



ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของแมงจิเฟอรินจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้ จังหวัดสมุทรปราการ ต่อเชื้อสแตฟไฟโลคอกไค

เรียนรู้เพื่อรับใช้สังคม

รศ.อิสยา จันทรวิทยานุชิต^{1*}, ผศ.ดร.วิชาญ จันทรวิทยานุชิต², อ.ดร.สมหญิง งามอรุณเลิศ¹, ผศ.ดร.สุวรรณา เสมศรี, วรณศิริ เมฆศรีนวน¹, ผศ.ดร.พรทิพย์ พึ่งม่วง¹
ผศ.ดร.ปัญญา นิมมณี¹, อ.ดร.สุมลรัตน์ ชวงษ์วัฒน์¹, ผศ.วัชรินทร์ รัชชีกาญจน์¹, ผศ.ดร.พัชรี กัมมารเจษฎากุล¹

¹คณะเทคนิคการแพทย์ ²คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ *E mail : isaya.jan@gmail.com โทรศัพท์: 023126300 ต่อ 1250

บทนำ

สารแมงจิเฟอริน (Mangiferin) (1,3,6,7-tetrahydroxy-2-[(2S, 3R, 4R, 5S, 6R) 3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl) oxan-2-yl] xanthen-9-one) เป็นสารพฤษเคมีที่มีโครงสร้างจัดอยู่ในกลุ่มแซนโธนไกลโคไซด์ (Xanthone glycoside) โดยมีพันธะ C-glycosidic ซึ่งเป็นพันธะที่เชื่อมระหว่างโครงสร้างของน้ำตาลกับโครงสร้างที่ไม่ใช่คาร์บอน แมงจิเฟอรินเป็นสารที่พบได้หลายส่วนของมะม่วง โดยเฉพาะส่วนของใบเป็นส่วนที่มีรายงานว่าพบสารแมงจิเฟอรินในปริมาณที่มากกว่าส่วนอื่น ๆ (Barreto JC, 2008) จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารแมงจิเฟอรินในใบมะม่วง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ น้ำดอกไม้ เขียวเสวยและแก้ว พบว่าสายพันธุ์ที่มีปริมาณแมงจิเฟอรินมากที่สุดคือสายพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยพบร้อยละ 2.80 โดยน้ำหนัก (Aranya Jutiviboonsuk, 2010) องค์ประกอบทางเคมีของสารในมะม่วงประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic secondary metabolites) รวมทั้ง Gallic acid, quercetin 3-β-D glucoside, α Tocopherol, 3-methyl-gallate, Propyl gallate, Propyl benzoate (+) catechin, (-) Epicatechin, Benzoic acid และ D-glucose จากรายงานการศึกษาพบว่าใบมะม่วงมีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิด (Barreto JC, 2008) ได้แก่ Alkaloids, Flavonoids, Saponins, Cardiac glycosides, Resins, Sterols, Benzenoids, Lactones, Terpenes, Balsam, Tannin และมีสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ Polyphenols, Flavonoids, Terpenoids, Steroids, Fatty acids, Mangiferin ส่วนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของมะม่วงพบว่ามีการศึกษาผลของสารสกัดใบมะม่วงจากการสกัดด้วยน้ำ พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาล ลดระดับไขมันในเลือด ลดระดับเอนไซม์ ALP, AST และ ALT และไม่เป็นพิษต่อตับ นอกจากนี้สารสกัดจากใบและเมล็ดมะม่วงจากการสกัดด้วย Ethanol สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดและเพิ่มระดับอินซูลินได้ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* (Du S, 2018) คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจต้องการนำใบมะม่วงซึ่งเป็นสิ่งเหลือใช้ (Waste) หลังจากกระบวนการเก็บเกี่ยวผลผลิตมาพัฒนาวิธีการสกัดสารแมงจิเฟอรินให้ได้ปริมาณมาก รวดเร็ว ประหยัดและมีความบริสุทธิ์ เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อเป็นข้อมูลและนำไปพัฒนาต่อยอด เพิ่มมูลค่าให้กับใบมะม่วงน้ำดอกไม้สมุทรปราการอีกทางหนึ่ง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial agent) ของแมงจิเฟอริน (Mangiferin) ในเบื้องต้นจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการต่อเชื้อ Staphylococci

