บทที่ 4

ผลการวิจัย

การสกัดสารจากเมล็ดผลไม้

การศึกษาการสกัดสารจากเมล็ดผลไม้จำนวน 7 ชนิด รวม 11 ตัวอย่าง โดยการแช่หมักเมล็ดผลไม้บดละเอียดในตัวทำละลาย 95% เมธานอล ที่อัตราส่วนผงละเอียดของเมล็ดผลไม้ 1 ส่วนต่อเมธานอล 2 ส่วน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการระเหยแห้งโดยใช้เครื่องปั๊มสูญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สารสกัดที่ได้มีลักษณะสีน้ำตาลข้นเหนียวหนืดในทุกตัวอย่าง มีกลิ่นเฉพาะ และความเข้มของสีที่ได้ขึ้นกับชนิดของเมล็ดผลไม้ (ตาราง 1) อย่างไรก็ตามการศึกษาในครั้งนี้ได้คั่วเมล็ดมะขามโดยใช้ความร้อนประมาณ 20 นาทีเพื่อให้สามารถแยกได้ส่วนที่เรียกว่าเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ด (สีน้ำตาล) ออกจากส่วนเนื้อในเมล็ด (สีขาว) ได้ง่ายขึ้น และทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆของสารสกัดจากส่วนทั้งสองต่อไป ข้อมูลของสารสกัดที่ได้แสดงดังตาราง 1 พบว่าเมล็ดผลไม้แต่ละชนิดให้ปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกันออกไป เรียงจากสารสกัดปริมาณมากสุดไปหาปริมาณน้อยสุด ดังนี้ คือ เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่คั่ว เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่สด เนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์ เมล็ดเงาะพันธุ์โรงเรียน เมล็ดขนุนพันธุ์ศรีบรรจง เมล็ดมังคุด เมล็ดมะละกอสุก เมล็ดลำไยพันธุ์อีดอ เนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่สดและสุดท้ายเป็นเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่คั่ว ส่วนของเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่คั่วให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดคือ 44.84 % ส่วนเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่สดให้ปริมาณสารสกัดรองลงมาที่ 30 % ในขณะที่มะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นกับมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยให้ปริมาณสารสกัดที่ต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้นคือ 7.14 และ 6.9 % เมล็ดเงาะให้ปริมาณสารสกัดใกล้เคียงกับเมล็ดมะม่วง คือ 6.73 % ส่วนเมล็ดขนุนให้ปริมาณสารสกัดน้อยเพียง 2.60 % ในเมล็ดมังคุดให้ปริมาณสารสกัดใกล้เคียงกับเมล็ดขนุนคือ 2.31 % ส่วนเมล็ดมะละกอสุก เมล็ดลำไย เนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่คั่วและไม่คั่ว ได้สารสกัดในปริมาณน้อย คือ 1.84, 1.54, 0.81 และ 0.75% ตามลำดับ

ตาราง 1 **ร้อยละของผลผลิตส**ารสกัดเมธานอลที่เตรียมจากเมล็ดผลไม้ชนิดต่างๆ

ชนิดของเมล็ดผลไม้	ส่วนที่ใช้	ลักษณะสารสกัด	**ร้อยละของผลผลิตสารสกัดเมธานอลที่เตรียมจากเมล็ดผลไม้ชนิดต่าง ๆ** (% yield)
มะขามเปรี้ยวแก่คั่ว (*Tamarindus indica* Linn.)	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาลแดง	44.84
มะขามเปรี้ยวแก่สด (*Tamarindus indica* Linn.)	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาลแดง	30.00
มะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น (*Mangifera indica* Linn.cultivars Fa-Luang.)	เนื้อในเมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	7.14
มะม่วงพันธุ์เขียวเสวย (*Mangifera indica* Linn. Cultivars Khiew Sawoey.)	เนื้อในเมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	6.90
เงาะพันธุ์โรงเรียน (*Nephelium lappaceum* Linn.)	เมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	6.73
ขนุนพันธุ์ศรีบรรจง (*Artocarpus heterophyllu* Linn.)	เมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	2.60
มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.)	เมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	2.31
มะละกอสุก (*Carica papaya* Linn.)	เมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	1.84
ลำไยพันธุ์อีดอ (*Dimocarpus longan* Lour.)	เมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	1.54
มะขามเปรี้ยวแก่สด (*Tamarindus indica* Linn.)	เนื้อในเมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	0.81
มะขามเปรี้ยวแก่คั่ว (*Tamarindus indica* Linn.)	เนื้อในเมล็ด	เหนียวหนืดสีน้ำตาล	0.75

