# การเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดของสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala* ) ด้วยสารดูดซับ

# Increasing antimicrobial efficiency of Ma-kiang (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala* ) seed extract using adsorbents

นันทนิกส์ บาลเมือง[1] , สุเมธ ตันตะเธียร[2*] และ ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน[3]

Nunthanics Balmuang [1],Sumate Tantratien [2*] and Thirawan Chanritisen[3]

[1]*นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท ปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330*

[2*]*อาจารย์ประจำ หลักสูตรเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท ปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330*

[3]*อาจารย์ประจำ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา จังหวัดลำปาง พิชัย เมือง ลำปาง 5200*

[1*]*Graduate student in Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phayathai Road,Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand*

[2]*Lecturer in in Food Technology , Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phayathai Road,Pathumwan, Bangkok, 10330, Thailand*

[3]*Lecturer of in Agricultural Technology Research Institute, Rajamangala University of Technology Lanna, Pichai, Muang District, Lampang, 52000, Thailand*

[*]*Corresponding author, E mail:sumate.t@chula.ac.th*

---

**บทคัดย่อ**

มะเกี๋ยง (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) พบในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย สารสกัดหยาบจากเมล็ดมะเกี๋ยงมีสารประกอบฟีนอลิกและมีคุณสมบัติต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบด้วยการปรับปรุงความบริสุทธิ์ของสารประกอบฟีนอลิกด้วยการใช้สารดูดซับ ได้แก่ เรซินรูพรุนขนาดใหญ่ (MAR), ถ่านกัมมันต์ (PAC) และโพลีไวนิล-ไพรโรริดอน (PVPP) โดยผ่านกระบวนการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยงด้วยสารดูดซับ จากการศึกษาประสิทธิภาพของการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกจากสารดูดซับพบว่า สารดูดซับ MAR, PACและ PVPP มีร้อยละการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ (91.01±0.57, 64.95±1.42), (83.30±0.16, 9.86±0.28 ) และ (76.51±2.30, 36.15±2.09) ตามลำดับ โดยตัวอย่างสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงผ่านสารดูดซับทั้ง 3 ชนิด ถูกนำไปใช้ในการทดสอบการต้านแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Salmonella* typhimurium) และแบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus*) โดยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น พบว่าสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับทุกชนิดมีค่าเส้นผ่าศูนย์กลางโซนการยับยั้งมากกว่าสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ

***คำสำคัญ:*** *สารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง การต้านแบคทีเรีย สารดูดซับ*

**Abstract**

Ma-kiang (*Cleistocalyx nervosum* var. *paniala*) is widely found in the north of Thailand. The alcoholic extract of the seeds contains many substances including phenolic compounds, which are responsible for antimicrobial activity. The objective of this work was to increase the antimicrobial capacity by improving the purity of phenolic extract using adsorbents such as macroporous resin (MAR), powdered activated carbon (PAC) and polyvinyl-pyrrolidone (PVPP). The process included adsorption and desorption of extracts by adsorbents. The result showed that %adsorption phenolic compound ratio and %desorption phenolic compound ratio of MAR, PAC and PVPP were 91.01±0.57, 64.95±1.42; 83.30±0.16, 9.86±0.28; and 76.51±2.30, 36.15±2.09 respectively. The antimicrobial activities of the extracts were investigated by using paper disk diffusion method (DDM). The results showed that the Ma-kiang seed extracts partially purified through adsorbents in our experiment demonstrated larger inhibition zone as compared with crude extract and both of them could inhibit more efficiently on gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) than gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium).

