KKU Res. J. 2012; 17(6):880-894
http : //resjournal.kku.ac.th

ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้บางชนิด
Antibacterial Activity of Some Fruit-Peel Extracts

สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, เทียนชัย น่วมเศรษฐี, เพชรลดา เดชายืนยง*
Sukon Tantipaibulvut, Thianchai Nuamsetti, Petlada Dechayuenyong*

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี
**Correspondent author: sukon.tan@kmutt.ac.th*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ ทุเรียนพันธุ์หมอนทอง มังคุดสุก ส้มเขียวหวาน กล้วยน้ำว้าดิบ และหมากสงดิบ เมื่อสกัดด้วยน้ำร้อน เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และอะซิโตน จากการทดลองพบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยอะซิโตนให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบ (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium*) สูงที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) น้อยกว่า 195.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดจากเปลือกทุเรียนด้วยอะซิโตน มีค่า MIC ต่อ *B. subtilis* และ *S. typhimurium* เท่ากับ 373 และ 273 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีค่า MIC ต่อ *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากัน คือ 2,984 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากเปลือกผลไม้ทุกชนิดที่ทดสอบด้วยอะซิโตนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำร้อนและสารสกัดด้วยเอทานอล และพบว่า ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบในเปลือกผลไม้ นอกจากนี้ เปลือกผลไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษาสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

Abstract

This research studied about antibacterial activity and the total phenolic content of five kinds of fruit peels, such as durian, mangosteen, orange, banana, and betel nut, extracted by using hot water, 95% ethanol and acetone. The result showed that acetone extract of mangosteen peels had the highest antibacterial activity against all bacteria tested (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*) with the MIC less than 195.7 mg/ml. The next was followed by the acetone extract of durian peels with the MIC of 373 and 273 mg/ml against *B. subtilis* and *S. typhimurium*, respectively, and the MIC of 2984 mg/ml against *S. aureus* and *E. coli*. All acetone extracts have the highest total phenolic content and the antibacterial activity was related to the total phenolic content. Furthermore, Gram positive bacteria were more sensitive to all fruit-peel extracts than Gram negative bacteria.

คำสำคัญ : เปลือกผลไม้ ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

Keywords: Fruit peels, antibacterial activity, Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria, total phenolic content

1. บทนำ

โรคติดเชื้อนับเป็นสาเหตุการเสียชีวิตที่สำคัญสาเหตุหนึ่งในปัจจุบัน เนื่องจากปริมาณเชื้อโรคที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ทำให้โอกาสที่จะรักษาโรคติดเชื้อเหล่านี้ให้หายเป็นไปได้ยากยิ่งขึ้น จึงได้เริ่มมีการค้นหาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมาใช้ในการรักษา เนื่องจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเหล่านี้มีความหลากหลายทางเคมี โอกาสที่ทำให้เชื้อโรคดื้อยาจึงมีน้อยกว่าการใช้ยาเคมีสังเคราะห์ (1) และคนไทยในอดีตก่อนที่จะมีการนำยาเคมีสังเคราะห์แผนปัจจุบันมาใช้ก็นิยมใช้สมุนไพรกันเป็นจำนวนมาก

พืชสมุนไพรผลิตเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่มีคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์เป็นจำนวนมาก ทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะใช้เดี่ยวหรือใช้ร่วมกันมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ สารเคมีหลากชนิดที่พืชผลิตขึ้นน่าจะมีส่วนสำคัญในการป้องกันพืชจากโรคติดเชื้อ องค์ประกอบของสารยับยั้งจุลินทรีย์เหล่านี้พบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เปลือก ต้น ใบ ผล ราก ดอก เมล็ด และเปลือกผลไม้ เปลือกผลไม้จัดเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งของยาต้านจุลินทรีย์ การนำเปลือกผลไม้มาใช้เป็นการประหยัด เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ลดมลภาวะ และเป็นการเพิ่มมูลค่าของเปลือกผลไม้ มีงานวิจัยหลายฉบับที่รายงานว่าเปลือกและเมล็ดของผลไม้ เช่น เปลือกและเมล็ดองุ่น (1) เปลือกและเมล็ดทับทิม (1, 2) เปลือกมะละกอ เปลือกมะม่วง เปลือกมังคุด และเปลือกสับประรด (3) มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ ทุเรียนพันธุ์หมอนทอง มังคุดสุก ส้มเขียวหวาน กล้วยน้ำว้าดิบ และหมากสงดิบ โดยใช้น้ำร้อน อะซิโตน และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายในการสกัด แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด คือ *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium*

2. วิธีวิจัย

2.1 วัตถุดิบ

เปลือกผลไม้ที่นำมาทดสอบ ได้แก่ เปลือกของผลทุเรียนพันธุ์หมอนทองที่สุกไม่เต็มที่ (*Durio zibethinus Murray*) และเปลือกของผลมังคุดสีม่วงเข้ม (*Garcinia mangostana* Linn.) ซื้อจากตลาดเขาดิน จังหวัดระยอง เปลือกของผลส้มเขียวหวาน (*Citrus reticulata* Blanco) ที่มีขนาด 6-7 เซนติเมตร ซื้อจากตลาดวังหลัง โรงพยาบาลศิริราช จังหวัดกรุงเทพฯ เปลือกของผลกล้วยน้ำว้าดิบ (*Musa sapientum* Linn.) และเปลือกของผลหมากสงดิบ (*Arega catechu*) ที่มีสีเขียวเข้มทั้งผลและผลติดกับทะลาย ซื้อจากตลาด 61 ถนนประชาอุทิศ จังหวัดกรุงเทพฯ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* ซึ่งได้จากแผนกเก็บเชื้อของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton ประกอบด้วย สารสกัดจากเนื้อ (beef extract) 2 กรัม Acid hydrolysate of casein 17.5 กรัม แป้ง 1.5 กรัม และน้ำ 1 ลิตร ในกรณีที่เป็นอาหารวุ้น จะเติมวุ้น 17 กรัม ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เตรียมไว้

