วงตรงกับสารแมงจิเฟอริน (Kulkarni & Rathod, 2018) สารสกัดใบอ่อนมะม่วงมีปริมาณสารแซนโทน และสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในปริมาณสูง ส่งผลให้สามารถออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสและอะไมเลสได้ โดยสารสกัดใบอ่อนมะม่วงน้ำดอกไม้และเขียวเสวย สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดีกว่าอะคาร์โบสซึ่งเป็นสารควบคุมเชิงบวก ได้ถึง 10 เท่า จึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างมากในการนำใบอ่อนมะม่วงที่หาได้ง่ายในทุกท้องถิ่นของประเทศไทย มาทำการแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์ด้านสุขภาพเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตทางการเกษตร

สรุปผลการวิจัย

ใบอ่อนมะม่วงอ่อนสามารถนำไปต่อยอดเป็นชาหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีคุณภาพเพื่อสุขภาพที่ดี ลดการทานยาสำหรับผู้สูงอายุ จากผลการทดลองการใช้เทคนิคไมโครเวฟช่วยสกัดทำให้ได้สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สารเมกจิเฟอรินและอนุพันธ์ ในปริมาณที่สูง ส่งผลให้แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี โดยแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีใกล้เคียง L-Ascorbic acid และ โทรลอคซ์ นอกจากนี้สามารถแสดงฤทธิ์ที่เกี่ยวข้องกับโรคเบาหวานโดยสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาไกลโคซิเดสได้ดีกว่าอะคาร์โบส ประมาณ 10 เท่า และจากการเปรียบเทียบพบว่าพันธุ์ที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สูงและฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีมาก คือ สายพันธุ์เขียวเสวยและน้ำดอกไม้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณงบประมาณสนับสนุนการวิจัยของ มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม กองทุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2562 รหัสโครงการวิจัย RDI-4-62-12 และขอขอบคุณการสนับสนุนการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์จากศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

เอกสารอ้างอิง

- Barreto JC, Trevisan MTS, Hull WE, Erben G, de Brito ES, Pfundstein B, Würtele G, et al. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 2008;56:5599-5610.
- Berardini N, Carle R, Schieber A. Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. Rapid Communication in Mass Spectrometry 2004;18:2208-2216.
- Braca A, Sortino C, Politi M, Morelli I, Mendez J. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. Journal of Ethnopharmacology 2002;79(3):379-381.
- Fraga CG, Galleano M, Verstraeten SV, Oteiza PI. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. Molecular Aspects of Medicine 2010;31:435-445.
- Gella FJ, Gubern G, Vidal R, Canalias F. Determination of total and pancreatic α -amylase in human serum with 2-chloro-4-nitrophenyl- α -D-maltotrioside as substrate. Clinica Chimica Acta 1997;259: 147-160.
- Gua C, YangaM, Zhouc Z, Khand A, Cao J, Chenga G. Purification and characterization of four benzophenone derivatives from *Mangifera indica* L. leaves and their antioxidant, immunosuppressive and α -glucosidase inhibitory activities. Journal of Functional Foods 2019;52:709-714.

- Hannan A, Asghar S, Naeem T, Ullah MI, Ahmed I, Syeda Aneela S, Hussain S. Antibacterial effect of mango (*Mangifera indica* Linn.) leaf extract against antibiotic sensitive and multi-drug resistant *Salmonella typhi*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences 2013;26(4):715-719.
- Hesham RE, Mohamed AS, Omar MK. Dietary Xanthones. Handbook of Dietary Phytochemicals 2020:1-22.
- Imran M, Arshad MS, Butt MS, Kwon JH, Arshad MU, Sultan MT. Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorder. Lipids in Health and Disease 2017;16(84):1-17.
- Kanwal Q, Hussain I, Siddiqui HL, Javaid A. Flavonoids from mango leaves with antibacterial activity. Journal of the Serbian Chemical Society 2009;74(12):1389-1399.
- Kulkarni VM, Rathod VK. Exploring the potential of *Mangifera indica* leaves extract versus mangiferin for therapeutic application. Agriculture and Natural Resources. 2018;52:155-161.
- Kumar M, Saurabh V, Tomar M, Hasan M, Changan S, Sasi M, Maheshwari C. et al. Mango (*Mangifera indica* L.) leaves: nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities antioxidants. 2021;10(299):1-23.
- Majhenic L, Skerget M, Knez Z. Antioxidant and antimicrobial activity of quarana seed extracts. Food Chemistry 2007;104(3):1258-1268.
- Matkowski A, Kus P, Goralska E, Wozniak D. Mangiferin-a bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 2013;13:439-455.
- Matsui T, Yoshimoto C, Osajima K, Oki T, Osajima Y. *In vitro* survey of alpha-glucosidase inhibitory food components. Bioscience Biotechnology Biochemistry 1996;60 2019-2022.
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. Journal of Nutritional Science 2016;5(47):1-15.
- Samanta S, Ranabir CR, Ganguli S, Reddy AG, Banerjee J. Anti-diabetic activity of mango (*Mangifera indica*): a review. MOJ Bioequivalence & Bioavailability 2019;6(2):23-26.
- Santos CMM, Freitas M, Fernandes E. A comprehensive review on xanthone derivatives as α -glucosidase inhibitors. European Journal of Medicinal Chemistry 2018;157(5):1460-1479.
- Swaroop A, Stohs SJ, Bagchi M, i Moriyama H, Bagchi D. Mango (*Mangifera indica* Linn) and anti-inflammatory benefits: versatile roles in mitochondrial bio-energetics and exercise physiology. Functional Foods in Health and Disease 2018;8(5):267-279.
- Zeb A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. Journal of Food Biochemistry 2020;44(9):e13394.