***Keywords:*** *Ma-kiang seed extracts, Antimicrobial activity, Adsorbents*

---

**1. บทนำ**

มะเกี๋ยงเป็นพืชในอันดับ Myrtales จัดอยู่ในวงศ์ Myrtaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cleistocalyx nervosum* var. *paniala* เป็นพืชพื้นบ้านทางภาคเหนือของประเทศไทยที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งส่วนของผล, เมล็ด และลำต้น (ทวีพร คุณจักร, 2545) ในด้านอุตสาหกรรมมักนิยมนำผลมะเกี๋ยงไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เช่นแยมมะเกี๋ยง ไวน์มะเกี๋ยง น้ำมะเกี๋ยง เป็นต้น ทำให้เมล็ดมะเกี๋ยงเป็นของเสียจากกระบวนการแปรรูปดังกล่าว ทั้งที่เมล็ดมะเกี๋ยงมีสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณสูง ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และต้านการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย นอกจากนี้เมื่อสกัดแยกส่วนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และตรวจพิสูจน์ชนิดสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงด้วยเอทิลอะซิเตต พบสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆเช่น กรดแกลลิก (gallic acid) กรดอัลลาจิก (ellagic acid) เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ในกลุ่มชาลโคน (chalcone) (พิมพ์ใจ อายา, 2551) นอกจากนี้ในสารสกัดเอทานอลของดอกตูมของหว้าขาว (*Cleistocalyx operculatus* Roxb) ซึ่งเป็นตระกูลเดียวกับมะเกี๋ยงมีสารพฤกษเคมีได้แก่ สเตอรอล, ฟลาโวโนน และชาลโคนเป็นองค์ประกอบหลัก มีสมบัติต้านการเจริญแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ ซึ่งสามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* และ *Listeria monocytogenes* โดยมีค่า MIC (minimum inhibitory concentration) อยู่ในช่วง 0.25–1 mg/ml และมีค่า MBC (minimum bactericidal concentration) อยู่ในช่วงระหว่าง 1-2 mg/ml (Dung และคณะ, 2008) นอกจากสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงมีองค์ประกอบหลักคือสารประกอบฟีนอลิกแล้ว ยังมีสารปนเปื้อนต่างๆอีกด้วย เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน สารขี้ผึ้ง เป็นต้น ทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์จำกัด จึงจำเป็นต้องเพิ่มอัตราส่วนสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธีการดูดซับเป็นเทคนิคที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและได้รับอนุญาตให้ใช้ในการทำให้สารประกอบที่ต้องการนั้นมีความบริสุทธิ์มากขึ้นจาก

สารละลาย โดยเรซินชนิดรูพรุนขนาดใหญ่ (MAR) โพลีไวนิลไพรโรริดอน (PVPP) ถ่านกัมมันต์ (PAC) นิยมนำมาใช้เป็นสารดูดซับสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบจากพืช ซึ่งทั้ง 3 ชนิดมีกลไกในการดูดซับสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกัน (Soto และคณะ, 2011)

การดูดซับของ MAR เป็นการดูดซับโดยอาศัยสมบัติทางเคมีจากโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกแทรกผ่านรวมเข้าอยู่ด้วยกันกับโมเลกุลที่อยู่ระหว่างพื้นผิวของเรซินด้วยสมบัติความมีขั้วของโมเลกุล และการดูดซับโดยอาศัยสมบัติทางกายภาพจากการแพร่ของโมเลกุลสารประกอบฟีนอลิกเข้าไปภายในรูพรุนและถูกดูดซับไว้ภายในพื้นที่ผิวของสารดูดซับ ส่วนการดูดซับสารประกอบฟีนอลิกของ PVPP จะอาศัยคุณสมบัติทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกด้วยพันธะไฮโดรเจนกับ PVPP และส่วนประกอบที่เป็นวงแหวนอะโรมาติกของ PVPP ส่วนถ่านกัมมันต์สามารถดูดซับสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธีทางกายภาพเพียงอย่างเดียวด้วยพื้นที่ผิวที่ขรุขระ ซึ่งสามารถดูดซับสารอินทรีย์อื่นๆที่เป็นและไม่เป็นสารประกอบฟีนอลิก ด้วยกลไกการดูดซับสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันนี้ทำความสามารถในการดูดซับสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกัน ส่งผลต่อปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้

**2. วัตถุประสงค์**

1. เพื่อศึกษาสารดูดซับที่เหมาะสมต่อความสามารถในการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิก

2. เพื่อศึกษาการเพิ่มอัตราส่วนของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง

3. เพื่อศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับทั้ง 3 ชนิด

**3. วิธีดำเนินการวิจัย**

3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง

นำเมล็ดออกจากเนื้อมะเกี๋ยง แล้วอบแห้งให้มีความชื้นไม่เกิน 18% นำมาบดให้เป็นผงและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช จากนั้นจึงสกัดผงเมล็ดมะเกี๋ยงโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 50% ในอัตราส่วน 1:5 และสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้มาเหวี่ยงแยกด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 3500 rpm เวลา 20 นาที นำส่วนผสมที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45°C หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาละลายด้วยน้ำกลั่นและเก็บรักษาสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายด้วยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ -18°C จนกว่าจะนำมาใช้ (Dung และคณะ, 2008)

3.2 ศึกษาการใช้สารดูดซับในการเพิ่มอัตราส่วนของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง

นำสารดูดซับชนิดต่างๆ ได้แก่ เรซินชนิดรูพรุนขนาดใหญ่ (MAR) ชื่อทางการค้าว่า Diaion® HP-2MG ทำมาจากวัสดุ polymethacrylate, โพลีไวนิล-ไพรโรริดอน (PVPP) และถ่านกัมมันต์ชนิดผง (PAC) ปริมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในสารละลายสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยงที่ความเข้มข้น 12.5 mg/ml ปริมาตร 30 ml เขย่าด้วยเครื่อง water-bath shaker ที่ 200 rpm อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง

นำสารดูดซับที่อยู่บนกระดาษกรองมาทำการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกจากสารดูดซับ ด้วยสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 50% (v/v) ปริมาตร

60 ml ระเหยตัวทำละลายเอทานอลออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ 45°C ที่ 120 rpm. แยกส่วนที่เป็นของแข็งมาละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 ml แล้วนำไปอบแห้งที่เครื่องอบแห้งสุญญากาศ นำไปชั่งน้ำหนักสารสกัดแห้งที่ได้ และเก็บรักษาสารสกัดในขวดแก้ว สีชาภายใต้สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ -18°C ในที่มืด (ดัดแปลงจากวิธีของ Lin และคณะ, 2014)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method (Chen และคณะ, 2011) รายงานผลการทดลองเป็นค่า Gallic acid equivalent (GAE) เทียบกับปริมาณตัวอย่าง (mg GAE/g dry weight)

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี LSD

3.3 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียก่อโรคของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านสารดูดซับ

3.3.1 เตรียมตัวอย่างแบคทีเรีย

แบคทีเรียก่อโรคที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 เตรียมแบคทีเรียทั้ง *S. aureus*, *S.* Typhimurium และ *E. coli* โดยถ่ายเชื้อลงในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร MHB (mueller hinton broth) บ่มสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 37±2°C เป็นเวลา 18±2 ชั่วโมง หลังจากนั้นปรับค่าความขุ่นด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85 ให้มีค่าประมาณ 0.08-0.13 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร โดยเจือจางให้มีความเข้มข้น $10^6$ CFU/ml

3.3.2 ทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธีดิสก์ดิฟฟิวชั่น (disc diffusion method: DDM) ตามวิธีของ Chandrasekaran และ Venkatesalu (2004) ปิเปตสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA เกลี่ยให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเทคนิคสเปรดเพลท (spread plate) ทิ้งไว้ให้ส่วนของผิวหน้าอาหารแห้ง แล้วจึงปิเปตสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับต่างๆ ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นกระดาษกรองปลอดเชื้อ (sterile paper disc) เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37±2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง รายงานผลในหน่วยมิลลิเมตร(mm)

**4. ผลการวิจัย**

4.1 ศึกษาผลของสารดูดซับต่อประสิทธิภาพการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง

จากตารางที่ 1 พบว่าประสิทธิภาพการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกของสารดูดซับทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาการดูดซับของสารประกอบฟีนอลิกของ MAR มีมากกว่า PAC และ PVPP ตามลำดับ และ MAR มีร้อยละของการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ตามมาด้วย PVPP และ PAC ตามลำดับ

เมื่อนำสารสกัดแห้งที่ได้จากกระบวนการดูดซับและปลดปล่อย มาละลายด้วยน้ำกลั่น ผลแสดงในภาพที่ 1 พบว่าสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับ MAR มีองค์ประกอบที่เป็นสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า PVPP สารสกัดหยาบ และ PACตามลำดับ

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับ

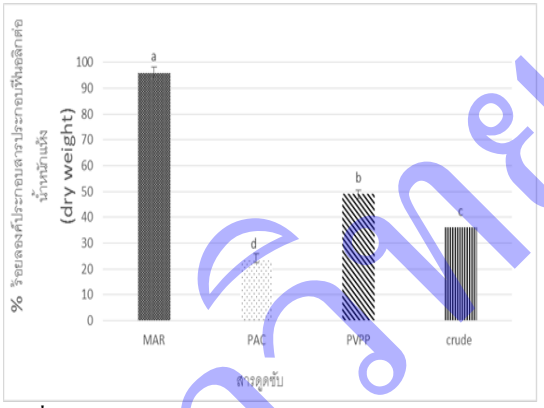
นำสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยงที่ได้ผ่านสารดูดซับทุกชนิดที่ความเข้มข้น 25 mg/ml มาทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี DDM ซึ่งเป็นการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใส

ที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หากขนาดของโซนใสใหญ่บ่งชี้ถึงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ดี