สารเคมีที่ใช้ – สารสกัดเนื้อ (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., ประเทศอินเดีย) Acid hydrolysate of casein (Fluka, ประเทศสหรัฐอเมริกา) ผงวุ้น (Chile, ประเทศชิลี) อะซิโตนและเอทานอล (J.T. Baker,

ประเทศสหรัฐอเมริกา) แป้งและไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide, DMSO; Fisher Scientific, ประเทศอังกฤษ) Folin-Ciocalteu's reagent (Carlo, ประเทศสหรัฐอเมริกา) โซเดียมคาร์บอเนต (UNLAB, ประเทศนิวซีแลนด์)

2.2 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกผลไม้

การเตรียมสารสกัดจากเปลือกผลไม้ในงานวิจัยนี้ดัดแปลงจากวิธีของ Vitchayakitti และคณะ (4) โดยนำเปลือกผลไม้ที่ต้องการทดสอบมาล้างทำความสะอาด บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ นำมาสกัดแบบสด โดยชั่งเปลือกผลไม้ที่บดละเอียดจากเครื่องปั่น จำนวน 50 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำร้อน (น้ำเดือดใหม่ๆ) อะซิโตน และ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (อย่างใดอย่างหนึ่ง) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำขวดรูปชมพู่นี้ไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง (26 ถึง 28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 18 ชั่วโมง กรองผ่านผ้าขาวบางที่ปลอดเชื้อ นำของเหลวที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งไม่มีตัวทำละลายควบแน่นกลับลงมา (ถ้าตัวทำละลายเป็นน้ำ ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส) นำสารสกัดหยาบที่ได้มาชั่งน้ำหนัก และบันทึกปริมาตร ก่อนเก็บไว้ในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส) เพื่อเตรียมไว้สำหรับวิเคราะห์ต่อไป โดยเก็บไว้ในตู้เย็นไม่เกิน 3 วัน สำหรับชุดควบคุม เตรียมโดยการระเหยตัวทำละลายบริสุทธิ์ (น้ำ เอทานอลร้อยละ 95 และอะซิโตน) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน ละลายสิ่งที่เหลืออยู่ (ถ้ามี) ด้วย DMSO บริสุทธิ์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2.3 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้

นำสารสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Salmonella typhimurium* ด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น (Agar-well diffusion method) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ahmed และ Beg (5) นำแบคทีเรียดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหารเหลว Mueller Hinton บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแบคทีเรียที่บ่มไว้มาปรับค่าความขุ่นให้มีค่าเท่ากับค่ามาตรฐาน McFarland 0.5 จากนั้น เจือจางแบคทีเรียที่ได้นี้ 10 เท่า (มีจำนวนเซลล์ $1.5x10^7$ CFUต่อมิลลิลิตร) ก่อนใช้ไม้พันสำลีป้ายสารแขวนลอยแบคทีเรีย (bacterial suspension) บนอาหารวุ้น Mueller Hinton ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใช้ cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นจำนวน 6 หลุม (นำชิ้นวุ้นที่เจาะทิ้งไป) ใส่สารสกัดหยาบ (จากข้อ 2.2) ปริมาตร 30 ไมโครลิตรต่อหลุม ลงในหลุม 3 หลุม หลุมที่เหลือจะใส่ชุดควบคุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บข้อมูลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสของการยับยั้ง (inhibition zone) แต่ละการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย ถ้าสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้งสามชนิดมีวงใสการยับยั้ง จะนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน และถ้าพบนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จะทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของเชฟเฟ่ (Scheffé's test) แต่ถ้าสารสกัดจากตัวทำละลายเพียงสองชนิดให้วงใสการยับยั้ง จะใช้การทดสอบค่าที (t-test) (6)

2.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration, MIC)

การหาค่า MIC ในการทดลองนี้ใช้วิธีการเจือจางในอาหารเหลว (broth dilution method) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Rodriquez Vaquero และคณะ (7) นำสารสกัดหยาบจากเปลือกผลไม้ที่ให้วงใสการยับยั้ง หลังทดสอบด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้นมาเจือจางด้วย DMSO โดยใช้อัตราส่วนของสารสกัดหยาบต่อ DMSO (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร) ดังนี้ 2 : 0, 1 : 1, 0.5 : 1.5, 0.25 : 1.75, และ 0.125 : 1.875 เติมสารสกัดหยาบที่เจือจางเรียบร้อยแล้ว ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเหลว Mueller-Hinton ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และแบคทีเรีย 1.5×10^7 CFUต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เนื่องจากสารสกัดหยาบที่ได้มีสีเข้ม สังเกตความขุ่นได้ยาก จึงตรวจดูการเจริญของแบคทีเรีย โดยหยดของผสมที่บ่มครบ 24 ชั่วโมง ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร บนอาหารวุ้น Mueller-Hinton ใช้

แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร นำจานเพาะเชื้อไปวางในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนี หากสารสกัดจากเปลือกผลไม้สามารถยับยั้งการเจริญได้ ก็จะแสดงออกโดยการมีจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง ซึ่งในการทดลองนี้ ระบุว่า จำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะต้องน้อยกว่า 300 โคโลนี หลังการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกผลไม้น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยพบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อน้อยกว่า 300 โคโลนี คือ ค่า MIC (8, 9) แต่ละการทดลองทำซ้ำ 2 ครั้ง

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำสารสกัดหยาบที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Chaovanalikit และ Mingmuang (10) โดยเติมสารสกัดหยาบ น้ำกลั่น หรือสารละลายมาตรฐาน (สารละลายกรดแกลลิก) ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติม Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 0.2 N ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 15 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร หลังจากนั้น นำค่าที่วัดได้จากน้ำกลั่นและสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ มาทำเป็นกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้เปรียบเทียบกับค่าที่วัดได้ของสารสกัดหยาบ และคำนวณความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก (milligram Gallic Acid Equivalent, mg GAE) ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเปลือกผลไม้ ดังนี้

