



องค์ประกอบทางเคมีและความเป็นพิษของเปลือกมะม่วงพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้วต่อ หนอนกระทู้ผัก

Chemical Composition and Toxicity of Peel of Native Species Mango in Sa Kaeo Province Against *Spodoptera litura*

ปรินทร์ เต็มญารศิลป์¹ และ ปุณณานันท์ พันธุ์แก่น^{2*}

Parinthorn Temyarasilp¹ and Poonnanan Phankaen^{2*}

¹หลักสูตรเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จ.ปทุมธานี 13180

²งานวิชาศึกษาทั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จ.ปทุมธานี 13180

¹Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Phatum Thani 13180, THAILAND

²General Education, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Phatum Thani 13180, THAILAND

*Corresponding author e-mail: poonnanan@vru.ac.th

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: October 18, 2022

Revised: December 13, 2022

Accepted: December 23, 2022

Available online: March 13, 2023

DOI: 10.14456/jarst.2023.2

Keywords: *Spodoptera litura*,

Mangifera Indica Linn,

phytochemical, antioxidant activity

The purpose of this research was to study the phytochemical screening, antioxidation and efficiency to control *Spodoptera litura* of mango peel which is a native species in Sa Kaeo province, Thailand. According to phytochemical preliminary study of mango peel, 5 types were found: alkaloids, flavonoids, coumarins, tannins and terpenoids. The extract of mango peel with ethyl acetate solvent showed the highest total phenolic content and total tannins content which were 403.10 ± 0.02 mg GAE/g and 330.78 ± 0.02 mg TAE/g, respectively. For total flavonoids content, the highest was found in dichloromethane extract at 255.11 ± 0.02 mg QE/g. The antioxidant activity study obtained from DPPH free radical scavenging showed the highest in methanol extract (EC_{50} value was 4.38 ± 0.03 μ g/ml). In the addition, it was found that the contact toxicity test by topical application of mango peel extract

was able to control *Spodoptera litura*. In which the active substance extracted with ethyl acetate, it showed the best effect at 24 and 48 hours ($2,392.14 \pm 0.13$ and $1,580.26 \pm 0.12$ mg/l, respectively). Therefore, ethyl acetate extract was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), in which only gallic acid was found. It can control many bacteria and insects. Overall results suggest that mango peels from Sa Kaeo province can be further studied for using in insect control plans to reduce the use of chemical pesticides.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ของเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว ประเทศไทย จากการศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของเปลือกมะม่วง พบ 5 ชนิด ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนิน และเทอร์ปีนอยด์ ซึ่งสารสกัดเปลือกมะม่วงด้วยเอทิลอะซิเตทมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและแทนนินทั้งหมดสูงสุดที่ 403.10 ± 0.02 mg GAE/g และ 330.78 ± 0.02 mg TAE/g ตามลำดับ สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบสูงสุดในสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนที่ 255.11 ± 0.02 mg QE/g จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH free radical scavenging พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($EC_{50} = 4.38 \pm 0.03$ μ g/ml) นอกเหนือจากนี้จากการทดสอบความเป็นพิษทางการสัมผัสด้วยวิธีการ topical application พบว่าสารสกัดจากเปลือกมะม่วงสามารถควบคุมหนอนกระทู้ผักได้โดยสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิล อะซิเตทออกฤทธิ์ได้ดีที่สุดที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ($LC_{50} = 2,392.14 \pm 0.13$ และ $1,580.26 \pm 0.12$ mg/l ตามลำดับ) ดังนั้นจึงนำสารสกัดจากเปลือกด้วยเอทิลอะซิเตท วิเคราะห์โดยใช้โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบสารกรดแกลลิกที่สามารถควบคุมแบคทีเรียและแมลงได้

หลายชนิด ผลการวิจัยโดยรวมชี้ให้เห็นว่าเปลือกมะม่วงจากจังหวัดสระแก้ว สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดศัตรูพืชเพื่อลดการใช้สารเคมีในการควบคุมศัตรูพืช

คำสำคัญ: หนอนกระทู้ผัก มะม่วง สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

บทนำ

มะม่วง (*Mangifera Indica* Linn.) เป็นผลไม้เขตร้อนที่นิยมบริโภคกันทั่วโลก โดยจัดเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญชนิดหนึ่งที่มีการเพาะปลูกแทบทุกภาคของประเทศไทย และยังเป็นพืชที่สร้างรายได้ให้แก่เกษตรกร เนื่องจากเป็นผลไม้ส่งออกทั้งในประเทศและต่างประเทศ [1] มะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว มีลักษณะ ผลรี เปลือกผิวบาง เมื่อสุกจะมีสีเหลืองถึงเหลืองทอง สีเนื้อผลเป็นสีเหลืองอมส้ม มีเส้นใยในปริมาณน้อย เมล็ดลีบ ผลดิบมีรสขชาติเปรี้ยว ผลสุกจะมีรสขชาติหวาน กลิ่นหอม [2] นับเป็นสินค้าทางการเกษตรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของจังหวัด และเป็นมะม่วงพันธุ์ที่ได้รับการรับรองการขึ้นทะเบียนเป็นมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว ได้รับการรับรองเป็นสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (Geographical Indication: GI) ที่ขึ้นชื่อของจังหวัดสระแก้ว และเป็นผลไม้ส่งออกของจังหวัดสระแก้ว โดยมีพื้นที่ปลูกมะม่วงทั้งหมด 14,126 ไร่ ผลผลิตต่อไร่ประมาณ 1,650 กิโลกรัม [3]