ผลการตรวจสอบปริมาณ phenolics ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้

มีรายงานข้อมูลทางวิทยาศาสตร์หลายการศึกษา กล่าวถึงฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายของ phenolics เช่น ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และพบว่าฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้จะผันแปรตามปริมาณสาร phenolics ที่พบ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเริ่มจากการตรวจสอบปริมาณสาร phenolics ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent assay [132] โดยนำสารสกัดในเมธานอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมกับ Folin reagent ปริมาตร 250 มิลลิลิตร และสารละลาย sodium carbonate ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm และนำค่าที่ได้มาคำนวณเทียบปริมาณสาร phenolics จากกราฟของสารละลายมาตรฐานของ gallic acid ผลที่ได้พบว่าสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้มีปริมาณ phenolics มากน้อยต่างกัน ดังแสดงในตาราง 2 โดยปริมาณ phenolics ในเมล็ดผลไม้ต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม เรียงจากมากสุดไปหาน้อยสุดคือ เมล็ดมะละกอ เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด เมล็ดลำไย เมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว และเนื้อในเมล็ดมะขามสด โดยพบว่าในเมล็ดมะละกอสุกมีปริมาณ phenolics สูงสุด ที่ 336.4 GAE mg/g สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว มีปริมาณสาร phenolics ที่ใกล้เคียงกัน คือ 323.1 และ 307.5 GAE mg/g ตามลำดับ สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นมีปริมาณสาร phenolics น้อยกว่าเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย แต่มีค่าที่ใกล้เคียงกับจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด คือ 282.4 และ 279.4 GAE mg/g สารสกัดจากเมล็ดลำไยมีปริมาณ phenolics 155.8 GAE mg/g สารสกัดเมล็ดขนุนมีปริมาณ phenolics ที่ 43.6 GAE mg/g ส่วนสารสกัดจากเมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด และเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว มีปริมาณ phenolics ใกล้เคียงกัน คือ 28.8, 25.2 และ 20.2 GAE mg/g ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามสดให้ปริมาณ phenolics ต่ำที่สุดเท่ากับ 15.4 GAE mg/g

อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณหาปริมาณ phenolics เทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของวัตถุดิบที่นำมาสกัดสาร พบว่าสารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว มีปริมาณ phenolics สูงสุดที่ 137.89 GAE mg/g ส่วนสารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสดมีปริมาณ phenolics รองลงมาที่ 83.90 GAE mg/g สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยกับเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นมีปริมาณ phenolics ที่ใกล้เคียงกันคือ 22.30 และ 20.17 GAE mg/g สารสกัดเมล็ดมะละกอมีปริมาณ phenolics น้อยกว่าสารสกัดเมล็ดมะม่วงทั้งสองพันธุ์คือ 6.19 GAE mg/g สารสกัดส่วนที่เหลือมีปริมาณ phenolics น้อย คือ สารสกัดเมล็ดลำไย เมล็ดเงาะ เมล็ดขนุน เมล็ดมังคุด เนื้อในเมล็ด

ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ ด้วยวิธี DPPH scavenging test [133] **ทำโดยละลายสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ใน** DMSO **จากนั้นนำสารละลายที่ได้ปริมาตร** 50 **ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลาย** 1, 1 - diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 0.004 % w/v ในเมธานอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ที่เวลาเริ่มต้น และที่ 70 นาที โดยใช้ DMSO ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับ DPPH ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เป็นตัวควบคุม (blank) คำนวณจากสูตรค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition) และค่า Antiradical activity (1/ IC_{50}) ตามวิธีในหัวข้อการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้