ปริมาณ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเปลือกผลไม้คำนวณจากปริมาตรของสารสกัดหยาบ (มิลลิลิตร) ที่ได้จากเปลือกผลไม้สดแต่ละชนิดที่บดแล้วจำนวน 50 กรัม จากนั้น นำตัวอย่างเปลือกผลไม้สดอีกส่วนหนึ่งไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักแห้งที่ได้ ถ้าเปลือกผลไม้สด 50 กรัม ได้สารสกัดหยาบปริมาตร X มิลลิลิตร และถ้าเปลือกผลไม้สด Z กรัม ได้น้ำหนักแห้ง Y กรัม ดังนั้น สารสกัดหยาบปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งเท่ากับ

$$\frac{(50 \text{ กรัม}) \times (0.5 \text{ มิลลิลิตร}) \times (Y \text{ กรัม})}{(Z \text{ กรัม}) \times (X \text{ มิลลิลิตร})} \text{ กรัม}$$

ถ้าสารสกัดหยาบ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด V มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก (mg GAE) ก็จะมีความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบ เท่ากับ

$$\frac{(V \text{ มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก}) \times (100 \text{ กรัม}) \times (Z \text{ กรัม}) \times (X \text{ มิลลิลิตร})}{(50 \text{ กรัม}) \times (0.5 \text{ มิลลิลิตร}) \times (Y \text{ กรัม})}$$

มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของเปลือกผลไม้

3. ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 ปริมาณสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลไม้ 5 ชนิด

จากการนำเปลือกผลไม้ที่บดละเอียด 5 ชนิด ชนิดละ 50 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำร้อน อะซิโตน และ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (อย่างใดอย่างหนึ่ง) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18 ชั่วโมง กรองผ่านผ้าขาวบางที่ปลอดเชื้อ และนำของเหลวที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) จนกระทั่งไม่มีตัวทำละลายควบแน่นกลับลงมา เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาชั่งน้ำหนักและบันทึกปริมาตร ดังตารางที่ 1 จะเห็นว่า สารสกัดจากเปลือกทุเรียน เปลือกมังคุด และเปลือกหมากสงด้วยอะซิโตน มีความเข้มข้นสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกผลไม้ชนิดเดียวกันด้วยเอทานอลและน้ำ แต่สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานด้วยน้ำมีความเข้มข้นสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานด้วย

อะซิโตนและเอทานอลและความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าด้วยตัวทำละลายทั้งสามชนิดแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ซึ่งสารสกัดที่ได้นี้จะนำไปใช้ในการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียต่อไปด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น Pothitirat และคณะ (11) รายงานว่า ผลได้ (yield) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดอ่อน และมังคุดสุกด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีค่าเท่ากับร้อยละ 26.58 และ 30.12 น้ำหนักต่อน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับผลได้จากงานวิจัยนี้ (ตารางที่ 1) Tewtrakul และคณะ (12) รายงานว่า ผลได้ของสารสกัดจากเปลือกทุเรียนด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และน้ำร้อน มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 3.19 และ 1.02 น้ำหนักต่อน้ำหนัก และผลได้ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยดิบด้วยน้ำร้อน มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 0.97 และ 1.26 น้ำหนักต่อน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าผลได้ที่ได้จากงานวิจัยนี้ ความแตกต่างของผลได้ของสารสกัดจากแต่ละงานวิจัย อาจเนื่องจากอายุของผลไม้ แหล่งเพาะปลูก และวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 1. ปริมาณและผลได้ของสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลไม้ 5 ชนิด เมื่อสกัดด้วยน้ำร้อน เอทานอลร้อยละ 95 และอะซิโตน

ชนิดของเปลือกผลไม้	ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ปริมาตรสารสกัด (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้น (กรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละผลได้ * (% น้ำหนักต่อน้ำหนัก)
เปลือกทุเรียน	น้ำร้อน	14.54	7.00	2.08	29.08
(*Durio zibethinus Murray*)	เอทานอล	13.76	5.00	2.75	27.52
	อะซิโตน	18.65	5.00	3.73	37.30
เปลือกมังคุด	น้ำร้อน	14.06	7.00	2.01	28.12
(*Garcinia mangostana* Linn.)	เอทานอล	18.68	5.50	3.40	37.36
	อะซิโตน	19.57	5.00	3.91	39.14
เปลือกส้มเขียวหวาน	น้ำร้อน	13.04	5.00	2.61	26.08
(*Citrus reticulata* Blanco)	เอทานอล	12.44	8.50	1.46	24.88
	อะซิโตน	12.53	8.00	1.57	25.06
เปลือกกล้วยน้ำว้า	น้ำร้อน	14.52	7.00	2.07	29.04
(*Musa sapientum* Linn.)	เอทานอล	17.03	7.50	2.27	34.06
	อะซิโตน	17.96	9.00	2.00	35.92
เปลือกหมากสง	น้ำร้อน	14.50	6.50	2.23	29.00
(*Arega catechu*)	เอทานอล	15.57	6.00	2.59	31.14
	อะซิโตน	15.41	5.30	2.91	30.82

*ร้อยละผลได้ (% yield) = $\frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดที่ได้ x 100}}{\text{น้ำหนักของเปลือกผลไม้บดละเอียด จำนวน 50 กรัม ที่ใช้ในการสกัด}}$