ในมะม่วงประกอบไปด้วยสารฟลาโวนอยด์ และ สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ซึ่งเป็นสารที่มักพบ ในพืช [1] โดยเฉพาะในผัก ผลไม้ และสมุนไพร สารประกอบ ในสารสำคัญเหล่านี้มีชื่อเฉพาะว่า “สารฟลาโวนอยด์ (Phytochemical)” โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ สารปฐมภูมิ (Primary Metabolites) และสารทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษา สารประเภท สารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด เชื่อว่าสารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการ ชีวสังเคราะห์ในพืช และมักจะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา อย่างชัดเจน สารทุติยภูมิที่พบในพืชแต่ละชนิด เช่น แอลคาลอยด์ (Alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แทนนิน (Tannins) ไกลโคไซด์ (Glycoside) เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) และ สเตียรอยด์ (Steroids) เป็นต้น [4]

มะม่วงมีสารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากพบว่ามีการต้านอนุมูลอิสระในปริมาณมาก เช่น วิตามินซีและยังมีสารสำคัญหลายชนิด เช่น แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) และ สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) โดย สารประกอบฟีนอลิกสำคัญที่พบในเปลือก เนื้อ และ เมล็ดของมะม่วง ได้แก่ แมงจีเฟอริน (Mangiferin) กรด แกลลิก (Gallic Acid) กรดคาเฟอิก (Caffeic acid) และ แทนนิน (Tannin) [5, 6] ซึ่งแมงจีเฟอรินเป็นสารที่มีผล ทางเภสัชวิทยาอย่างหลากหลาย เช่น การยับยั้งเชื้อไวรัส และแบคทีเรีย ป้องกันอาการอักเสบ แก้ปวด และกระตุ้น ต่อการสร้างภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย [7] นอกเหนือจากนั้น ยังพบว่าสารสกัดจากมะม่วงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการ เจริญเติบโตของแบคทีเรีย [8] และสามารถควบคุมอัตรา การตายของแมลงบางชนิด ได้แก่ ลูกน้ำยุง (*Culex pipiens larvae*) และแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) [9, 10]

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาสารฟลาโวนอยด์และความสามารถต้านอนุมูลอิสระ (โดยวิธี DPPH) และการหาปริมาณสารสำคัญ คือ แมงจีเฟอริน และกรด แกลลิกในเปลือกของมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์พื้นเมือง

จังหวัดสระแก้ว และการออกฤทธิ์ของสารสกัดจาก เปลือกมะม่วงต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผักที่เป็น แมลงศัตรูพืชที่สำคัญในการทำลายผักตระกูลกะหล่ำทุก ชนิด เช่น คะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดขาวปลี ผักกาดเขียวปลีและผักกาดหัว เป็นต้น นอกเหนือจาก นั้นมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว ยังขาดข้อมูลทางด้านคุณค่าทางฟลาโวนอยด์ที่เป็น องค์ประกอบสำคัญ เพื่อเป็นแนวทางนำข้อมูลวิจัยไปต่อ ยอดเป็นผลิตภัณฑ์ด้านอาหารเพื่อสุขภาพ หรือด้านการ ใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืช ที่ถือว่าเป็น การเพิ่มคุณค่า มูลค่า และช่วยกระตุ้นให้ผู้บริโภคเล็งเห็น ความสำคัญในการบริโภคมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์ พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างมะม่วง

มะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัด สระแก้ว ถูกเก็บที่วิสาหกิจชุมชนกลุ่มผู้ปลูกมะม่วง บ้านบ่อนางชิง ตำบลห้วยโจด อำเภอวัฒนานคร จังหวัด สระแก้ว ในลักษณะเป็นผลมะม่วงสุก สีเป็นสีเหลืองอมส้ม จากนั้นนำมาล้างน้ำให้สะอาด ปอกเปลือก และนำเปลือก ของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองในพื้นที่จังหวัดสระแก้ว ไปตาก ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องและอบจนแห้งสนิท

การสกัดสาร

นำเปลือกมะม่วงที่แห้ง ที่มีระดับความชื้นอยู่ที่ 60.79% น้ำหนัก 100 g ห่อด้วยผ้าขาวบาง และนำไปสกัด โดยใช้ตัวทำละลายแบบไล่ชั้น 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล ตามลำดับ ชนิดละ 500 ml และแช่เป็นเวลา 7 วัน นำสารสกัดที่ได้ จากแต่ละตัวทำละลายไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วย เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) ซึ่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้ พร้อมคำนวณร้อยละของ สารสกัดหยาบ และนำสารสกัดหยาบที่ได้บรรจุในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกของผลมะม่วง โดยแบ่งการทดสอบสารพิษเป็น 9 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ (Alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แอนทราควิโนน (Anthraquinones) คูมาริน (Coumarins) ซาโปนิน (Saponins) แทนนิน (Tannins) เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids) สเตียรอยด์ (Steroids) และ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac Glycosides) โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน

การตรวจสอบแอลคาลอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำกลั่น 10% กรดซัลฟิวริก ปริมาตร 1.0 ml เขย่า นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ไปหยดสารละลายดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's Reagent) จำนวน 5 หยด เขย่า หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 ml เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 1 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วนำไปอุ่น 5 นาที หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม แสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

การตรวจสอบแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำกลั่น 10% กรดซัลฟิวริก ปริมาตร 1.0 ml เขย่า นำไปอุ่น 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง และเติมน้ำกลั่น 10% แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 0.5 ml เขย่า หากปรากฏสารละลายเป็นสีชมพูแดงเกิดขึ้น แสดงว่าพบแอนทราควิโนน

การตรวจสอบคูมาริน

ชั่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วย 50% เอทานอล ปริมาตร 1.0 ml เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมน้ำกลั่น 6M โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 1.0 ml เขย่า หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบคูมาริน

การตรวจสอบซาโปนิน

ใช้การทดสอบแบบการเกิดฟอง โดยชั่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5.0 ml นำไปอุ่น 5 นาที เขย่าอย่างแรง หากปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลองแสดงว่าพบซาโปนิน

การตรวจสอบแทนนิน

ชั่งสารสกัด 0.2 g เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.0 ml นำไปอุ่น 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมน้ำกลั่น 1% เฟอร์ริกคลอไรด์ จำนวน 5 หยด เขย่า หากปรากฏสารละลายเป็นสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบแทนนิน

การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 ml เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 0.5 ml ลงไป หากปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบเทอร์ปีนอยด์

การตรวจสอบสเตียรอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 ml เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรอง เติมน้ำกลั่น 10% กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 0.5 ml เขย่า แล้วเติมน้ำกลั่น 10% กรดซัลฟิวริกเข้มข้น จำนวน 3 หยด หากปรากฏสารละลายเป็นสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลเข้มแสดงว่าพบสเตียรอยด์

การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

ซึ่งสารสกัด 0.2 g ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 1.0 ml เขย่า กรองส่วนที่ไม่ละลายออก นำของเหลวที่ได้จากการกรองเติมสารละลาย 1% เพอริคลอไรด์ จำนวน 5 หยด เขย่า เติมกรดแกลซีลแอซีติก จำนวน 5 หยด เขย่า และค่อย ๆ เติม กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 0.5 ml ลงไป หากปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ [11]

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Majhenic และคณะ [12] ใช้กรดแกลลิก เป็นสารมาตรฐาน คือ สารประกอบฟีนอลิกรวมจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วย Phosphomolybdic-phosphotungstic acid โดยสารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย Phenolic hydroxyl groups ของสารประกอบฟีนอลิกรวม เกิดเป็นทั้งสแตน (Tungsten) และ โมลิบดีนัมสีน้ำเงิน (Molybdenum Blue) ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm

โดยผสมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ความเข้มข้น 0.1-0.0001 mg/ml) หรือ สารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 ml กับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10% (v/v) ปริมาตร 0.8 ml ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 2.5% (w/v) ปริมาตร 1.0 ml เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่าง จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 g (Gallic acid equivalents, mg GAE/g dried extract) พบว่ากราฟ

มาตรฐานกรดแกลลิกเป็นเส้นตรง ($y = 0.7453x + 0.001$, $R^2 = 0.99$)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium trichloride colorimetric เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand และคณะ [13] โดยใช้เคอร์ซีติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจะใช้ Phenolic hydroxyl groups ทำปฏิกิริยากับ $AlCl_3$ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm

โดยผสมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน (ความเข้มข้น 0.1-0.0001 mg/ml) หรือ สารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 0.2 ml กับสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ ความเข้มข้น 1.0% (w/v) ปริมาตร 1.8 ml ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer และ หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 g (Quercetin equivalents, mg GAE/g dried extract) พบว่า กราฟมาตรฐานเคอร์ซีตินเป็นเส้นตรง ($y = 1.1158x - 0.0047$, $R^2 = 0.99$)

การหาปริมาณแทนนินทั้งหมด (Total Tannins Content)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ดัดแปลงวิธีจาก Tsai และคณะ [14] เติมสารละลาย folin-ciocalteu ปริมาตร 0.2 ml เขย่าให้เข้ากันดีและเติมสารละลาย 7% โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) ปริมาตร 2 ml ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 90 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm วาดกราฟเพื่อหาสมการเส้นตรง ทำการทดสอบเช่นเดียวกันกับสารสกัดเพื่อหาปริมาณแทนนิน ในสารสกัดจากกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิกและนำเสนอ ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูล

ของกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg TAE/g extract) พบว่า กราฟมาตรฐานกรดแทนนิกเป็นเส้นตรง ($y = 0.9078x - 0.0013$, $R^2 = 0.99$)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH free radical scavenging

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Braca และคณะ [15] โดยใช้กรดแกลลิก เคอร์ซีติน และวิตามินซี เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือสารละลาย 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) จะเป็นสารละลายสีม่วงและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm

โดยผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.02 mg/ml) หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.0 mg/ml) ปริมาตร 0.2 ml กับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทำละลายเมทานอล ความเข้มข้น 0.05 mM ปริมาตร 1.8 ml ให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH free radical inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ DPPH free radical inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบเชิงเคมีของกรดแกลลิกและแมงจิเฟอริน

การตรวจสอบองค์ประกอบของในเปลือกมะม่วง ได้แก่ กรดแกลลิกและแมงจิเฟอรินด้วยเทคนิค

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยการเตรียมสารสกัดจากเปลือกที่ความเข้มข้น 1000 mg/l เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน กรดแกลลิกและแมงจิเฟอริน ที่ความเข้มข้น 500 mg/l และนำตัวอย่างกรองผ่านเยื่อกรอง (Membrane Filter) ขนาด 0.2 ไมครอน จากนั้นวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้ C18 คอลัมน์ทำการชะแบบไอโซเครติก องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ คือ 0.2% อะซิโตไนโตรล (Acetonitrile) และ กรดอโธฟอสฟอริก (Orthophosphoric Acid) (10:90, v/v) อัตราการไหลเฟสเคลื่อนที่ คือ 10 ml/min ที่อุณหภูมิ 4°C โดยเครื่องตรวจวัดสารแบบไดโอดอะเรย์สำหรับ HPLC ที่ความยาวคลื่น 242 nm และนำตัวอย่างฉีดตัวอย่างละ 10 μ l ผลการวิเคราะห์จะสามารถหาได้จากการคำนวณพื้นที่ใต้กราฟเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกและแมงจิเฟอริน พบว่า กรดแกลลิกมีค่าสมการเส้นตรง คือ $y = 7.8384x + 194.67$ และค่าสัมประสิทธิ์ตัดเส้นใจ (R^2) เท่ากับ 0.99 และแมงจิเฟอรินมีค่าสมการเส้นตรง คือ $y = 11.159x - 48.39$ และค่าสัมประสิทธิ์ตัดเส้นใจ เท่ากับ 0.99