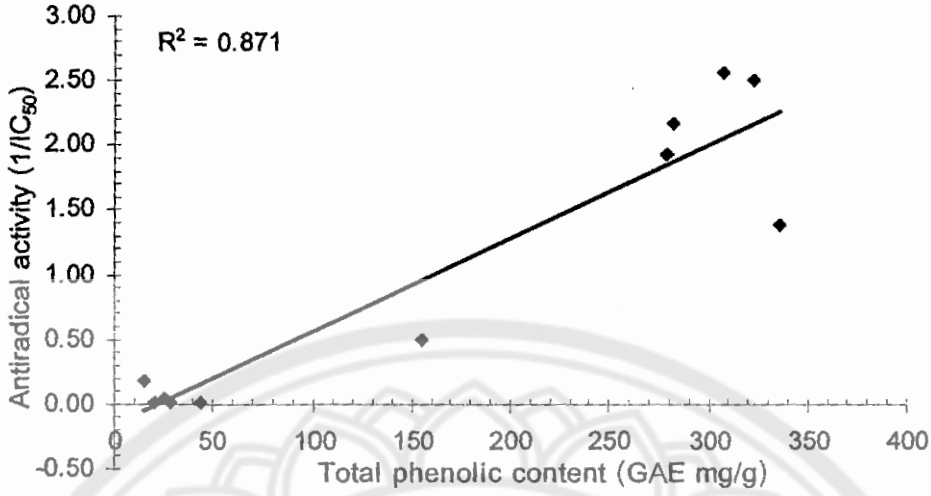
ผลการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ ที่มีผลยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ร้อยละ 50 (IC50) ของสาร แสดงในตาราง 3 พบว่าสารสกัดที่มีค่า IC50 น้อยสุดไปหามากสุด คือ สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด เมล็ดมะละกอ เมล็ดลำไย เนื้อในเมล็ดมะขามสด เมล็ดมังคุด เมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ และเนื้อในเมล็ดมะขาม ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดเท่ากับ 0.39 mg/ml และสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น และสารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด มีค่า IC_{50} ใกล้เคียงกันเท่ากับ 0.40, 0.46 และ 0.52 mg/ml ตามลำดับ สารสกัดจากเมล็ดลำไย เนื้อในเมล็ดมะขามสด และเมล็ดมังคุดมีค่า IC_{50} รองลงมาเท่ากับ 2.03, 5.43 และ 27.61 mg/mlตามลำดับ ส่วนสารสกัดเมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ และเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วมีค่า IC_{50} เท่ากับ 53.46, 57.62 และ 58.06 mg/ml ตามลำดับ และผลควบคุมบวกที่ทดสอบโดยใช้สารละลายมาตรฐาน Trolox มีค่า IC_{50} เท่ากับ 7.68 mg /ml

การวิเคราะห์หาค่าความสัมพันธ์ของปริมาณ phenolics กับ Antiradical activity (1/ IC_{50}) พบว่า ปริมาณ phenolics กับ Antiradical activity ค่อนข้างมีความสัมพันธ์เป็นปฏิภาคกันโดยตรง โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.871 (ภาพ 3) จากตาราง 3 พบว่าสารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว และเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [Antiradical activity (1/IC_{50})] ดีที่สุดและใกล้เคียงกันที่ 2.56 และ 2.50 ตามลำดับ สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด และเมล็ดมะละกอมีฤทธิ์รองลงมาเท่ากับ 2.17, 1.92 และ 1.39 ตามลำดับ สารสกัดเมล็ดลำไย เนื้อในเมล็ดมะขามสด และเมล็ดมังคุดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เท่ากับ 0.49, 0.18 และ 0.04 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่เหลือได้แก่ สารสกัดเมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ และเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดเท่ากับ 0.02

ตาราง 3 แสดงปริมาณ phenolics และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้

สารสกัดจากเมล็ดผลไม้	Phenolic content (GAE mg/g)	Antiradical activity	
		IC_{50}(mg/ml)	1/ IC_{50}
มะละกอ	336.4±29.9	0.72 ± 0.0	1.39
มะม่วงพันธุ์เขียวเสวย	323.1±5.2	0.40 ± 0.0	2.50
เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	307.5±15.8	0.39 ± 0.0	2.56
มะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น	282.4 ±20.7	0.46 ± 0.0	2.17
เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด	279.4 ±21.3	0.52 ± 0.0	1.92
ลำไย	155.8 ±19.4	2.03 ± 0.0	0.49
ขนุน	43.6 ± 2.2	53.46 ± 1.0	0.02
เงาะ	28.8 ± 2.2	57.62 ± 0.2	0.02
มังคุด	25.2 ± 0.8	27.61 ± 0.9	0.04
เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	20.2 ±1.4	58.06 ± 0.8	0.02
เนื้อในเมล็ดมะขามสด	**15.4 ±1.3**	**5.43 ± 0.0**	**0.18**