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดสารแมงจิเฟอรินจากใบมะม่วงน้ำดอกไม้จังหวัดสมุทรปราการ

1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบใบมะม่วง

นำใบมะม่วงล้างให้สะอาด เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน จากนั้นนำไปอบให้แห้งและนำไปบดให้ละเอียด ซึ่งน้ำหนักได้ 4,234 กรัม นำใบมะม่วงบดละเอียด ใส่ถังสกัด เดิมเอทานอล (80%) ลงไป 16 ลิตร หมักทิ้งไว้ 3 วัน โดยกวนบ่อย ๆ กรองผ่านผ้าสี เก็บของเหลวที่กรองได้ (filtrate) ไว้ นำผงมะม่วงไปหมักรอบที่ 2 โดยใช้เอทานอล (80%) 10 ลิตร ทิ้งไว้ 3 วัน หลังจากนั้นนำไปกรองอีกครั้ง เก็บ filtrate แล้วนำไปรวมกับครั้งแรก นำผงใบมะม่วงหมักรอบที่ 3 ด้วยวิธีเดียวกัน กรองแล้วนำ filtrate ที่ได้ไปรวมกับ 2 ครั้งแรก นำ filtrate ไประเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบสีน้ำตาลเข้มปนเขียว น้ำหนัก 1,627.74 กรัม (38.44%)

1.2 การแยกสารแมงจิเฟอรินจากสารสกัดหยาบใบมะม่วงด้วยเอทานอล

เติมสารละลาย 95% ethanol 3 mL/g ลงในสารสกัดหยาบใบมะม่วง กวนที่อุณหภูมิ 60-70°C นาน 2 ชั่วโมง กรองขณะร้อน ล้างตะกอน ด้วยเอทานอลเย็น นำตะกอนไปอบให้แห้ง ซึ่งน้ำหนัก

1.3 การตกผลึกสารบริสุทธิ์แมงจิเฟอริน

เติมเอทานอลลงในสารสกัดแมงจิเฟอรินที่ได้ อุณหภูมิ 60-70°C จนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 °C 24 ชั่วโมง กรองผลึกที่ได้ นำไปอบให้แห้ง แล้วนำไปตรวจสอบเอกลักษณ์

1.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์

พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วย TLC โดยเทียบกับสารมาตรฐานแมงจิเฟอริน

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ต่อเชื้อแบคทีเรีย Staphylococci ด้วยวิธี Agar disk diffusion

2.1 เชื้อแบคทีเรีย Staphylococci ที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้อแบคทีเรีย Staphylococci จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (Clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (Clinical isolate)

2.2 การทดสอบฤทธิ์ของแมงจิเฟอรินเบื้องต้นด้วยวิธี Agar disk diffusion (Bereksi MS, 2018) Sahin F, 2003)

นำเชื้อที่จะทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ มาปรับปริมาณเชื้อให้เท่ากับ 0.5 McFarland standard (10⁸ CFU/mL) ด้วย Normal Saline (NSS) แล้วมาป้ายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) วาง paper disk ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 mm ที่มีสาร Mangiferin ความเข้มข้น 256, 128, 64, 32 µg/mL ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการกระจายเชื้อไว้แล้ว โดยใช้ paper disk ที่มีตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 10 µL/disk เป็นตัวควบคุมผลลบ (Negative control) และใช้ Ciprofloxacin 5 µg/disk เป็นตัวควบคุมผลบวก (Positive control) นำไปบ่มที่ 35±2 °C นาน 18-24 ชั่วโมง แล้วอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone) ที่เกิดขึ้น หน่วยเป็น mm ทำการทดสอบจำนวน 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน (Three-independent experiment) และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

จากการทดสอบสารแมงจิเฟอรินความเข้มข้น 256, 128, 64, 32 µg/mL กับเชื้อแบคทีเรีย Staphylococci จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (Clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (Clinical isolate) จากการศึกษาเบื้องต้นนี้ พบว่าแมงจิเฟอรินความเข้มข้น 256, 128 µg/mL มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* (Clinical isolate) โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (Inhibition zone) 9±0.5, 8±0.5 mm ตามลำดับ ส่วนแมงจิเฟอรินความเข้มข้นอื่นมี Inhibition zone 6 mm โดยมี Ciprofloxacin 5 µg เป็นตัวควบคุมบวก (Positive control) ให้ Inhibition zone 26±0.3 mm ตาม CLSI กำหนด และมี 0.1%DMSO เป็นตัวควบคุมลบ (Negative control) ให้ Inhibition zone 6 mm แสดงดังตารางที่ 1