การเตรียมแมลงเพื่อทดสอบ

สำรวจและเก็บตัวอย่างหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) จากแปลงของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดสระแก้ว นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 27 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 70% และช่วงแสงที่ 14:10 L:N ด้วยอาหารเทียม ในกล่องพลาสติกสีเหลี่ยม โดยทั้งนี้ จะทำการเปลี่ยนอาหารเทียมในกล่องทุกสามวัน เพื่อป้องกันการติดเชื้อ เมื่อหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้จะทำการย้ายดักแด้มาอยู่ในกรงซึ่งบุด้วยกระดาษและเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วยน้ำตาล จากนั้นนำไข่ที่ได้มาใช้ในการพัฒนาเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ทั้งนี้ จะทำการเมตตาฆาตแมลงหลังทดสอบสารโดยวิธีการแช่เย็น (Freezer)

การวิเคราะห์ความเป็นพิษด้วยการรับสัมผัสโดยการหยดสาร (Topical Application Method)

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD ทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำๆ ละ 30 ตัว โดยเตรียมสารละลายสารสกัดหยาบจากเปลือกมะม่วงที่ความเข้มข้น 500, 1250, 2500, 5000, 10000 mg/l เจือจางด้วยอะซิโตน นำมาทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันต่อหนอนกระทู้ ด้วยวิธีการรับสัมผัสโดยการหยดสารลงบนตัวสัตว์ทดลองจากด้านบน (Topical Application Method) ที่ตำแหน่งเซฟาโลทอแร็กซ์ (Cephalothorax) ตัวละ 2 μ l และเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ถูกทดสอบด้วยสารละลายอะซิโตน นำหนอนกระทู้ฝักไปเลี้ยงต่อภายในกล่องพลาสติกด้วยอาหารเทียม ภายใต้การควบคุมอุณหภูมิของห้องเลี้ยงแมลง และทำการตรวจนับการตายของหนอนกระทู้ฝักที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง และทำการบันทึกผลลักษณะการตาย

ตารางที่ 1 น้ำหนักสารสกัดและร้อยละ (Percentage Yield) ของสารสกัดเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองจังหวัดสระแก้วด้วยตัวทำละลายแบบต่อเนื่อง

สารละลายที่ใช้สกัด	น้ำหนัก (g)	ร้อยละผลผลิต (w/w)	ลักษณะของสารสกัดที่ได้
เฮกเซน	3.64	1.37	ของเหลวขุ่นหนืดสีเหลือง
ไดคลอโรมีเทน	2.73	1.03	ของเหลวขุ่นหนืดสีเหลือง
เอทิล อะซิเตท	2.85	1.07	ของเหลวขุ่นหนืดสีเหลือง
เมทานอล	72.47	27.27	ของเหลวขุ่นหนืดสีเหลือง

ผลการทดลองพฤษเคมี

การตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้วด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด โดยแบ่งการทดสอบเป็น 9 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ตรวจสอบผลโดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีและตกตะกอน พบว่าสารสกัดจากเปลือกมะม่วงในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด สารประกอบพฤษเคมี 5 ชนิด ที่พบในเปลือกของมะม่วง คือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนินและ เทอร์ปีนอยด์

การวิเคราะห์ผลข้อมูล

นำข้อมูลสารสกัด และอัตราการตายของหนอนกระทู้ฝักจากสารสกัดเปลือกมะม่วง มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Tukey's HSD test และวิเคราะห์หาค่า EC_{50} และ LC_{50} โดยวิธี Probit analysis

ผลการศึกษาและการอภิปราย

ผลของการสกัดสาร

ตัวอย่างเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้วจะได้สารสกัดหยาบที่มีน้ำหนักของสารสกัดหยาบร้อยละผลผลิต (Percentage Yield) มากที่สุดคือ เมทานอล เฮกเซน เอทิลอะซิเตทและไดคลอโรมีเทน ดังแสดงในตารางที่ 1

และไม่พบสารประกอบพฤษเคมี 4 ชนิด คือ แอนทราควิโนน ซาโปนิน สเตียรอยด์และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ดังแสดงในตารางที่ 2 จากผลการทดลองตรวจสอบพฤษเคมีเบื้องต้นพบว่า ในตัวทำละลายที่แตกต่างกันให้ผลการทดลองที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าในเปลือกมะม่วงมีสารพฤษเคมีที่แตกต่างกันเป็นองค์ประกอบ และสารละลายเมทานอลสามารถสกัดสารพฤษเคมีหลายชนิดได้มากที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yearul Kabir และคณะ [16] พบว่า สารประกอบพฤษเคมีในเปลือกมะม่วงจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตัวทำละลาย และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดมีความแตกต่างกัน นอกเหนือจากนั้นสารทุติยภูมิจากพืชสามารถกำจัดแมลงได้หลายรูปแบบขึ้นอยู่กับสารเคมีและปริมาณ

ที่อยู่ในพืช เนื่องจากกลไกของสารเคมีที่อยู่ในพืชส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของแมลง [17]