ภาพ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ phenolics กับ Antiradical activity (1/ IC_{50})

ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเบื้องต้นต่อแบคทีเรียกลุ่มที่มักปนเปื้อนกับอาหารของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ แสดงดังในตาราง 4, 7 และ 9 ซึ่งเป็นผลจากการทดสอบด้วยวิธี disc diffusion method [134] ที่เป็นการทดสอบเบื้องต้นเพื่อบ่งชี้ว่าสารสกัดนั้นมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหรือไม่ จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกลุ่มนี้ทั้ง 9 สายพันธุ์ที่นำมาทดสอบคือ *E. coli*, *S. aureus*, S. Typhi, *S. sonnei*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* และ *S. marcescens* โดยให้ขนาดของโซนใสต่อเชื้ออยู่ระหว่าง 10-19 มิลลิเมตร สารสกัดที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์แคบลงมาคือมีผลต่อแบคทีเรียน้อยกว่า 9 สายพันธุ์ ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในมะขามสด เมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด เมล็ดลำไย เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว เปลือกหุ้มเนื้อในมะขามคั่ว เนื้อในเมล็ดมะขามสด ตามลำดับ โดยที่สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสดมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ คือ *B. cereus*, *B. subtilis* *P. aeruginosa* และ *S. marcescens* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 11.7, 9, 12 และ 14.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ สารสกัดเมล็ดเงาะมีฤทธิ์ต่อ *B. cereus*, *B. subtilis* และ *L. monocytogenes* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 6.2, 8.3 และ 8 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดเมล็ดมังคุดมีฤทธิ์ต่อ *B. cereus*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 7, 7.3 และ 7 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดเมล็ดลำไยมีฤทธิ์ต่อ

B. cereus, *B. subtilis* และ *S. marcescens* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 8.7, 7.5 และ 17.7 ตามลำดับ สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วมีฤทธิ์ต่อ *B. cereus*, *B. subtilis* และ *S. aureus* โดยมีขนาดของโซนใสเท่ากับ 7.3 มิลลิเมตร ทุกสายพันธุ์ สารสกัดที่มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรีย 1 สายพันธุ์ คือ สารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วมีฤทธิ์ต่อ *S. marcescens* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 11.3 มิลลิเมตร สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามสดมีฤทธิ์ต่อ *B. cereus* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 7 มิลลิเมตร และสารสกัดจากเมล็ดขนุนไม่มีฤทธิ์ต้านต่อแบคทีเรียทดสอบทั้ง 9 สายพันธุ์ จะเห็นได้ว่าเชื้อที่ไวต่อสารสกัด ได้แก่ *B. cereus* โดยสารสกัดที่นำมาทดสอบทุกชนิด ยกเว้นสารสกัดจากเมล็ดขนุนและสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขาม มีฤทธิ์ต่อ *B. cereus* ในขณะที่ gentamicin (10 ไมโครกรัม) มีฤทธิ์ต้านต่อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ ส่วน ampicillin (10 ไมโครกรัม) และ chloramphenicol (30 ไมโครกรัม) ไม่มีผลต่อ *S. sonnei* และ *P. aeruginosa* โดยยาปฏิชีวนะทั้งสามนี้ให้ขนาดของโซนใสระหว่าง 10-30 มิลลิเมตร