3.2 การตรวจสอบคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้

จากการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ ทุเรียนหมอนทองมังคุดสุก ส้มเขียวหวาน กล้วยน้ำว้าดิบ และหมากสงดิบ ด้วยตัวทำละลายสามชนิด คือ น้ำร้อน เอทานอล และอะซิโตน โดยพิจารณาจากขนาดวงใสการยับยั้งเมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น (ตารางที่ 2) พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลไม้ทุกชนิดที่ทดสอบที่สกัดด้วยอะซิโตน เอทานอล และน้ำร้อน สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* โดยสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลและสารสกัดจากเปลือกทุเรียนด้วยอะซิโตน สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* ได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่น (ขนาดวงใสการยับยั้ง 16.3 ถึง 18.0 มิลลิเมตร) และขนาดวงใสการยับยั้งของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลไม้ชนิดเดียวกันที่ได้จากตัวทำละลายต่างชนิดกันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลที่มีขนาดวงใสการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* มากกว่าสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานและเปลือกมังคุดด้วยน้ำร้อนและอะซิโตนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาเปลือกผลไม้ชนิดเดียวกัน และสารสกัดจากเปลือกทุเรียนด้วยอะซิโตนก็มีขนาดวงใสการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis* สูงกว่าสารสกัดจากเปลือกทุเรียนด้วยน้ำร้อนและเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับ *S. sureus* ขนาดวงใสการยับยั้งของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลไม้ชนิดเดียวกันที่ได้จากตัวทำละลายต่างชนิดกันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในทุกสารสกัดที่ทดสอบ (ขนาดวงใสการยับยั้งอยู่ระหว่าง 11.3 ถึง 16.0 มิลลิเมตร) ยกเว้น สารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานด้วยน้ำร้อนและเอทานอล สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าและเปลือกมังคุดด้วยน้ำร้อนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* การทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pothitirat และคณะ (11) ที่พบว่า สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดสุกด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดสิว *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919) และ *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990) และรายงานของ Sangkhapaitoon และคณะ (13) เมื่อทดสอบสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดด้วยน้ำ โดยใช้วิธี disc diffusion และ agar dilution พบว่า สารสกัดนี้ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ที่แยกจากแผลอักเสบของสุกร แต่แตกต่างจากงานวิจัยของ Sukatta และคณะ (14) ที่พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลและอะซิโตนมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ขนาดวงใสการยับยั้ง 15.19 และ 10.73 มิลลิเมตร ตามลำดับ) และรายงานของ Pachanawan และ Ngamsnae (15) ที่พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยน้ำกลั่นสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลา แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (ขนาดวงใสการยับยั้ง 13.80 และ 33.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ) Lipipun และคณะ (16) รายงานว่า สารพอลิแซกคาไรด์เจลที่สกัดจากเปลือกทุเรียน (ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 ถึง 10 น้ำหนักต่อปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* โดยมีขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 10.50 ถึง 16.53 มิลลิเมตร Richter และ Vore (17) รายงานว่าสารสกัดจากกล้วยบด (banana puree) ด้วยน้ำสามารถยับยั้ง *Clostridium sporogenes* และแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างสปอร์ชนิดอื่นได้ Mokbel และ Hashinaga (18) รายงานฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเปลือกกล้วยดิบ (*Musa sapientum*) เมื่อสกัดด้วยเอธิลอะซิเตท พบว่า สารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus, B. subtilis, B. cereus, Salmonella enteritidis* และ *E. coli* มีขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 9.0 ถึง 12.0 มิลลิเมตร โดยสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด Tangjai และ Rutatip (19) ได้ค้นพบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus, B. subtilis* และ *Micrococcus* sp.) ของสารสกัดจากหมากนวล (*Adonidia merrilli* ซึ่งอยู่แฟมิลี Arecaceae เช่นเดียวกับหมากสงที่ใช้ในงานวิจัยนี้) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 พบว่า มีขนาดวงใสการยับยั้ง เท่ากับ 17.50, 16.25 และ 19.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่สารสกัดนี้ไม่สามารถ

ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* และ *Pseudomonas* sp.) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษานี้

เมื่อศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ต่อแบคทีเรียแกรมลบ พบว่า สารสกัดจากเปลือกผลไม้ทุกชนิดที่ทดสอบด้วยน้ำร้อนไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *S. typhimurium* และสารสกัดจากเปลือกทุเรียนและเปลือกมังคุดด้วยเอทานอล ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* แต่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. typhimurium* มีขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 16.0 และ 18.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ ขนาดวงใสของการยับยั้งการเจริญของ *S. typhimurium* ของสารสกัดจากเปลือกทุเรียนและเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลและอะซิโตน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบในเปลือกผลไม้ชนิดเดียวกัน สารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบทั้งสองชนิด ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกทุเรียน เปลือกส้มเขียวหวาน และเปลือกมังคุดด้วยอะซิโตน โดยมีขนาดวงใสการยับยั้งอยู่ระหว่าง 12.6 ถึง 16.3 มิลลิเมตร (ตารางที่ 2) Mahmud และคณะ (20) ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่สกัดจากเปลือก *Citrus acida* var. sour lime ด้วยวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดมีความสามารถในการยับยั้ง *B. subtilis* และ *B. cereus* ได้ดีที่สุด มีขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 22 และ 19.8 มิลลิเมตร ตามลำดับ หลังจากบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง รองลงมาคือ *S. aureus*, *S. typhimurium* และ *E. coli* มีขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 18, 17 และ 16 มิลลิเมตร ตามลำดับ Dubey และคณะ (21) รายงานฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกส้ม *Citrus sinensis* ด้วยน้ำและละลายในเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 100 พบว่า สารสกัดที่ได้สามาถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus, B. subtilis, E. coli, Shigella flexineri* และ *Pseudomonas aeruginosa* มีขนาดวงใสของการยับยั้ง 6 ถึง 14 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองนี้ที่สารสกัดจากเปลือกส้มด้วยน้ำและเอทานอลไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* และ *E. coli* Lorsuwan และคณะ (3) ได้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกทุเรียนหมอนทอง เปลือกมังคุด เปลือกกล้วยหอมทอง และเปลือกส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งด้วยเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus, Listeria monocytogenes* และ *S. typhimurium* มีขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 12.2, 11.0 และ 6.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* และ *S. typhimurium* โดยมีขนาดวงใสการยับยั้ง 7.2 และ 7.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* สารสกัดจากเปลือกทุเรียนและเปลือกส้ม สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* (ขนาดวงใสการยับยั้ง 6.5 และ 8.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ) และ *L. monocytogenes* (ขนาดวงใสการยับยั้ง 8.5 และ 8.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ) และ DMSO ซึ่งใช้ละลายตัวทำละลายที่เหลือจากการระเหย (ชุดควบคุม) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบ

ตารางที่ 2. ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ 5 ชนิด ด้วยน้ำร้อน เอทานอล (95%) และอะซิโตน (หลังจากที่ระเหยตัวทำละลายออกแล้ว) เมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น (Agar well diffusion method)