**ตารางที่ 1** ผลของสารดูดซับต่อประสิทธิภาพการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง

| สารดูดซับ | ประสิทธิภาพการดูดซับและปลดปล่อยของสารดูดซับชนิดต่างๆ | |
|---|---|---|
| | ร้อยละการดูดซับสารประกอบฟีนอลิก | ร้อยละการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิก |
| MAR | 91.01$^{a}$±0.57 | 64.95$^{a}$±1.42 |
| PAC | 83.30$^{c}$±0.16 | 9.86$^{c}$±0.28 |
| PVPP | 76.51$^{b}$±2.30 | 36.15$^{b}$±2.09 |

หมายเหตุ a,b,c,… หมายถึง ค่าเฉลี่ยข้อมูลในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)




**รูปที่ 1** ร้อยละของสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับชนิดต่างๆเทียบกับสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง (crude)

หมายเหตุ a,b,c,… หมายถึง ค่าเฉลี่ยข้อมูลในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบซึ่งมีโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ที่แตกต่างกัน โซนการยับยั้งของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านสารดูดซับแสดงในตารางที่ 2 พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านสารดูดซับสามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยมีโซนการยับยั้งสำหรับแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* และ*S.* Thyphimurium) จากการทดลอง พบว่าโซนการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบระหว่างผลิตภัณฑ์ที่ผ่านสารดูดซับ MAR และ PVPP พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยมีค่ามากกว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านสารดูดซับ PAC ตามด้วยสารสกัดหยาบ ส่วนโซนการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านสารดูดซับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยผลิตภัณฑ์ที่ผ่านสารดูดซับ PVPP มีค่ามากที่สุดตามด้วย MAR, PAC และสารสกัดหยาบของเมล็ดมะเกี๋ยงตามลำดับ

**ตารางที่ 2** ค่าเส้นผ่าศูนย์กลางโซนการยับยั้งของสารสกัดของเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับในการต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella* Typhimurium

| แบคทีเรียก่อโรค | ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านสารดูดซับ | เส้นผ่านศูนย์กลางโซนการยับยั้ง (mm) |
|---|---|---|
| ***Escherichia coli*** | MAR | 12.24$^{a}$± 0.85 |
| | PAC | 6.71$^{b}$± 0.10 |
| | PVPP | 12.30$^{a}$±0.86 |
| | สารสกัดหยาบ | 6.09$^{c}$±0.04 |
| ***Salmonella* Thyphimurium** | MAR | 12.62$^{a}$± 0.12 |
| | PAC | 7.08$^{b}$± 0.13 |
| | PVPP | 12.54$^{a}$±0.16 |
| | สารสกัดหยาบ | 6.14$^{c}$±0.05 |
| ***Staphylococcus aureus*** | MAR | 14.33$^{b}$± 1.07 |
| | PAC | 8.79$^{c}$± 0.16 |
| | PVPP | 14.65$^{a}$±0.71 |
| | สารสกัดหยาบ | 6.79$^{d}$±0.14 |

หมายเหตุ a,b,c,…หมายถึง ค่าเฉลี่ยข้อมูลในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

**5. การอภิปรายผล**

ความสามารถในการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกของสารดูดซับมีผลต่อการลดปริมาณสิ่งปนเปื้อนในสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง เพื่อให้ได้สารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของแบคทีเรีย และเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง

หลายปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติการดูดซับของสารดูดซับ ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญคือกลไกการดูดซับสารประกอบฟีนอลิกของสารดูดซับ ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า MAR มีประสิทธิภาพในการดูดซับสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด ตามด้วย PAC และ PVPP จากงานวิจัยของ Couteu และ Mathaly (1996) ได้ศึกษาร้อยละการดูดซับของกรดเฟอรูริกซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบสารดูดซับ 3 ชนิดได้แก่ ถ่านกัมมันต์ชนิดผง (PAC), เรซินรูพรุนขนาดใหญ่ชนิด XAD และ โพลีไวนิล-ไพรโรริดอน (PVPP) พบว่าร้อยละการดูดซับกรดเฟอรูริกของ PAC สูงที่สุด ตามด้วย XAD และ PVPP โดยมีค่าเท่ากับ 89, 61 และ 41 ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นเพราะกลไกการดูดซับที่แตกต่างกันของสารดูดซับส่งผลต่อชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้ (การเลือกใช้ MAR ที่เหมาะสมกับคุณสมบัติของสารประกอบฟีนอลิกที่ต้องการทำให้สามารถดูดซับสารประกอบฟีนอลิกได้ดี) He และ Xia (2008) รายงานว่า MAR ที่มีสมบัติขั้วปานกลางสามารถดูดซับสารประกอบฟีนอลิกได้แก่ Gallic acid, Ellagic acid, Corilagin, Hyperin และ Kaempferol-3 -glucopyranoside ในสารสกัดหยาบ *Canarium album* ส่วน PAC สามารถดูดซับสารประกอบอินทรีย์รวมทั้งสารประกอบฟีนอลิกเชิงซ้อน ทำให้สามารถดูดซับสารประกอบดังกล่าวได้ดีแต่ไม่มีความเฉพาะเจาะจง (Sun และคณะ,2015) และ PVPP สามารถดูดซับสารประกอบฟีนอลิกได้ดีได้แก่ Catechin ,Epicatechin, Vaillic acid, Syringic acid, Gallic acid, Cinnamic acid, Caffeic acid, Ferulic acid, Chalcone, Quercetrin, Kaempferol และ Rutin (Paulo และคณะ, 2010)

อีกปัจจัยหนึ่งคือการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกจากสารดูดซับ เนื่องจากสามารถนำไปประยุกต์ทางด้านคุณสมบัติทางเคมีและสมบัติการต้านจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นการเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกจากสารดูดซับจึงมีความสำคัญ ในงานวิจัยนี้จึงใช้สารละลายเอทานอลร้อยละ 50 โดยปริมาตร ซึ่งมีขั้วปานกลาง (เพ็ญวิภา, 2556) เนื่องจากปลอดภัยและความมีขั้วใกล้เคียงกับกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกหลักที่มีในสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยง ได้แก่ กรดแกลลิกและกรดอัลลาจิก จากการทดลองพบว่า ร้อยละการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกของ MAR มีค่ามากที่สุด โดยมีร้อยละการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 64.95± 1.42 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการปลดปล่อยกรดโรสมารินิกซึ่งเป็นสารประกอบของฟีนอลิกในสารสกัดใบ *Rabdosia serra* (MAXIM.) HARA โดยใช้เรซินชนิดรูพรุนขนาดใหญ่ XAD-7HP โดยมีร้อยละ 63.50±1.04 (Lin และคณะ, 2014)

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับทั้ง 3 ชนิด พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียมากกว่าสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง เนื่องจากกลไกในการดูดซับของสารดูดซับสามารถดูดซับและการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกที่มีความสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้มากขึ้น อีกทั้งยังเป็นการลดสิ่งปนเปื้อนที่อยู่ในสารสกัดหยาบอีกด้วย โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารสกัดหยาบของเมล็ดมะเกี๋ยง ได้แก่ กรดแกลลิกและกรดอัลลาจิก (พิมพ์ใจ, 2551) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยทำลายเยื่อหุ้ม

เซลล์ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก รวมทั้งยับยั้งเมทาบอลิซึมของเชื้อแบคทีเรียทำให้เชื้อแบคทีเรียถูกยับยั้งและทำลายในที่สุด

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 2 เมื่อทดสอบการต้านจุลินทรีย์กับเชื้อ *S.* Typhimurium และ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ พบว่าโซนการยับยั้งของสารสกัดที่ผ่านสารดูดซับ MAR และPVPP ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยให้โซนการยับยั้งใหญ่กว่า PAC และสารสกัดหยาบของเมล็ดมะเกี๋ยง ตามลำดับ โดยสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับ MAR และPVPP มีโซนการยับยั้งไม่แตกต่างกันนั้น ทั้งที่มีร้อยละขององค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกที่ปลดปล่อยต่างกัน อาจมีปัจจัยเนื่องมาจากชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการผ่านสารดูดซับ ซึ่งมีความสำคัญในการยับยั้งแบคทีเรีย

