ISSN 1686-4522

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE
Vol. 44 (1); January-June (2022), pp. 43-50
https://science.srru.ac.th/kochasarn

Research Article

Antioxidant and antibacterial activity of *Litchi chinensis* Sonn. extracts

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากลิ้นจี่

ศิรินทิพย์ พรมเสนสา[2], ฉัตรลดา หงษ์วิลัย[1], ชนาวิทย์ ปาทา[1], วสุพล คมกล้า[1], ธนกฤต งามแสง[1], ขวัญชัย ศรีทารัตน์[1] และจรินยา ขุนทะวาด[1*]

[1]สาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus.

[2]สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี

Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Nursing, Udon Thani Rajabhat University

Article Info

Received 30 January 2022

Revised 10 April 2022

Accepted 30 May 2022

Abstract

The aims of this research were to compare the antioxidant activity, total phenolic content and antibacterial activity of different parts of the *Litchi chinensis* Sonn. which extracted by 50% and 95% ethanol on *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The analysis of antioxidants by DPPH assay found that the branches extracted by 95% ethanol showed the highest antioxidant activity with IC_{50} values of 0.003 mg/mL. The analysis of total phenolic content found that seed extracted with 50% ethanol had the highest total phenolic content with values of 118.42 mg GAE/mg extract. The antibacterial activity was tested by disc diffusion method. The result showed that leaves extracts had the best inhibition activity on *S. aureus* that have inhibition zone diameter of 12$\pm$0.02 mm, minimal inhibitory concentration (MIC) of 62.5 mg/mL and minimal bactericidal concentration (MBC) of 125.0 mg/mL, respectively. This study shows the properties of different parts of the lychee to provide basic information for future utilization.

Keywords: Antioxidant activity, Total phenolic content, Antibacterial activity

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% และ 95% เอทานอล จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay พบว่า ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดพบในตัวอย่างกิ่งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.003 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบมากที่สุดในเมล็ดที่สกัดด้วย 50% เอทานอล ซึ่งมีค่าเท่ากับ 118.42 mg GAE/mg extract จากการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่า ใบสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดของบริเวณโซนใสเท่ากับ 12+0.02 มิลลิเมตร โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

*Corresponding Author. Email: Jarinya.ktw@gmail.com

และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เท่ากับ 125.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นเกี่ยวกับคุณสมบัติของส่วนต่าง ๆ ของลิ้นจี่ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ ได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิกรวม, ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

1. บทนำ

ในปัจจุบันการดำเนินชีวิตของผู้คนส่วนใหญ่ต้องเผชิญกับความเครียดจากสิ่งเร้าต่าง ๆ ซึ่งความเครียดเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มนุษย์เกิดความเจ็บป่วย และทำให้ร่างกายเกิดภาวะความไม่สมดุลของอนุมูลอิสระจนทำให้มีโรคภัยเกิดขึ้น ซึ่งอนุมูลอิสระคือสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล โดยธรรมชาติของร่างกายสิ่งมีชีวิตจะมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมา เพื่อทำหน้าที่ในการต้านหรือกำจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ซึ่งในพืชผักและผลไม้มักจะมีวิตามินและเกลือแร่ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน สังกะสี และแมงกานีส เป็นต้น [1] ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยลดปัจจัยความเสี่ยงต่อการเป็นโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคความจำเสื่อม โรคเบาหวาน และเกิดความชรา [2] นอกจากนี้ยังมีเชื้อแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้กระจายอยู่ทั่วไปตามสถานที่ต่าง ๆ โดยส่วนใหญ่การป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียสามารถป้องกันได้โดยการทำความสะอาดผิวหนังโดยการล้างมือหรืออาบน้ำตลอดจนใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย แต่การใช้ยาปฏิชีวนะอาจไม่เหมาะกับผู้ที่มีอาการแพ้ง่าย นอกจากนี้หากใช้ยาปฏิชีวนะมากเกินไปจะทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อโรคได้ ซึ่งในปัจจุบันจึงมีนักวิจัยหลายท่านได้ศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ ที่พบได้ในธรรมชาติ และมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น สมอไทย เปลือกทับทิม และใบกฤษณา เป็นต้น [3,4,5]