นอกจากนี้สารสกัดทั้งสามชนิดที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้างต่อแบคทีเรียกลุ่มที่มักปนเปื้อนมาในอาหาร ยังมีขอบข่ายออกฤทธิ์ที่กว้างต่อแบคทีเรียกลุ่มที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ(ตาราง 5) คือ สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกลุ่มดื้อต่อยาปฏิชีวนะสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ คือ MRSA 3 สายพันธุ์ *P. aeruginosa* 3 สายพันธุ์, *A. baumannii* 3 สายพันธุ์ และ *S. pneumoniae* อีกหนึ่งสายพันธุ์ด้วย โดยให้ขนาดของโซนใสต่อเชื้ออยู่ระหว่าง 14-21 มิลลิเมตร สารสกัดที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์รองลงมาคือ สารสกัดจากเมล็ดลำไย เมล็ดมังคุด เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด เมล็ดเงาะ เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว และเนื้อในเมล็ดมะขามสด โดยสารสกัดจากเมล็ดลำไยมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *P. aeruginosa*, *A. baumannii* และ *S. pneumoniae* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 12-19, 7-9 และ 18 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนมังคุดมีฤทธิ์ต่อ MRSA และ *S. pneumoniae* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 7-8 และ 16 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสดมีฤทธิ์ต่อ *P. aeruginosa* และ *S. pneumoniae* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 18 มิลลิเมตร ทั้งสองสายพันธุ์ สารสกัดจากเมล็ดเงาะมีฤทธิ์ต่อ *S. pneumoniae* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 12 มิลลิเมตร สารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วมีฤทธิ์ต่อ *P. aeruginosa* ให้ขนาดของโซนใสเท่ากับ 15.3 มิลลิเมตร และสารสกัดที่ไม่มีฤทธิ์ต้านต่อแบคทีเรียกลุ่มดื้อยาที่ทดสอบ คือ สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามสด และสารสกัดเมล็ดขนุน การทดสอบความไวต่อ ampicillin (10 ไมโครกรัม) และ chloramphenicol (30 ไมโครกรัม) พบว่า MRSA และ *S. pneumoniae* ไวต่อยาปฏิชีวนะทั้ง

สองนี้ ให้ขนาดของโซนใสตั้งแต่ 7- 45 มิลลิเมตร และมีฤทธิ์ต้าน *P. aeruginosa* และ *A baumannii* ส่วน gentamicin (10 ไมโครกรัม) มีฤทธิ์ต่อ *P. aeruginosa* และ *S. pneumoniae* ให้ขนาดของโซนใสต่อเชื้อในช่วง 12-15 มิลลิเมตร

การศึกษาในครั้งนี้ทำการหาค่า MIC หรือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ ด้วยวิธี agar dilution method และค่า MBC หรือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อ ด้วยวิธี broth microdilution method โดยทำใน 96-well microtiter plate ในเชื้อกลุ่มที่มักปนเปื้อนกับอาหารและกลุ่มดื้อยา ผลการทดสอบหาค่า MIC แสดงดังในตาราง 6 และ 7 และผลการทดสอบ MBC แสดงดังในตาราง 8 และ 9 ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดทั้งสามชนิดคือ สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอ มีค่า MIC ต่อเชื้อ ที่ 250-1 ,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ยา chloramphenicol มีค่า MIC ที่ 64-512 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเชื้อกลุ่มมักปนเปื้อนกับอาหารที่นำมาทดสอบทั้งหมด พบว่ามีสารสกัดหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อ *B. cereus* และ *B. subtilis* ได้แก่ มะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น มะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เมล็ดมะละกอ เมล็ดเงาะ โดยมีค่า MIC ที่ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วและไม่คั่วมีค่า MIC ต่อ *B. cereus* ที่ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอ มีค่า MBC ต่อ *B. cereus* ที่ 2,500-5,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยเมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะ คือ chloramphenicol มีค่า MIC และ MBC ที่ 64 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 128 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดที่มีฤทธิ์ต่อ *S. marcescens* ได้แก่ สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เมล็ดมะละกอมีค่า MIC ที่ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัด 4 ชนิด คือ เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดลำไย เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามทั้งคั่วและสด มีค่า MIC ที่ 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีค่า MBC 1,250 และ 2,500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในสารสกัดเมล็ดมะละกอ และเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย สารสกัดที่มีค่า MBC 5,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร คือ สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดลำไย สารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามที่คั่วและไม่คั่ว ในขณะที่ *S.marcescens* ไวต่อ chloramphenicol มีค่า MIC 64 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ MBC ที่ 256 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งถือว่าสารสกัดสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เมล็ดมะละกอ เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดลำไย เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามทั้งคั่วและสด มีฤทธิ์ต้าน *S. marcescens* ได้ดี มีค่า MIC และ MBC >10,000 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ต่อ *E. coli*, *S. aureus*, *S.* Typhi, *S. Sonnei*, *P. aeruginosa* และ