ผลสารประกอบฟีนอลิกรวม

จากผลการหาปริมาณฟีนอลิกรวมของเปลือกมะม่วง พบว่าในสารสกัดเปลือกมะม่วงมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุดที่เอทิลอะซิเตท (403.10 ± 0.02 mg GAE/g) รองลงมาได้แก่ เมทานอล (112.71 ± 0.00 mg GAE/g) ไดคลอโรมีเทน (26.02 ± 0.00 mg GAE/g) และเฮกเซน (14.36 ± 0.01 mg GAE/g) ตามลำดับ ตัวทำละลายแต่ละประเภทที่ใช้สกัดจะมีความสามารถในการดึงสารที่ต่างกัน ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมใช้สกัดได้แก่ น้ำ เอทานอล เมทานอล อะซิโตนและเฮกเซน เป็นต้น [18] นอกเหนือจากนั้นมีการรายงานเกี่ยวกับปริมาณฟีนอลิกรวมในเนื้อของมะม่วงน้ำดอกไม้มีปริมาณเท่ากับ 192 mg GAE/g ในการสกัดด้วยเมทานอล

95% สกัดด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Shaking Water Bath) [19] ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าในเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว จากการรายงานสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเนื้อมะม่วง ได้แก่ กรดเฟอร์ูลิก (Ferulic Acid) กรดโปรโตคาเทชอิก (Protocatechuic) คลอโรจีนิก (Chlorogenic) แกลลิก (Gallic) วานิลิก (Vanillic) กรดคาเฟอิก (Caffeic Acids) [20] และในเปลือกมะม่วงพันธุ์ Ataulfo Keitt Osteen และ Sensation ยังพบอนุพันธ์ของสารกรดไซริงจิก (Syringic) เมทิลไดแกแลตเอสเทอร์ (Methyl Digallate Ester) เมทิลแกลเลต (Methyl Gallate) แกลโลแทนนิน (Gallotannins) แกลโลอิกลูโคส (Galloyl Glucose) ทีโอแกลลิน (Theogallin) กรดโปรโตคาเทชอิก (Protocatechuic) และกรดเฟอร์ูลิก [21, 22] สารเหล่านี้สามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อพัฒนาต่อยอดงานวิจัยให้เกิดประโยชน์ยิ่งขึ้น

ตารางที่ 2 การตรวจสอบสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้นของสารสกัดเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้วด้วยตัวทำละลายแบบต่อเนื่อง

ฟลักซ์เคมี	เฮกเซน	ไดคลอโรมีเทน	เอทิล อะซิเตท	เมทานอล
แอลคาลอยด์	-	-	-	+
ฟลาโวนอยด์	+	+	+	+
แอนทราควิโนน	-	-	-	-
คูมาริน	-	-	+	-
ซาโปนิน	-	-	-	+
แทนนิน	+	+	+	+
เทอร์ปีนอยด์	+	+	+	-
สเตียรอยด์	-	-	-	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-	-	-	-

หมายเหตุ - หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ, + หมายถึง ตรวจสอบพบ

ผลของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากผลการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ของเปลือกมะม่วง พบว่าในสารสกัดเปลือกมะม่วงพบปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุดที่ไดคลอโรมีเทน (255.11 ± 0.02 mg QE/g) รองลงมาได้แก่ เอทิลอะซิเตท (166.68 ± 0.01

mg QE/g) เฮกเซน (107.83 ± 0.02 mg QE/g) และเมทานอล (17.76 ± 0.00 mg QE/g) ตามลำดับ จากการรายงานของ Donatus Eberé Okwu และคณะ [23] พบว่า ในใบมะม่วงของประเทศไนจีเรียมีสารฟลาโวนอยด์ในใบปริมาณ 11.24 mg QE/g ซึ่งสารสำคัญที่พบ

ได้แก่ แมนจิจิเฟอริน (Mangiferin) แคทีชิน (Catechin) อีพิคาเทชิน (Epicatechin) และแควอซิติน กลูโคส (Glucose) กาแล็กโทส (Galactose) แรมโนส (Rhamnose) ไชโลส (Xylose) และ อะราบิโนส (Arabinose) [6]

ผลของปริมาณแทนนินทั้งหมด

จากผลการหาปริมาณแทนนินของเปลือกมะม่วง พบว่าในสารสกัดในเปลือกมะม่วงพบปริมาณแทนนินรวมสูงสุดที่เอทิลอะซิเตท (330.78 ± 0.02 mg TAE/g) รองลงมาได้แก่ เมทานอล (92.37 ± 0.00 mg

TAE/g) ไดคลอโรมีเทน (21.28 ± 0.00 mg TAE/g) และ เฮกเซน (11.70 ± 0.01 mg TAE/g) ตามลำดับ จากการรายงานของ Donatus Ebere Okwu และคณะ [23] พบว่า ในใบมะม่วงของประเทศไนจีเรีย 0.45 mg TAE/g ซึ่งจะพบสารประกอบเทอร์พีนอยด์ ได้แก่ เบต้าเอเลมีน (β -elemene) เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณแทนนินของเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้พันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้วมีปริมาณมากกว่าในใบมะม่วงในประเทศไนจีเรีย

ตารางที่ 3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและปริมาณแทนนินทั้งหมด จากสารสกัดเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว

ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	ฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g)	ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg QE/g)	แทนนินทั้งหมด (mg TAE/g)
เฮกเซน	14.36 ± 0.01^a	107.83 ± 0.02^b	11.70 ± 0.01^a
ไดคลอโรมีเทน	26.02 ± 0.00^b	255.11 ± 0.02^d	21.28 ± 0.00^b
เอทิล อะซิเตท	403.10 ± 0.02^d	166.68 ± 0.01^c	330.78 ± 0.02^d
เมทานอล	112.71 ± 0.00^c	17.76 ± 0.00^a	92.37 ± 0.00^c