ส่วนการทดสอบการต้านแบคทีเรียกับเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก พบว่าการใช้สารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับทุกชนิดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับ PVPP มีโซนการยับยั้งมากที่สุดตามด้วย MAR, PAC และสารสกัดหยาบของเมล็ดมะเกี๋ยงตามลำดับ อาจมีปัจจัยของชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการผ่านสารดูดซับ PVPP โดย PVPP สามารถดูดซับสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มที่เข้าไปทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมีการรายงานว่า PVPP จะสามารถดูดซับสารประกอบฟีนอลิกได้ดีในกลุ่มชาลโคน (chalcone) ซึ่งมีอยู่ในสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง (พิมพ์ใจ, 2551) โดยกลไกในการยับยั้งของสารประกอบฟีนอลิกกลุ่มดังกล่าวนั้นจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียจะทำให้เกิดการรั่วซึมและเกาะกลุ่มกัน เป็นผลให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียหน้าที่ในการควบคุมการผ่านเข้า-ออกของสาร โดยการเปลี่ยนแปลงนี้เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เซลล์แบคทีเรียถูกทำลาย (Cowan ,1999) ซึ่งมีความสำคัญในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* เนื่องจากมีชั้นเพปทิโดไกลแคนหนาในโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ แต่ไม่มีเยื่อหุ้มชั้นนอกเหมือนแบคทีเรีย *S.* Typhimurium และ *E. coli* (Brown และคณะ, 2015) จากผลการทดลองนี้พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ปลดปล่อยจากสารดูดซับเพียงอย่างเดียวไม่สามารถอธิบายผลการทดลองนี้ได้ หากขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการผ่านสารดูดซับ ซึ่งมีความสำคัญในการยับยั้งแบคทีเรีย

## 6. บทสรุป

การใช้สารดูดซับที่มีความสามารถในการดูดซับและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกันมีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และสามารถเพิ่มอัตราส่วนสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง ทำให้มีประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบเมล็ดมะเกี๋ยง

ควรศึกษาการใช้สารสกัดเมล็ดมะเกี๋ยงที่ผ่านสารดูดซับเรซินรูพรุนขนาดใหญ่ (MAR)ในการต้านแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆ เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อการควบคุมจุลินทรีย์ในพืชผักและผลไม้หรืออาหารประเภทอื่น

## 7. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนเครื่องอุปกรณ์ต่างๆและสถานที่ในการทำวิจัย
และ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา จังหวัดลำปาง ที่เอื้อเฟื้อผลมะเกี๋ยงสดอันเป็นวัตถุดิบหลักในงานวิจัยนี้

**8. เอกสารอ้างอิง**


พิมพ์ใจ อายา (2551). องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ของเมล็ดมะเกี๋ยง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เพ็ญวิภา บัลลังโพธิ์ (2556). ประสิทธิภาพของสารสกัดเมล็ดหว้า Syzygium cumini (L.) Skeels ต่อการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* และการประยุกต์กับใบโหระพา. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ทวีพร คุณจักร (2545). มะเกี๋ยง : พืชในโครงการอนุรักษ์. กระทรวงศึกษาธิการ. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง.

Brown, L., Casadevall, A., Rosales, R. P., and Wolf, J. M. (2015). Through the wall: extracellular vesicles in gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nature Reviews Microbiology* 13, 620–630.

Chandrasekaran, M.; Venkatesalu, V., (2004) Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. *Journal Ethnophamacology* 91, 105-108.

Chen, F., Lin, J., Wang, Z., and Zheng, N. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from Syzygium jambos seeds and optimization by response surface methodology. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5, 2411-2419.

CLSI (2006). "Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow gerobically; approved standard—seven edition," Clinical and Laboratory Standards Institute USA.

Cowan,M.M.(1999). Plant production as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology*. 564-582.

Dung, N. T., Kang, S .K. and Kim, J. M., (2008). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3632–3639.

He, Z. and Xia, W. (2008). Preparative separation and purification of phenolic compounds from *Canarium album* L. by macroporous resins. *Journal of food science* 88, 493–498.

Lin, L., Zhao, H., Dong, Yi., Yang, B. and Zhao,M. (2012). Macroporous resin purification behavior of phenolics and rosmarinic acid from Rabdosia serra (MAXIM.) HARA leaf. *Food Chemistry* 130, 417–424.

Paulo, J. M., Joana, S. V., Luís , M. G., alves, J. G., Pacheco, L. F. G., and Aquiles, A. B. (2010). Isolation of phenolic compounds from hop extracts using polyvinylpolypyrrolidone: Characterization by high-performance liquid chromatography–diode array detection–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1217, 3258–3268.

Sun, P. C., Liu, Y., Yi, Y. T., Li, H. J., Fan, P. and Xia, C. H. (2015). Preliminary enrichment and separation of chlorogenic acid from Helianthus

tuberosus L. leaves extract by macroporous resins. *Food Chemistry* 168, 55–62.

Soto, M. L., Moure, A., Dominguez, H., Parajo, J. C. (2011). Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: a review. *Journal of Food Engineering* 105, 1–27.

มหาวิทยาลัยรังสิต