L. monocytogenes ส่วนสารสกัดที่เหลือคือสารสกัดเมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด เมล็ดลำไย สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วและไม่คั่ว สารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วและไม่คั่ว นอกจากนี้สารสกัดทั้ง 3 ชนิดคือ สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอ ยังมีฤทธิ์ต้านต่อแบคทีเรียกลุ่มดื้อยาได้ดีเช่นเดียวกัน โดย มีค่า MIC ที่ 250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และค่า MBC ที่ 2,500 - 5,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อ *P. aeruginosa* 19222 และ *P. aeruginosa* 19232 ในขณะที่ มีค่า MIC 64-128 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ MBC ที่ 128-256 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไวต่อ chloramphenicol นอกจากนี้สารสกัดทั้งสาม ยังมีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียกลุ่มดื้อยาสายพันธุ์อื่นที่นำมาทดสอบ โดยมีค่า MIC 500 - 1,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ MBC ที่ 5,000-10,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนสารสกัดที่เหลือ คือ สารสกัดเมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด เมล็ดลำไย สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วและไม่คั่ว สารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วและไม่คั่ว มีค่า MIC และ MBC > 10,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อแบคทีเรียกลุ่มดื้อยาทั้งหมดที่ทดสอบ

ตาราง 4 ขนาดของ clear zone (มิลลิเมตร) ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ทดสอบต่อแบคทีเรียกลุ่มที่มักปนเปื้อนกับอาหารด้วยวิธี disc diffusion method

สารสกัดจากเมล็ดผลไม้ที่ความเข้มข้น 1,500 µg /disc	clear zone ของแบคทีเรียที่ทดสอบ (มิลลิเมตร)								
	E. coli DMST 4212	*S. aureus* TISIR 517148	*S.* Typhi DMST 5784	*S. Sonnei* DMST17564	*B. cereus* DMST 11778	*B. subtilis* DMST 15896	*P. aeruginosa* DMST 4739	*L .monocytogenes* DMST 17303	*S. marcescens* DMST 4228
มะม่วงฟ้าลั่น	17.5 ± 0.7	14.7 ± 1.2	10.0 ± 0	12.5 ± 0.7	14.7 ± 1.2	15.3 ± 0.6	16.3 ± 0.6	15.5 ± 0	16.7 ± 0.6
มะม่วงเขียวเสวย	19.0 ± 0	14.7 ± 1.2	16.0 ± 1.0	14.0 ± 0	14.7 ± 1.2	14.3 ± 1.5	16.3 ± 3.2	15.5 ± 0.7	17.0 ± 1.0
มะละกอ	13.0 ± 0	15.7 ± 2.1	15.5 ± 0.7	13.0 ± 1.4	13.0 ± 1.0	13.3 ± 1.2	13.5 ± 0.7	15.6 ± 0.7	19.3 ± 1.2
ขนุน	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
เงาะ	NZ	NZ	NZ	NZ	6.2 ± 0	8.3 ± 0.6	NZ	8.0 ± 1.7	NZ
มังคุด	NZ	7.0 ± 0	NZ	NZ	7.0 ± 0	7.3 ± 0.6	NZ	NZ	NZ
ลำไย	NZ	NZ	NZ	NZ	8.7 ± 1.5	7.5 ± 0.7	NZ	NZ	17.7 ± 0.6

หมายเหตุ NZ = ไม่เกิดโซนใส (no clear zone)

ตาราง 4 (ต่อ)