Table 1 Antimicrobial activity of Mangiferin to Staphylococci

Mangiferin (µg/mL)	Inhibition zone (mm)				
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (clinical isolate)	methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA) (clinical isolate)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (clinical isolate)
256	6±0.5	6±0.5	6±0.4	6±0.5	9±0.5
128	6±0.5	6±0.5	6±0.4	6±0.5	8±0.5
64	6±0.5	6±0.5	6±0.4	6±0.5	6±0.5
32	6±0.5	6±0.5	6±0.4	6±0.5	6±0.5
Ciprofloxacin 5 µg/disk	26±0.3				
0.1%DMSO	6±0.4				

สรุปและการอภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาฤทธิ์ของแมงจิเฟอรินที่สกัดด้วย Ethanol ด้วยวิธี Agar disk diffusion ที่ความเข้มข้น 256, 128, 64, 32 µg/mL กับเชื้อแบคทีเรีย Staphylococci จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (clinical isolate), methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (clinical isolate), *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate) พบว่าแมงจิเฟอรินความเข้มข้น 256, 128 µg/mL มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* (clinical isolate) ได้ปานกลาง ส่วนแมงจิเฟอรินความเข้มข้นอื่นไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ Staphylococci ที่เหลืออีก 4 สายพันธุ์ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Yehia และคณะ (Ramy S Yehia, 2023) พบว่าแมงจิเฟอรินมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexeri* มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ (MIC) เท่ากับ 1.95, 7.81, 7.81, 62.5 µg/mL ตามลำดับ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Singh และคณะ (Shashi Kant Singh, 2012) พบว่าแมงจิเฟอรินมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella virchow* เชื้อราได้แก่ *Thermoascus aurantiacus*, *Aspergillus flavus* ได้ดีมาก อย่างไรก็ตามการศึกษารังนี้ยังเป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นซึ่งจะต้องมีการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อื่น เช่น แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา ต่อไป

รายการอ้างอิง

- Aranya Jutiviboonsuk, Sardsaengjun. C. (2010). Mangiferin in Leaves of Three Thai Mango (*Mangifera indica* L.) Varieties. *Isan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(3),122-129.
- Barreto JC, Trevisan MTS, Hull WE, Erben G, de Brito ES, Pfundstein B, et al. (2008). Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5599-5610.
- Bereksi MS, Hassaine H, Bekhechi C, Abdelouahid DE. (2018). Evaluation of Antibacterial Activity of some Medicinal Plants Extracts Commonly Used in Algerian Traditional Medicine against some Pathogenic Bacteria. *Pharmacogn J*, 10(3), 507-512.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2021). 31st ed., Zone diameter and MIC breakpoint for *Staphylococcus* spp., 64-74.
- Du S, Liu H, Lei T, Xie X, Wang H, He X, et al. (2018). Mangiferin : An effective therapeutic agent against several disorders (Review). *Mol Med Rep*, 18(6), 4775-4786.
- Ramy S. Yehia, Sarah A Aitaim. (2023) An Insight into In Vitro Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxic, and Apoptosis Induction Potential of Mangiferin, a Bioactive Compound Derived from *Mangifera indica*. *Plants*, 12(7),1539; <https://doi.org/10.3390/plants12071539>
- Sahin F, Karaman I, Gulluce M, Oguteu H, Sengul M, Adiguzel A, et al. (2003) Evaluation of antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. *J Ethnopharmacol*, 87, 61-65.
- Shashi Kant Singh, Rupali M Tiwari, Saurabh K Sinha, Chhanda C Danta, Satyendra K Prasad. (2012) Antimicrobial evaluation of mangiferin and its synthesized analogues. *Asian Pacific J of Tropical Biomedicine*. 2(2), 5884-5887. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60329-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60329-3)