ลิ้นจี่ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litchi chinensis* Sonn. มีแหล่งกำเนิดในภูมิภาคเขตร้อนแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ผลมีลักษณะทรงกลมรูปไข่ มีเปลือกหุ้มขรุขระ นอกจากลิ้นจี่จะเป็นผลไม้ที่มีรสชาติอร่อยและได้รับความนิยมกันอย่างกว้างขวางแล้ว ส่วนอื่น ๆ ของลิ้นจี่ยังคุณสมบัติมากมาย เช่น สารสกัดจากเมล็ดลิ้นจี่สามารถต้านเชื้อไวรัส และยับยั้ง Tyrosinase [6,7] เนื้อลิ้นจี่มีคุณสมบัติต้านการอักเสบ [8] เปลือกหุ้มผลลิ้นจี่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ยับยั้งมะเร็งเต้านมและมะเร็งตับ และใบลิ้นจี่สามารถยับยั้งการอักเสบได้ [9,10] แต่ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของลิ้นจี่ยังมีน้อยดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ เพื่อหวังว่าข้อมูลที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นประโยชน์ในการนำส่วนเหลือทิ้งจากลิ้นจี่มาพัฒนาให้เกิดประโยชน์ และอาจพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีคุณค่าได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1) สารละลายเอทานอล 95%
2) L-Ascorbic acid
3) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
4) Folin-ciocalteu reagent
5) Gallic acid
6) Sodium carbonate anhydrous
7) เครื่อง Rotary vacuum evaporator
8) เครื่อง Eliza reader
9) เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer
10) สารสกัดหยาบจากเมล็ด ใบ และกิ่งของลิ้นจี่
11) เครื่องแก้ว

การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

นำเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่มาล้างทำความสะอาด แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำส่วนดังกล่าวมาสับให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปบดด้วย

เครื่องบดแบบหยาบ หลังจากนั้นชั่งสมุนไพรในแต่ละส่วนให้ได้ปริมาณ 500 กรัม ใส่ลงในขวดสีชาแล้วเติมเอทานอลที่ความเข้มข้น 50% และ 95% ลงไปในปริมาตร 2,500 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทและเก็บให้พ้นแสง ทำการเขย่าทุกวัน วันละ 2 ครั้ง แช่ทิ้งไว้ 7 วัน ทำการกรองแยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง และกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ และคำนวณหาค่าร้อยละของสารสกัด (%Yield) เก็บสารสกัดที่ได้ใส่ในขวดสีชาและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติอื่น ๆ ต่อไป

การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH Assay)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เริ่มจากการเตรียมสาร DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ แล้วเตรียมสารมาตรฐาน Ascorbic acid ความเข้มข้นในช่วง 0.01-0.10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเตรียมสารสกัดเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ ความเข้มข้นในช่วง 1-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเริ่มจากดูดสารละลาย DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์ ใส่ลงในหลุมของ 96-Well microplates ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารสกัดที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Elisa plate reader วิเคราะห์ผลและรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นยับยั้ง (%inhibition) โดยคำนวณตามสมการ

$$\%\text{inhibition} = \frac{(\text{OD.Control} - \text{OD.Test})}{(\text{OD.Control} - \text{OD.Blank})} \times 100$$

OD.Control = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH + Absolute ethanol

OD.Test = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างและสารมาตรฐาน (Ascorbic acid)

OD.Blank = ค่าการดูดกลืนแสงของ Absolute ethanol

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Folin-Ciocalteu method)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยเริ่มจากเตรียมสารมาตรฐาน Folin-Ciocalteu reagent ในอัตราส่วน 1:10 หลังจากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่ความเข้มข้นช่วง 2-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และเตรียม Sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3) ที่ความเข้มข้น 7.5 % จากนั้นเตรียมสารสกัดเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ ที่ความเข้มข้นเป็น 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การทดสอบทำโดยนำ Gallic acid ที่เตรียมไว้ ดูดใส่ในหลอดทดลองที่มี Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม Na_2CO_3 ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วพักไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องอีกครั้งนาน 90 นาที นำสารที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในตัวอย่างอื่นต่อไป

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ*Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี Disc diffusion method ของสารสกัดจากลิ้นจี่ ด้วยวิธีการนำเชื้อแบคทีเรียใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดปรับค่าความขุ่นให้เท่ากับ McFarland No. 0.5 ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ จุ่มแล้วป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยการนำสารสกัดที่ต้องการทดสอบมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วหยดลงบนแผ่นดิสก์ปราศจากเชื้อปริมาตร 10 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 5 นาที จากนั้นวางบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้แล้วกดลงเบา ๆ ในตำแหน่งที่กำหนดไว้ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง) เมื่อครบกำหนดเวลาจึงวัดขนาดของโซนใส (Inhibition zone) ที่เกิดขึ้นโดยการบันทึกหน่วยเป็นมิลลิเมตร

การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimal bactericidal concentration, MBC)

นำสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ในวิธี Disc diffusion method มาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ โดยการนำเชื้อมาปรับค่าความขุ่นให้ได้เท่ากับ McFarland No. 0.5 จากนั้นทำการเตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้นในช่วง 1.96-250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดูดสารสกัดแต่ละความเข้มข้นไว้ในหลอดทดลองตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในหลอดทดลองของสารสกัดปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อ

ครบกำหนดเวลาทำการอ่านผล โดยค่า MIC สังเกตได้จากหลอดสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรืออาหารเลี้ยงเชื้อไม่ขุ่น จากนั้นนำไปหาค่า MBC โดยนำความเข้มข้นที่ได้จากค่า MIC เกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการแบ่งช่องสำหรับแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 2 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ) โดยค่า MBC สังเกตได้จากไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

ผลการสกัดสารจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่

จากการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ 95% เอทานอล ในอัตราส่วน 1:5 พบว่า ได้สารสกัดของเมล็ดและกิ่งที่มีลักษณะเหนียวข้นสีน้ำตาล และสารสกัดของใบมีลักษณะเหนียวข้นสีเขียว ซึ่งพบว่าค่าร้อยละของสารสกัด (%Yield) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ 95% เอทานอล พบมากที่สุด คือ กิ่ง รองลงมาคือ ใบ และเมล็ด ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 1

จากการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ ที่สกัดด้วย 50% และ 95% เอทานอล พบว่าค่าร้อยละของสารสกัด (%Yield) ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีค่ามากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วย 95% เอทานอล สอดคล้องกับการศึกษาใบกระพังโหมที่สกัดด้วย 50% มีค่า %Yield สูงกว่า 95% เอทานอล แม้ว่าการสกัดจะใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน แต่เนื่องจากตัวทำละลายนั้นมีความเข้มข้นที่ไม่เท่ากัน จึงทำมีให้ความสามารถในการละลายสารได้แตกต่างกัน

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัด

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ 95% เอทานอล ในการวิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐาน Ascorbic acid เป็นตัวควบคุม (Control) ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.037±0.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ผลการวิเคราะห์พบว่า ใบและกิ่งของสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล แต่สารสกัดจากเมล็ดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล โดยสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดคือ กิ่ง รองลงมาคือใบและเมล็ด ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.003±0.00, 0.030±0.00 และ 0.066±0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สารมาตรฐาน Ascorbic acid มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.037±0.00 mg/mL จากการศึกษาพบว่าตัวอย่างที่ศึกษามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า Ascorbic acid ได้แก่ ใบและกิ่งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล และเมล็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล แสดงดังตารางที่ 2

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ พบว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิดจะพบมากที่สุดในเมล็ด รองลงมาคือกิ่ง และใบ ตามลำดับ ซึ่งในสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 118.42±1.56, 52.62±0.10 และ 23.26±0.71 mg GAE/mg extract ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 3

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเมล็ด ใบและกิ่งลิ้นจี่ พบว่าสารสกัดเมล็ดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยสารสกัดเมล็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอลจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีแนวโน้มสูงกว่าเมล็ดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ในขณะที่สารสกัดใบและกิ่ง แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยในสารสกัดใบและกิ่งที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าแต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ต่ำกว่าสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล แสดงดังตารางที่ 2 และ 3

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ พบว่า ส่วนใหญ่สารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดคือ กิ่ง รองลงมาคือ ใบ และเมล็ด ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดจากใบหม่อนที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดใบหม่อนที่สกัดด้วย 50% เอทานอล [11] ทั้งนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดปอกะบิดที่สกัดด้วย 40% เอทานอล มีปริมาณสูงกว่าสารสกัดปอกะบิดที่สกัดด้วย 95% เอทานอล [12] และให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาสาร

สกัดใบสะระแหน่, ใบฝรั่ง และใบแก้ว ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดใบสะระแหน่, ใบฝรั่ง และใบแก้ว ที่สกัดด้วยเอทานอล [13] โดยตัวทำละลาย 50% เอทานอล มีความมีขั้วมากกว่า 95% เอทานอล จึงทำให้มีความสามารถละลายสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นสารประเภทมีขั้วออกมาได้ดีกว่า [14] ในศึกษาครั้งนี้เมื่อนำฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเมล็ด ใบและกิ่งลิ้นจี่เปรียบเทียบกัน พบว่าเมล็ดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ในขณะที่ใบและกิ่งแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง แต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่ำ ซึ่งผลการศึกษาในส่วนของสารสกัดใบและกิ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาสารสกัดจากใบและกิ่งมะรุมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงแต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมต่ำ [15]