ชนิดของเปลือกผลไม้	ตัวทำละลาย	ขนาดวงใสของการยับยั้งการเจริญ (ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, มิลลิเมตร)			
		B. subtilis*	***S. aureus****	***E. coli****	***S. typhimurium****
เปลือกทุเรียน	น้ำร้อน	13.7 ± 0.6[a]	14.3 ± 0.6[a]	0	0
(*Durio zibethinus Murray*)	เอทานอล	13.7 ± 0.6[a]	13.0 ± 1.0[a]	0	16.0 ± 1.0[a]
	อะซิโตน	16.3 ± 1.2[b]	15.0 ± 1.7[a]	13.7 ± 0.6	16.3 ± 1.5[a]
เปลือกมังคุด	น้ำร้อน	12.3 ± 0.6[a]	0	0	0
(*Garcinia mangostana*	เอทานอล	16.6 ± 2.1[b]	15.7 ± 1.1[a]	0	18.3 ± 1.5[a]
Linn.)	อะซิโตน	14.7 ± 1.1[a]	16.0 ± 1.7[a]	16.0 ± 5.3	15.3 ± 1.2[a]
เปลือกส้มเขียวหวาน	น้ำร้อน	13.3 ± 0.6[a]	0	0	0
(*Citrus reticulata* Blanco)	เอทานอล	18.0 ± 0.0[b]	0	0	0
	อะซิโตน	14.3 ± 1.1[a]	12.7 ± 0.6	14.3 ± 1.1	12.6 ± 0.6
เปลือกกล้วยน้ำว้า	น้ำร้อน	11.7 ± 0.6[a]	0	0	0
(*Musa sapientum* Linn.)	เอทานอล	11.3 ± 0.6[a]	12.3 ± 1.1[a]	0	0
	อะซิโตน	11.7 ± 0.6[a]	11.7 ± 0.6[a]	0	0
เปลือกหมากสง	น้ำร้อน	11.3 ± 0.6[a]	12.0 ± 1.0[a]	0	0
(*Arega catechu*)	เอทานอล	11.3 ± 0.6[a]	11.3 ± 1.0[a]	0	0
	อะซิโตน	12.0 ± 1.0[a]	11.7 ± 0.6[a]	0	0

*ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน สำหรับแบคทีเรียแต่ละชนิด ค่าเฉลี่ยที่แสดงในแนวตั้งที่มีอักษรแตกต่างกัน (a, b,…) แสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ของขนาดวงใสของการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ชนิดเดียวกัน เมื่อใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน

จากผลการทดลองนี้ จะเห็นว่า สารสกัดจากเปลือกทุเรียน เปลือกส้มเขียวหวาน และเปลือกมังคุด ด้วยอะซิโตนสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบ และสารสกัดหยาบจากเปลือกผลไม้ทุกชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยแบคทีเรียที่มีความไวต่อสารสกัดหยาบของเปลือกผลไม้ทุกชนิด คือ *B. subtilis* และแบคทีเรียที่มีความต้านทานต่อสารสกัดหยาบของเปลือกผลไม้ส่วนใหญ่ คือ *E. coli* ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Shan และคณะ (22) ที่พบว่าแบคทีเรียที่มีความต้านทานต่อสารสกัดจากสมุนไพร (20 ชนิด) และเครื่องเทศ (26 ชนิด) ด้วยเมทานอล มากที่สุด คือ *E. coli* ขณะที่แบคทีเรียที่มีความไวต่อสารสกัดจากสมุนไพรและเครื่องเทศด้วยเมทานอล คือ *S. aureus* สาเหตุที่แบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อสารสกัดจากสมุนไพรได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก อาจเนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อชั้นนอก (outer membrane) และ periplasmic space ซึ่งไม่พบในแบคทีเรียแกรมบวก สารไลโพพอลิแซกคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อชั้นนอกจะเป็นตัวกั้นการซึมผ่านของสารได้ดี ขณะที่แบคทีเรีย

แกรมบวกไม่มีโครงสร้างเหล่านี้ สารต่างๆ จึงซึมผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (22)