^{a-b}ค่าที่มีตัวอักษรที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ($P \leq 0.05$) โดยวิธี Tukey's HSD test

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในสารสกัดเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองจังหวัดสระแก้ว

ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	EC ₅₀ (mg/ml)
เฮกเซน	1923.78 ± 0.04^d
ไดคลอโรมีเทน	780.28 ± 0.01^c
เอทิล อะซิเตท	61.74 ± 0.04^b
เมทานอล	4.38 ± 0.03^a

^{a-b}ค่าที่มีตัวอักษรที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ($P \leq 0.05$) โดยวิธี Tukey's HSD test

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay รายงานเป็นค่า 50% Effective Concentration (EC₅₀) ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นของสารที่ต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 50 โดยค่า EC₅₀ ที่น้อย แสดงถึงประสิทธิภาพที่ดีในการต้านออกซิเดชัน จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด คือ เมทานอล

เอทิลอะซิเตท ไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 จากการรายงานของ Esi Resida และคณะ [24] ได้ทำการศึกษาเปลือกไม้ และใบมะม่วง 11 สายพันธุ์ในประเทศอินโดนีเซีย พบว่า มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันเหมือนกัน แต่อย่างไรก็ตามในมะม่วงแต่ละสายพันธุ์ และแต่ละส่วนของมะม่วงที่ได้ทำการศึกษามีปริมาณการฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน

การวิเคราะห์หาปริมาณสาร

การตรวจสอบสารสกัดในเปลือกมะม่วงด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท เพื่อหาสารสำคัญที่สามารถออกฤทธิ์ต่อหนอนกระทู้ผัก เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ออกฤทธิ์ควบคุมหนอนกระทู้ผักได้ดีที่สุด

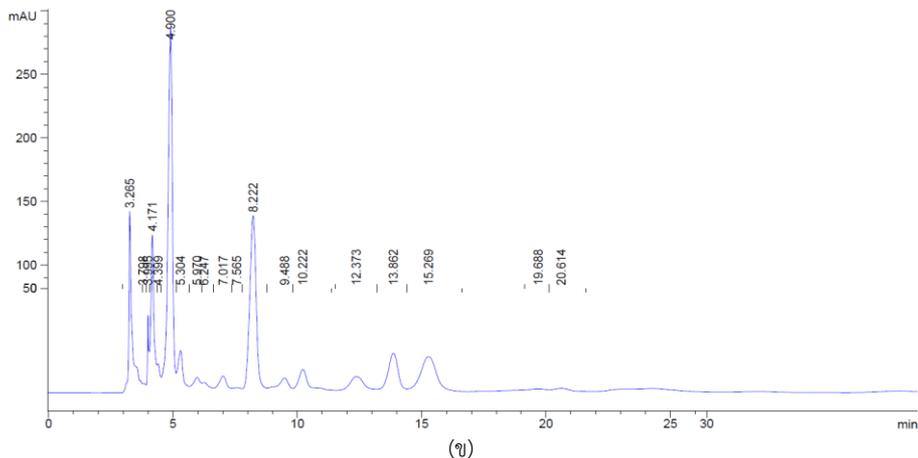
โครมาโตแกรม HPLC ของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกและแมงจิเฟอรินที่ความเข้มข้น 500 mg/l พบการทดลองพบว่าสารมาตรฐานกรดแกลลิกและแมงจิเฟอริน มีค่า Retention time ที่ 4.87 และ 29.19 นาที ตามลำดับ

จากการตรวจสอบโครมาโตแกรม HPLC ของกรดแกลลิกและแมงจิเฟอริน พบว่าในสารสกัดจาก

เปลือกด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่า กรดแกลลิกมีค่า Retention time ที่ 4.90 และไม่พบแมงจิเฟอริน ในเปลือกที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท แสดงในรูปที่ 1 และตารางที่ 5 ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ramirez และคณะ [25] ที่พบว่า ในเปลือกของมะม่วงสายพันธุ์ Pica และ Tommy Atkins มีปริมาณแมงจิเฟอริน 22.15 และ 9.68 mg/100 g FW ตามลำดับซึ่งมากกว่าในเนื้อ (4.24 และ 3.25 mg/100 g FW) แต่อย่างไรก็ตามแมงจิเฟอรินในเปลือกของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้วอาจถูกสกัดอยู่ในตัวทำละลายชนิดอื่นที่ไม่ใช่เอทิลอะซิเตท นอกเหนือจากนั้นแมงจิเฟอรินสามารถพบได้ในเปลือกไม้และใบมะม่วง [26]

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ HPLC ของกรดแกลลิกและแมงจิเฟอรินในสารสกัดจากเปลือกด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท

กรดแกลลิก			แมงจิเฟอริน		
Retention time (R _t)	Peak area (mAU*s)	Gallic acid content (mg/g)	Retention time (R _t)	Peak area (mAU*s)	mangiferin content (mg/g)
4.90	3620.77	43.71	0	0	0



รูปที่ 1 โครมาโตแกรม HPLC สารสกัดจากเปลือกด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท

ความเป็นพิษด้วยการรับสัมผัสโดยการหยดสาร (Topical Application Method)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการสารสกัดจากเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก โดยวิธีการ

ทดสอบความเป็นพิษด้วยการรับสัมผัสโดยการหยดสาร (Topical Application Method) พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมงด้วยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีผลต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผักมากที่สุด รองลงมาคือเมทานอล ไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน