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดจากเมล็ด ใบและกิ่งลิ้นจี่ พบว่าสารสกัดจากใบและกิ่งลิ้นจี่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี และเป็นส่วนที่หาง่าย จึงนำมาทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดกิ่งลิ้นจี่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ ในขณะที่สารสกัดใบลิ้นจี่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดของบริเวณโซนใสเท่ากับ 12+0.02 มิลลิเมตร และไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ แสดงดังตารางที่ 4

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากใบและกิ่งลิ้นจี่ พบว่าใบสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้เพียงชนิดเดียว และไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าใบลิ้นจี่มีสารแทนนินที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ [16] ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาสารสกัดผลมะเปรียงที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ [17] และยังมีการศึกษาสารสกัดหยาบจากผลบาร์บาโดสเชอร์รีที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ สายพันธุ์ *E. coli* และ *P. aeruginosa* [18] ทั้งนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อสารสกัดจากพืชได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีโครงสร้างของเนื้อเยื่อชั้นนอกเป็นตัวกั้นการซึมผ่านของสารสกัด ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกไม่พบโครงสร้างนี้ จึงทำให้สารสกัดซึมผ่านเข้าสู่แบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ [19] ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากใบลิ้นจี่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว จึงนำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration, MBC) โดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 125.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 5 พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดีกว่าสมุนไพรบางชนิด เช่น ผลมะปรียง [17] ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสมุนไพรแต่ละชนิดนั้นต่างกัน อาจขึ้นอยู่กับปริมาณสารสำคัญและองค์ประกอบหลักทางเคมีของสมุนไพรในแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน

สรุปผลการศึกษา

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารสกัดจากลิ้นจี่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดกิ่งที่สกัดด้วย 95% เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.003 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล โดยพบมากที่สุดคือเมล็ด มีค่าเท่ากับ 118.42±1.79 mg GAE/ mg extract การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียพบว่า กิ่งไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ ในขณะที่ใบสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีค่าบริเวณโซนใสเท่ากับ 12±0.02 มิลลิเมตร มีค่า MIC และค่า MBC เท่ากับ 62.5 และ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกใช้ส่วนต่าง ๆ ของลิ้นจี่มาใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้ในอนาคต

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณร้อยละสารสกัด (%Yield) ของสารสกัดหยาบจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่ Litchi chinensis Sonn. ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล

ส่วนของพืช	ตัวทำละลาย	น้ำหนัก(g)	น้ำหนักสาร(g)	% Yield
เมล็ด	50% เอทานอล	500	31.95	6.39
	95% เอทานอล	500	2125	4.25
ใบ	50% เอทานอล	500	35.30	7.06
	95% เอทานอล	500	31.95	6.39
กิ่ง	50% เอทานอล	500	38.00	7.61
	95% เอทานอล	500	36.25	7.25

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่

ส่วนของสารสกัด	DPPH IC_{50} (mg/mL)	
	50% เอทานอล	95% เอทานอล
เมล็ด	0.022 ± 0.00^{cde}	0.066 ± 0.01^{abcdfg}
ใบ	0.528 ± 0.02^{abdefg}	0.030 ± 0.00^{cdeg}
กิ่ง	0.585 ± 0.00^{abcefg}	0.003 ± 0.00^{acdef}

Ascorbic acid มีค่า IC50 เท่ากับ 0.037 ± 0.00 mg/mL^{cdeg}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่

a: เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ascorbic acid เป็นตัวควบคุม

b: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล

c: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

d: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบใบลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล

e: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบใบลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

f: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกิ่งลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล

g: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกิ่งลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเมล็ด ใบ และกิ่งลิ้นจี่

ส่วนของสารสกัด	Total phenolic content (mg GAE/mg extract)	
	50% เอทานอล	95% เอทานอล
เมล็ด	118.42 ± 1.56^{bcdef}	101.79 ± 1.83^{abcef}
ใบ	23.26 ± 0.71^{acdef}	4.38 ± 0.11^{abcdf}
กิ่ง	52.62 ± 0.10^{abdef}	11.32 ± 0.42^{abcde}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่

a: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล

b: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

c: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบใบลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล

d: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบใบลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

e: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกิ่งลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 50% เอทานอล

f: เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบกิ่งลิ้นจี่ที่สกัดด้วย 95% เอทานอล

ตารางที่ 4 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ที่ทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion method ของสารสกัดจากใบและกิ่งลิ้นจี่

ส่วนของสารสกัด	ขนาดของบริเวณโซนใส (mm) (Mean±SD)		
	Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*
ใบ	12.00±0.02*	NI	NI
กิ่ง	NI	NI	NI
Tetracycline	30.00±0.04	29.00±0.00	14.80±0.04
น้ำกลั่น	NI	NI	NI