3.3 การวิเคราะห์ค่า MIC ของสารสกัดจากเปลือกผลไม้

เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกผลไม้ที่ให้ขนาดวงใสการยับยั้งหลังการทดสอบด้วยการแพร่สารละลายในวุ้น มาทำการหาค่า MIC ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารเหลว (broth dilution method) แบบ macrodilution (7) พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าและเปลือกหมากสงด้วยตัวทำละลายทุกชนิดไม่สามารถหาค่า MIC ต่อแบคทีเรียที่ทดสอบได้ (ตารางที่ 3) ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Tangjai และ Rutatip (19) ที่ค้นพบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus, B. subtilis* และ *Micrococcus* sp.) ของสารสกัดจากหมากนวล (*Adonidia merrilli*) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 โดยมีค่า MIC เท่ากัน คือ 15.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่สารสกัดนี้ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* และ *Pseudomonas* sp.) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษานี้ แต่ Ka-Prom (23) รายงานว่า สารสกัดจากหมากแก่ (*Areca catechu* Linn.) พันธุ์ผลรีด้วยน้ำและสารสกัดจากหมากแก่พันธุ์ผลกลมด้วยเอทานอล สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus, S. aureus* และ *E. coli* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.781 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. typhimurium* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดจากหมากด้วยอะซิโตน มีค่า MIC ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษา (*B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, และ *S. typhimurium*) เท่ากับ 0.781 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยอะซิโตน มีค่า MIC ต่อแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบต่ำที่สุด โดยมีค่า MIC น้อยกว่า 195.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกทุเรียนด้วยอะซิโตน มีค่า MIC ต่อ *B. subtilis* และ *S. typhimurium* เท่ากับ 373 และ 273 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอล ซึ่งมีค่า MIC ต่อ *B. subtilis* เท่ากับ 391.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MIC ต่อ *S. aureus* และ *S. typhimurium* เท่ากัน คือ 1565.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3) Pachanawan และคณะ (15) รายงานว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลและน้ำกลั่นมีค่า MIC ต่อ *S. agalactiae* เท่ากับ 6.548 และ 1170 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ Sukatta และคณะ (14) รายงานว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดสดด้วยเอทานอลมีค่า MIC ต่อ *S. aureus* เท่ากับ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ Pothitirat และคณะ (11) รายงานว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดดิบด้วยเอทานอล มีค่า MIC ต่อ *P. acnes* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 15.63 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดจากเปลือกมังคุดสุกด้วยเอทานอล มีค่า MIC ต่อแบคทีเรียทั้งสองชนิดเท่ากัน คือ 15.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบอื่นๆ ที่สามารถหาค่า MIC ได้ คือ สารสกัดจากเปลือกทุเรียนด้วยเอทานอล และสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานด้วยอะซิโตน ดังตารางที่ 3 Pongsamart และคณะ (24) รายงานว่า สารสกัดพอลิแซกคาไรด์เจลจากเปลือกทุเรียนสามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis, S. epidermidis, M. luteus* และ *E. coli* โดยมีค่า MIC เท่ากัน คือ 6.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MIC ต่อ *S. aureus* เท่ากับ 12.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร Espina และคณะ (25) รายงานค่า MIC ของน้ำมันหอมระเหยที่แยกได้จากเปลือกส้ม *C. reticulata* และ *C. sinensis* ต่อ *S. aureus* (ATCC 6538), *Salmonella enteritidis* (ATCC 49214) และ *E. coli* O157:H7 ว่า มีค่าเท่ากับ 1, 5 และ 5 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร และมีค่าเท่ากับ 5, 30 และ 30 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สาเหตุที่วิธีการเจือจางในอาหารเหลวไม่สามารถหาค่า MIC ของสารสกัดจากเปลือกผลไม้บางชนิด ขณะที่สารสกัดดังกล่าวให้ผลการยับยั้งเมื่อทดสอบด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น อาจเนื่องจากวิธีการทดสอบด้วยการแพร่สารละลายในวุ้น ปริมาณเชื้อที่ถูกยับยั้งจะน้อยกว่าวิธีการเจือจางในอาหารเหลว เพราะการยับยั้งด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้นจะขึ้นกับความสามารถในการซึมผ่านวุ้นของสารสกัด ซึ่งสารสกัดนั้นไม่อาจที่จะซึมผ่านไปได้ทั่วจานเพาะเชื้อ ดังนั้น วิธีนี้จึงมีปริมาณเชื้อที่จะยับยั้งน้อยกว่าเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ทดสอบ แต่

สำหรับวิธีการเจือจางในอาหารเหลว สารสกัดจะกระจายทั่วทั้งของเหลว ทำให้ความเข้มข้นของสารสกัดน้อยลง ขณะที่ปริมาณเชื้อทั้งหมดที่จะต้องยับยั้งมีปริมาณมากกว่า ทำให้การทดสอบด้วยวิธีการเจือจางในอาหารเหลวไม่ปรากฏค่า MIC เพราะระดับเชื้อมากเกินกว่าที่สารสกัดจะยับยั้งได้ (8)

ตารางที่ 3. ค่า MIC ของสารสกัดจากเปลือกผลไม้บางชนิด

ชนิดของเปลือกผลไม้	ตัวทำละลาย	ค่า MIC ของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
		B. subtilis	***S. aureus***	***E. coli***	***S. typhimurium***
เปลือกทุเรียน	น้ำร้อน	ND	ND	-	-
(*Durio zibethinus Murray*)	เอทานอล	1402	1402	-	1402
	อะซิโตน	373	2984	2984	273
เปลือกมังคุด	น้ำร้อน	ND	-	-	-
(*Garcinia mangostana*	เอทานอล	391.4	1565.6	-	1565.6
Linn.)	อะซิโตน	<195.7	<195.7	<195.7	<195.7
เปลือกส้มเขียวหวาน	น้ำร้อน	ND	-	-	-
(*Citrus reticulata* Blanco)	เอทานอล	ND	-	-	-
	อะซิโตน	1253	ND	ND	ND
เปลือกกล้วยน้ำว้า	น้ำร้อน	ND	-	-	-
(*Musa sapientum* Linn.)	เอทานอล	ND	ND	-	-
	อะซิโตน	ND	ND	-	-
เปลือกหมากสง	น้ำร้อน	ND	ND	-	-
(*Arega catechu*)	เอทานอล	ND	ND	-	-
	อะซิโตน	ND	ND	-	-

ND หมายถึง ไม่สามารถหาค่า MIC ได้

- หมายถึง ไม่ได้ทดสอบ

3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกผลไม้

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ 5 ชนิด ด้วยวิธี Total Phenol Assay (9) พบว่า เปลือกผลไม้แต่ละชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกัน และสารสกัดจากเปลือกผลไม้ชนิดเดียวกันด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกัน โดยพบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยอะซิโตนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 51.40 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ สารสกัดจากเปลือกทุเรียนด้วยอะซิโตน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 44.36 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบในการทดลองนี้แตกต่างจากรายงานของ Lorsuwan และคณะ (3) ที่กล่าวว่า เปลือกทุเรียนหมอนทอง เปลือกผลมังคุด เปลือกกล้วยหอมทอง และเปลือกส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง เมื่อเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่แข็งและสกัดด้วยเมทานอลเข้มข้นร้อยละ

80 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 17.1, 215.1, 53.9 และ 29.4 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่างจำนวน 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และ Leontowicz และคณะ (26) รายงานว่า เปลือกทุเรียนหมอนทองเมื่อสกัดด้วย 1.2 M HCl ใน 50% เมทานอลต่อน้ำ มีปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลเท่ากับ 361.4 ± 35.3 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด นอกจากนี้ Chaovanalikit และ Mingmuang (10) รายงานว่า เปลือกอ่อนของผลมังคุดมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด (3404 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม) รองลงมา คือเปลือกแข็ง (2930.49 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม) และเนื้อ (133.29 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม) ตามลำดับ Treesuwan และคณะ (9) รายงานว่า สารพอลิฟีนอลที่พบในสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยเอทานอลมีแอลฟา-แมงโกสติน (α-mangostin) เป็นองค์ประกอบ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 25.88 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และสารสกัดนี้มีค่า MIC ต่อ *Streptococcus mutans* เท่ากับ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สาเหตุที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในผลมังคุดของแต่ละงานวิจัยแตกต่างกัน อาจเนื่องด้วยวิธีการสกัดและอายุของผลไม้ที่ต่างกัน