และที่ 48 ชั่วโมง พบว่า ตัวทำละลายเมทานอลมีผลต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผักมากที่สุด รองลงมาคือ เอทิลอะซิเตท เฮกเซนมีเทน และไดคลอโรมีเทน แสดงดังตารางที่ 6 จะเห็นได้ว่าที่เวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ลำดับการออกฤทธิ์ในตัวทำละลายแตกต่างกัน เนื่องจากตัวทำละลายแต่ละชนิดมีการสลายตัว ความคงตัวของสารสกัดและคุณสมบัติทางเคมีของสารออกฤทธิ์ไม่เหมือนกัน [27]

จากการรายงานของ Emam M และคณะ [9] พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสามารถกำจัดลูกน้ำยุง โดยพบสารสำคัญ คือ เพนตากัลโลบิโลฮิด กลูโคส (Pentagalloyl glucose (PGG)) และ แมนจีเฟอริน (Mangiferin) ที่มีฤทธิ์ต่อการตายของลูกน้ำยุงลายที่

ตารางที่ 6 ความเป็นพิษด้วยการรับสัมผัสโดยการหยดสารของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้อีสทองพันธุ์พื้นเมือง จังหวัดสระแก้วต่อหนอนกระทู้ผัก ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

ตัวทำละลายที่ ใช้สกัด	24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง	
	LC ₅₀ (mg/l)	LC ₅₀ range	LC ₅₀ (mg/l)	LC ₅₀ range
เฮกเซน	10,239.29 ± 0.13 ^d	6,753.55-20,250.57	3,601.74 ± 0.12 ^c	2,524.50-5,704.23
ไดคลอโรมีเทน	9,477.44 ± 0.13 ^c	6,175.29-19,394.76	6,590.28 ± 0.12 ^d	4,093.17-15,595.43
เอทิล อะซิเตท	2,392.14 ± 0.13 ^a	1,712.59-3,366.71	1,580.26 ± 0.12 ^a	1,037.24-2,225.23
เมทานอล	6,257.61 ± 0.12 ^b	3,635.28-18,796.78	1,721.18 ± 0.12 ^b	942.81-2,765.35

^{a-d}ค่าที่มีตัวอักษรมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 (P<0.05) โดยวิธี Tukey's HSD test

สรุปผล

เปลือกของมะม่วงน้ำดอกไม้อีสทองพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดสระแก้ว มีสารพฤษเคมีและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณและประเภทของสารที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัด จากผลการทดลองพบว่า มีสารประกอบพฤษเคมี 5 ชนิด ที่พบเปลือกของมะม่วง คือ แอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมารินแทนนินและเทอร์ปีนอยด์ และไม่พบสารประกอบพฤษเคมี 4 ชนิด คือ แอนทราควิโนน ซาโปนิน สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

169.38 และ 232.15 mg/l ตามลำดับ นอกเหนือจากนั้นพบว่าสารสกัดจากเปลือกมะม่วง 2 สายพันธุ์ (*Mangifera indica* var. "rosa" และ *Mangifera indica* var. "espada") มีผลต่อการตายของแมลงหิวข้าวยาสูบที่ LC₅₀ เท่ากับ 7.95 และ 3.27 mg/l ตามลำดับ และยังมีผลต่อปริมาณการออกไข่ที่ลดลงแมลงหิวข้าวยาสูบ [10] นอกจากนี้ได้มีการนำสารสกัดจากใบมะม่วงที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน และเมทานอล พบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenase*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*, และ *Shigella flexneri* [8] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมีผลต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ผัก

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด พบปริมาณฟีนอลิกมากที่สุดในสกัดด้วยเอทิล อะซิเตท คือ 403.10 mg GAE/g และการหาฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดจากเปลือกด้วยไดคลอโรมีเทนจะให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ 255.11 ± 0.02 mg QE/g สำหรับการหาปริมาณแทนนินทั้งหมด พบว่า สารสกัดจากเปลือกจะได้ปริมาณแทนนินมากที่สุด เมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตท คือ 330.78 ± 0.02 mg TAE/g อย่างไรก็ตามฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการทดสอบด้วย DPPH จะมีค่าสูงสุด ที่สารสกัดเปลือกด้วยเมทานอล มีค่า EC₅₀ เท่ากับ 4.38 ± 0.03 mg/ml

จากผลวิเคราะห์ HPLC ของกรดแกลลิก และแมงจิจเฟอริน ซึ่งเป็นสารสำคัญในมะม่วง โดยเลือกตรวจวิเคราะห์สกัดจากเปลือกด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่า สารสกัดจากเปลือกด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบเพียงกรดแกลลิกเพียงชนิดเดียว โดยมีปริมาณเท่ากับ 43.71 mg/g

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการสารสกัดจากเปลือกมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้ว ในการควบคุมหนอนกระพุ่มักสารสกัดจากเปลือกมะม่วงด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีผลต่ออัตราการตายของหนอนกระพุ่มักมากที่สุด ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ $2,392.14 \pm 0.13$ และ $1,580.26 \pm 0.12$ mg/l ตามลำดับ

จากงานวิจัยนี้จึงสรุปได้ว่า ชนิดของตัวทำละลายในการสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดสระแก้ว มีสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน รวมถึงมีสารออกฤทธิ์ คือ แมงจิจเฟอริน ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการต่อยอดงานวิจัยต่อไป รวมถึงพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์ในการควบคุมศัตรูพืช อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองพันธุ์พื้นเมืองจังหวัดสระแก้วอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิจัยสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ประจำปีงบประมาณ 2564 ขอขอบคุณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ภาควิชาเคมีและภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การอนุเคราะห์ด้านสถานที่และอุปกรณ์ ที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