หมายเหตุ : NI หมายถึง no inhibition zone

สัญลักษณ์ (*) คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ Tetracycline

ตารางที่ 5 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบลิ้นจี่ต่อเชื้อ Staphylococcus aureus

ส่วนของสารสกัด	*Staphylococcus aureus*	
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
ใบ	62.50	125.00

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ที่ให้การสนับสนุนในการใช้ห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสิ่งอำนวยความสะดวกในการศึกษาจนทำให้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. ศรมน สุทิน. (2559). วิตามินกับอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*. 2(1), 80-92.
2. บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 22(3), 275-286.
3. Buachoon, N., Singsuk, N., Kanran, P. & Kaeoprasoet, P. (2018). Antioxidant activity of crude extract from *Terminalia chebulia*. *VRU Research and development journal science and technology*, 13(2), 98-107.
4. Duangkaew, J. & Petchlert, C. (2015). Antioxidant activity of Honey pomegranate and Emerald pomegranate *In: Proceedings The 7th National Science Research Conference 2015*: .30-31 March 2015. Naresuan University.
5. Pranakhon, R. (2016). Anti-oxidant activity of *Aquilaria sinensis* crude extracts. *Songklanakarin journal of plant science*, 3, 21-24.
6. Xu, X., Xie, H., Hao, J., Jiang, Y. & Wei, X. (2010). Eudesmane sesquiterpene glucosides from lychee seed and their cytotoxic activity. *Food chemistry*, (4), 1123–1126.
7. Prasad, K. N., Yang, B, Yang, S., Chen, Y., Zhao, M., Ashraf, M., & Jiang, Y. (2009). Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. *Food chemistry*, 116(1), 1-7.
8. Bhoopat, L., Srichairatanakool, S., Kanjanapothi, D., Taesotikul, T., Thananchai, H. & Bhoopat, T. (2011). Hepatoprotective effects of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.): a combination of antioxidant and anti-apoptotic activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 136(1), 55-66.

9. Wang, X., Yuan, S., Wang, J., Lin, P., Liu, G., Lu, Y., Zhang, J., Wang, W. & Wei, Y. (2006). Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer in vitro and in vivo. *Toxicology and applied pharmacology*, (2), 168–178.
10. Besra, S., Sharma, R., & Gomes A. (1996). Antiinflammatory effect of petroleum ether extract of leaves of *Litchi chinensis* Gaertn. (Sapindaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 54(1), 1-6.
11. นันทนิตย์ สุรพันธุ์. 2556. *ผลของการใช้ผงบุกร่วมกับมอลโตเดกซ์ทรินต่อคุณภาพของสารสกัดจากใบหม่อนโดยการอบแห้งแบบพ่นฝอย*. ปริญญานิพนธ์การศึกษามหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.
12. ชมพูนุช อุทัยรัตน์, เอกรัฐ ศรีสุข & กล่าวขวัญ ศรีสุข. (2560). ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการอบแห้งและสารสกัดต่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลปอกะบิด. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*. *22*(1), 151-165.
13. ภาเกล้า ภูมิใหญ่ & ชญาณิศา สุพา. (2558). ตัวทำละลายที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากพืชสมุนไพร. *รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ครั้งที่ 2 (627 - 635)*, 22 ธันวาคม 2558 กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.
14. ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์. (2562). ผลของความเข้มข้นที่แตกต่างกันของเอทานอลต่อการสกัดสารสกัดหยาบและฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีของใบแก้ว. *วารสารเกษตรนเรศวร*. *16*(1), 1-8.
15. Jantanu, S., Yuentrakul, P. & Jirapong, C. (2016). Inhibition of *Streptococcus pyogenes* by edible film containing *Moringa oleifera* Lam. extracts. *Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal*, 2(2), 20-27.
16. Wafa, N., Sofianeb, G. & Mouhamed, K. (2016). The antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids and tannins extracted from *Phlomis bovei* De Noé. *European journal of experimental biology*, 6(3), 55-61.
17. อรอนงค์ สมทรัพย์, กรกนก พิบูลย์ผล, คอลิฟ ปะหยังหลี & จารุวรรณ แดงโรจน์. (2562). ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผลมะเปรียง. *วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์*. *11*(2), 156-167.
18. Supaphon, P. (2020). Antimicrobial, Antioxidant and anti-alpha-glucosidase activities of dietary spice and medicinal herb extracts. Int J Food Microbiol, 117(1), 112-119.
19. Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D. & Corke, H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. Int J Food Microbiol, 117(1), 112-119.