ตารางที่ 4. ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกผลไม้ด้วยน้ำร้อน เอทานอลร้อยละ 95 และอะซิโตน

ชนิดของเปลือกผลไม้	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม GAE/100 กรัม น้ำหนักแห้ง)
เปลือกทุเรียน	น้ำร้อน	3.93
(*Durio zibethinus Murray*)	เอทานอล	13.94
	อะซิโตน	44.36
เปลือกมังคุด	น้ำร้อน	4.45
(*Garcinia mangostana* Linn.)	เอทานอล	4.81
	อะซิโตน	51.40
เปลือกส้มเขียวหวาน	น้ำร้อน	0.17
(*Citrus reticulata* Blanco)	เอทานอล	0.69
	อะซิโตน	0.94
เปลือกกล้วยน้ำว้า	น้ำร้อน	0.38
(*Musa sapientum* Linn.)	เอทานอล	0.41
	อะซิโตน	0.90
เปลือกหมากสง	น้ำร้อน	0.72
(*Arega catechu*)	เอทานอล	0.76
	อะซิโตน	1.10

ในการทดลองนี้ อะซิโตนเป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากที่สุด ขณะที่น้ำร้อนมีความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้น้อยกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น เปลือกผลไม้ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่ำ (น้อยกว่า 1.5 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) คือ เปลือกส้มเขียวหวาน เปลือกกล้วยน้ำว้า และเปลือกหมากสง ตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วน้อยจะสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วมาก Ghasemi และคณะ (27) รายงานว่า เปลือกส้ม *Citrus reticula* และ *Citrus sinensis* สายพันธุ์ต่างๆ เมื่อสกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 104.2 ถึง 172.1 และ 132.9 ถึง 160.3 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ Sulaiman และคณะ (28) รายงานว่า เปลือกกล้วยชนิดต่างๆ (*Musa* sp.) ของมาเลเซียที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.06 ถึง 0.53 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสด และ 3.98 ถึง 13.00 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกกล้วยได้มากที่สุด (2.86 ถึง 25.59 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสด) ความสามารถในการละลายของสารประกอบฟีนอลิกในตัวทำละลายมีอิทธิพลต่อการสกัดสารพอลิฟีนอลจากพืช และความเป็นขั้วของตัวทำละลายมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มความสามารถในการละลายของสารประกอบฟีนอลิก (29) Alothanan และคณะ (30) รายงานว่า ตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยที่สุดจะมีความเหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลซึ่งชอบไขมัน (lipophilic phenols) และอะซิโตนเข้มข้นร้อยละ 90 ในน้ำสามารสกัดสารประกอบฟีนอลิกในเนื้อกล้วยได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำบริสุทธิ์ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50, 70, 90 และอะซิโตนเข้มข้นร้อยละ 50 และ 70 Wetwitayaklung และคณะ (31) รายงานว่า เปลือกหมาก (fruit shells) อายุ 4 เดือน และ 8 เดือน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.17 และ 1.60 กรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัดหยาบ เมื่อสกัดด้วยน้ำ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.08 และ 1.42 กรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัดหยาบ เมื่อสกัดด้วยเมทานอล ตามลำดับ Wang และคณะ (32) สกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากผลหมากดิบยาว 2 และ 3 เซนติเมตรด้วยอะซิโตนเข้มข้นร้อยละ 80 ในน้ำ พบว่า มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 5.78 และ 9.28 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกผลไม้กับค่า MIC จะเห็นว่ามีความสัมพันธ์กัน สารสกัดอะซิโตนของเปลือกผลมังคุดซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด สามารถยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่ทดสอบได้ดีที่สุด ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Shan และคณะ (22) ที่กล่าวว่า ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัด มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากสมุนไพรที่ทดสอบ

4. สรุป

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากเปลือกผลไม้โดยเฉพาะเปลือกทุเรียนและเปลือกมังคุดด้วยอะซิโตน มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis, S. aureus*, *E. coli* และ *S. typhimurium* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารหรือมีส่วนในการทำให้อาหารเน่าเสีย จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสารสกัดจากเปลือกทุเรียนและเปลือกมังคุดไปพัฒนาเป็นสารถนอมอาหารชนิดใหม่ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร หรือเป็นสมุนไพรที่ใช้ในการรักษาโรคทางเดินอาหารที่เกิดจากแบคทีเรียเหล่านี้

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีที่สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

(1) Chanda S, Baravalia Y, Kaneria M, Rakholiya K. Fruit and vegetable peels – strong natural source of antimicrobics. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. A. Méndez-Vilas (Ed.). [Internet]. 2010 [cited 2012 Jan 20]. Available from: http://www.formatex.info/microbiology2/444-450.pdf

(2) Nuamsetti T, Dechayuenyong P, Tantipaibulvut S. Antibacterial activity of pomegranate fruit peels and arils. ScienceAsia. 2012; 38(3): 319-22.

(3) Lorsuwan P, Rechtanapun C, Chantanawarangoon S. Total phenolics, radical scavenging capacity and antimicrobial property of fruit peels. Proceedings of the 46th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry; 2008 Jan 30 – Feb 2; Kasetsart University. Bangkok, Thailand. 2008. P. 554-61. Thai.

(4) Vitchayakitti W, Siripatrawan U, Sanguandeekul R. Total phenolic content and antimicrobial property of propolis from Nan Province. Proceeding of the 35th Congress on Science and Technology of Thailand (STT35); 2009 Oct 15-17; Chonburi, Thailand; [Internet]. 2009 [cited 2012 June 17]. Available from: http://www.scisoc.or.th/stt/35/sec_h/paper/STT35_H_H0005.pdf

(5) Ahmad I, Beg AZ. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. J Ethnopharmacol. 2001;74: 113–23.