1. Krish S. Antioxidant activity, beta-carotene, lycopene and flavonoid content of Thai native cultivars of green mango (*Mangifera indica*) after harvest. UTK research journal. 2019;13(1):68-81.
2. Ban Bo Nang Ching Mango Producer Group Community Enterprise. 2018. Nam dok mai sakaeo mango. Thai patent No. สข 62100122.
3. Data on mango production. Sa Kaeo province [Internet]. Sa Kaeo: Sa Kaeo provincial agricultural extension office 2021 [update 2022 Aug 31; cite 2020 Oct 20]. Availability from: http://www.sakaeo.doae.go.th/site/?page_id=2044
4. Nongluk H. Phytochemical screening and biological activities some thai medicinal plants using in the diabetes therapy [dissertation]. Faculty of science: Burapha University; 2016.
5. Abdalla AEM, Darwish SM, Ayad EHE, El-Hamahmy RM. Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel. Food Chem. 2007;103(4):1134-40.
6. Ribeiro VLS, Avancini C, Goncalves K, Toigo E, Poser GV. Investigation of the acaricidal activity of *Calea serrata* (Asteraceae) on *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus sanguineus*. Vet Parasitol. 2008;151:351-4.
7. Makare N, Bodhankar S, Rangari V. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice. J Ethnopharmacol. 2001;78(2-3):133-7.
8. Doughari JH, Manzara S. In vitro antibacterial activity of crude leaf extracts of *Mangifera indica* Linn. Afr J Microbiol Res. 2008;2:67-72.

9. Emam M, Abdel-Haleem DR, El-Ansari MA, Sobeh M. Larvicidal activity of pentagalloyl glucose and mangiferin isolated from the waste of mango kernel against *Culex pipiens* L. Waste and biomass Valorization. 2022;3: 83–93.
10. Da-Camara CAG, Carvalho-Ribeiro NDC, De-Melo JPR, De-Moraes MM. Insecticidal. Potential of citrus and mango essential and selected constituents on silverleaf whitefly. Revista Caatinga. 2020;33(1):90-9.
11. Ayoola GA, Adesegun SA, Adepoju-Bello AA, Obaweya K, Ezennia EC, Atangbayila TO. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern nigeria. Trop J Pharm Res. 2008;7(3):1019-24.
12. Majhenic L, Kerger MS, Knez Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemist. 2007;104(3):1258-68.
13. Arvouet-Grand A, Vennat B, Pourrat A, Legret P. Standardization d' un extrait de propolis et identification des principaux constituents. J Pharm Belg. 1994;49(6):462-8.
14. Tsai CJ, Harding SA, Jiang H, Jeong ML, Casado FL, Lin HW. Functional genomics analysis of foliar condensed tannin and phenolic glycoside regulation in natural cottonwood hybrids. Tree Physiol. 2005;25: 1475–86.
15. Braca A, Sortino C, Politi M, Morelli I, Mendez J. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. J Ethnopharmacol. 2002;79(3):379-81.
16. Yearul K, Hossain US, Jiwan S. Phytochemical compounds in functional properties of mangoes. Wiley Online Library 2007;12:237-54.
17. Nopdol K, Rawit P, Choosaeng P, Kanjana K. Efficacy of plant extracts for controlling of rice weevil (*Sitophilus oryzae*). Agriculture and Technology Journal. 2021;2(2):85-94.
18. Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of extraction solvent technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extract. Molecules. 2009;14(6):2167-80.
19. Piyata A, Wichanee M. Antioxidant Activity and tyrosinase inhibition of mango crude extracts (*Mangifera indica* Linn.). The 1st RUSNC, 2016 Jul 22. Rajamangala university of technology Suvarnabhumi. Ayutthaya: Rajamangala university of technology Suvarnabhumi; 2016.
20. Abbasi AM, Guo X, Fu X, Zhou L, Chen Y, Zhu Y. Comparative assessment of phenolic content and in vitro antioxidant capacity in the pulp and peel of mango cultivars. Inter J Mol Sci. 2015;16:13507-27.
21. López-Cobo A, Verado V, Diaz-de-Cerio E, Segura-Carretero A, FernandezGutiérrez A, Gomez-Caravaca AM. Use of HPLC- and GC-QTOF to determine hydrophilic and lipophilic phenols in mango fruit (*Mangifera indica* L.) and its by-products. Food Res Int. 2017;100: 423–4.

22. Pacheco-Ordaz R, Antuñes-Ricardo M, Gutiérrez-Urbe JA, GonzálezAguilar GA. Intestinal permeability and cellular antioxidant activity of phenolic compounds from mango (*Mangifera indica* cv. Ataulfo) peels. *Int J Mol Sci.* 2018;1:514. doi.org/10.3390/ijms19020514
23. Donatus EO, Vitus E. Evaluation of the phytochemical composition of mango (*Mangifera Indica* Linn) stem bark and leaves. *Int J Chem Sci.* 2008;6(2):705-16.
24. Esi R, Sri NK, Rodesia MR, Muhammad A, Emrizal E. Phytochemical screening and antioxidant profiling of Sumatran wild mangoes (*Mangifera* spp.): a potential source for medicine antidegenerative effects. *PubMed Central.*2019;9:220. doi: 10.12688/f1000research.22380.3.
25. Ramirez JE, Zambrano R, Sepulveda B, Simirgiotis MJ. Antioxidant properties and hyphenated HPLC–PDA–MS profiling of *Chilean Pica* mango fruits (*Mangifera indica* L. cv. *piqueno*). *Mol.* 2013;19:438–58.
26. Matheyambath AC, Subramanian J, Paliyath G. “Mangoes reference module in food science,” in *Encyclopedia of food and health*. Eds B C Paul and F F Told (Switzerland: Elsevier). 2016;6:41–5. doi: 10.1016/B978-0-12-384947-2.00442-6
27. Jiraporn N, Supawadee K. Marigold flower (*Tagetes erecta* L.) crude extract on killing the mealybug. *Academic Journal of Science and Applied Science.* 2019;1:45-54.