(6) Wongratana C. Statistic techniques for research. 10th ed. Chulalongkorn Book Center. Pathumwan, Bangkok. 2007. Thai.

(7) Rodríguez Vaquero MJ, Tomassini Serravalle LR,. Manca de Nadra MC, Strasser de Saad AM. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. Food Control. 2010;21: 779-85.

(8) Arunleark N. Classification of aerobic bacteria. 2nd ed. Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapa University; 2004. Thai.

(9) Treesuwan P, Juntavee A, Rattanathongkom A, Peerapattana J, Nualkaew N, Chatrchaiwiwatana S. Inhibitory effects of polyphenol from mangosteen extracts on *Streptococcus mutans in vitro*. The Proceeding of the 4th Annual Northeast Pharmacy Research Conference of 2012; 2012 Feb 11-12; Khonkhaen, Thailand; 2012. P 232-7. Thai.

(10) Chaovanalikit A, Mingmuang A. Anthocyanin and total phenolic content of mangosteen and its juice. SWU Sci J. 2007;23(1): 68-78. Thai.

(11) Pothitirat W, Chomnawan MT, Supabphol R, Gritsanapan W. Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. Fitoterapia. 2009;80: 442–7.

(12) Tewtrakul S, Itharat A, Thammaratwasik P, Ooraikul B. Anti-allergic and anti-microbial activities of some Thai crops. Songklanakarin J Sci Technol. 2008; 30 (4): 467-73.

(13) Sangkhapaitoon P, Sangkhapaitoon P, Kummee S. Antibacterial activity of mangosteen hull extracts against *Staphylococcus aureus* from infected skin wound in swine. The Proceedings of RMUT Conference 2008. p 400-9. Thai.

(14) Sukatta U, Dilokkunanant U, Rugthaworn P, Siriwan S, Pitpiangchan P. Extraction and Antimicrobial Activity of Mangosteen Extract. The Proceedings of the 44th Kasetsart University Annual Conference : Science. 2006 Jan 30 – Feb

30; Bangkok, Thailand; 2006. P 529-36. Thai

(15) Pachanawan A, Ngamsnae P. Efficacy of mangosteen peel (*Garcinia mangostana* Linn) extract on inhibition of *Streptococcus agalactiae*, a fish pathogenic bacterium. J Fisheries Tech Res. 2010; 4(1): 103-10.

(16) Lipipun V, Nantawanit N, Pongsamart S. Antimicrobial activity (*in vitro*) of polysaccharide gel from durian fruit-hulls. Songklanakarin J Sci Technol. 2002; 24(1): 31-8.

(17) Richter ER, Vore LA. Antimicrobial activity of banana puree. Food Microbiol. 1989; 6 (3): 179-87.

(18) Mokbel MS, Hashinaga F. Antibacterial and antioxidant activities of banana (*Musa*, AAA cv. Cavendish) fruit peels. Am J Biochem Biotech. 2005;1(3): 125-31.

(19) Tangjai N, Rutatip S. Inhibitory effect against some microorganisms by crude extract of Manila palm. Agricultural Sci J 2009;40(3) Suppl: 53-6. Thai.

(20) Mahmud S, Saleem M, Siddique S, Ahmed R, Khanum R, Perveen Z. Volatile components, antioxidant and antimicrobial activity of *Citrus acida* var. sour lime peel oil. J Saudi Chem Soc. 2009;13: 195–8.

(21) Dubey D, Balamurugan K, Agrawal RC, Verma R, Jain R. Evaluation of antibacterial and antioxidant activity of methanolic and hydromethanolic extract of sweet orange peels. Recent Res Sci Technol. 2011; 3(11):22-5.

(22) Shan B, Cai Y-Z, Brooks JD, Corke H. The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. Int J Food Microbiol. 2007;117: 112-9.

(23) Ka-Prom A. Development of antifood poisoning bacteria emulsion from betel nut *Areca catechu* Linn. extracts and plant essential oil. Thesis Abstract, MSc Thesis (Biotechnology), Chulalongkorn University. Bangkok. Thai. [cited 2012 Jan 20]. Available from: http://dcms.thailis.or.th/tdc/browse.php?option=show&browse_type=title&titleid=115091&display=list_subject&q=%C7%D4%E0%A4%C3%D2%D0%CB%EC%E1%C5%D0%E0%A4%C1%D5

(24) Pongsamart S, Nanatawanit N, Lertchaipon J, Lipipun V. 2005. Novel water soluble antibacterial dressing of durian polysaccharide gel. Acta Hort. (ISHS) 678:65-73. [cited 2012 July 9]. Available from: http://www.actahort.org/books/678/678_8.htm

(25) Espina L, Somolinos M, Lorάn S, Conchello P, García D, Pagάn R. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. Food Control. 2011; 22(6):896-902.

(26) Leontowicz H, Leontowicz M, Haruenkit R, Poovarodom S, Jastrzebski Z, Drzewiecki J, Ayala ALM, Jesion I, Trakhtenberg S, Gorinstein S. Durian (*Durio zibethinus Murr.*) cultivars as nutritional supplementation to rat's diets. Food Chem Toxicol. 2008; 46:581-9.

(27) Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. Pak J Pharm Sci. 2009; 22(3):277-81.

(28) Sulaiman SF, Yusoff NA Md, Eldeen IM, Seow EM, Sajak AAB, Supriantno, Ooi KL. Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.). J Food Comp Anal. 2011; 24(1): 1-10.

(29) Naczk M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction

and analysis. J Pharm Biomed Anal. 2006; 41: 1523–42.

(30) Alothman M, Bhat R, Karim AA. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia: Extracted with different solvents. Food Chem. 2009; 115: 785–8.

(31) Wetwitayaklung P, Phaechamud T, Limmatvapirat C, Keokitichai S. The study of antioxidant capacity in various parts of *Areca catechu* L. Naresuan University J. 2006; 14(1) 1-14.

(32) Wang C-K, Lee W-H, Peng C-H. Contents of phenolics and alkaloids in *Areca catechu* Linn. during maturation. J Agric Food Chem. 1997; 45(4): 1185-8.