สารสกัดจากเมล็ดผลไม้ที่ความเข้มข้น 1,500 µg/disc	clear zone ของแบคทีเรียที่ทดสอบ (มิลลิเมตร)								
	E. coli DMST 4212	*S. aureus* TISIR 517148	*S.* Typhi DMST 5784	*S. Sonnei* DMST17564	*B. cereus* DMST 11778	*B.subtilis* DMST 15896	*P.aeruginosa* DMST 4739	*Lmonocytogenes* DMST 17303	*S.marcescens* DMST 4228
เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	NZ	7.3 ± 0.6	NZ	NZ	7.3 ± 0.6	7.3 ± 1.5	NZ	NZ	NZ
เนื้อในเมล็ดมะขามสด	NZ	NZ	NZ	NZ	7.0± 0	NZ	NZ	NZ	NZ
เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	11.3 ± 1.2
เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด	NZ	NZ	NZ	NZ	11.7 ±1.2	9.0 ±0	12.0 ±0	NZ	14.3 ±0.6
Ampicilin (10 µg /disc)	21.5 ±0.7	29.5 ± 0.7	33.0 ± 0	NZ	10.5 ± 0.7	33.5 ± 2.1	NZ	12.5 ± 0.7	NZ
Chloramphenicol (30 µg / disc)	28.5 ± 2.1	27.5 ± 0.7	30.0 ± 0	NZ	22.5 ± 0.7	31.5 ± 2.1	NZ	19.5 ± 2.1	23.5 ± 0.7
Gentamicin (10 µg /disc)	20.0± 0	22.0 ± 1.4	25.0 ± 1.4	15.5 ± 0.7	21.5 ± 2.1	28.5 ± 2.1	18.0 ± 0	18.5 ± 0.7	24.0 ± 0

หมายเหตุ NZ = ไม่เกิดโซนใส (no clear zone)

ตาราง 5 ขนาดของ clear zone (มิลลิเมตร) ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ทดสอบต่อแบคทีเรียกลุ่มดื้อยา *S.. aureus* (MRSA) และ *P. aeruginosa* ด้วยวิธี disc diffusion method

สารสกัดจากเมล็ดผลไม้ที่ความเข้มข้น 1,500 µg /disc	clear zone **ของแบคทีเรียที่ทดสอบ (มิลลิเมตร)**					
	MRSA BH1	MRSA BH2	MRSA BH3	*P. aeruginosa* DMST 19214	*P. aeruginosa* DMST 19222	*P. aeruginosa* DMST 19232
มะม่วงฟ้าลั่น	14.3 ± 0.6	17.6 ± 0.6	14.7 ± 0.6	14.0 ± 1.0	16.7 ± 1.2	15.3 ± 0.6
มะม่วงเขียวเสวย	14.0 ± 1.0	18.3 ± 0.6	18.3 ± 0.6	16.3 ± 2.1	16.0 ± 1.0	16.3 ± 0.6
มะละกอ	14.7 ± 1.5	15.3 ± 0.6	18.0 ± 1.0	14.3 ± 1.2	17.0 ± 1.7	14.3 ± 1.5
ขนุน	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
เงาะ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
มังคุด	8.0 ± 1.7	7.3 ± 0.6	7.7 ± 1.2	NZ	NZ	NZ
ลำไย	NZ	NZ	NZ	18.0 ± 2.6	19.3 ± 1.2	12.3 ± 1.5

หมายเหตุ NZ = ไม่เกิดโซนใส (no clear zone)

ตาราง 5 (ต่อ)

สารสกัดจากเมล็ดผลไม้ ที่ความเข้มข้น 1,500 µg /disc	clear zone ของแบคทีเรียที่ทดสอบ (มิลลิเมตร)					
	MRSA BH1	MRSA BH2	MRSA BH3	*P. aeruginosa* DMST 19214	*P. aeruginosa* DMST 19222	*P. aeruginosa* DMST 19232
เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
เนื้อในเมล็ดมะขามสด	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	NZ	NZ	NZ	15.3 ± 0.6	NZ	NZ
เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด	NZ	NZ	NZ	18.7 ± 0.6	NZ	NZ
Ampicilin (10 µg /disc)	7.0 ± 0	NZ	7.0 ± 0	NZ	NZ	NZ
Chloramphenicol (30 µg /disc)	23.5 ± 0.7	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
Gentamicin (10 µg /disc)	NZ	NZ	NZ	12.5 ± 2.1	NZ	NZ

หมายเหตุ NZ = ไม่เกิดโซนใส (no clear zone)

ตาราง 6 ขนาดของ clear zone (มิลลิเมตร) ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ทดสอบต่อกลุ่มแบคทีเรียที่ดื้อยา *A. baumannii* และ *S. pneumoniae* ด้วยวิธี disc diffusion method.

สารสกัดจากเมล็ดผลไม้ ที่ความเข้มข้น 1,500 µg /disc	clear zone ของแบคทีเรียที่ทดสอบ (มิลลิเมตร)					
	A. baumannii DMST 1120	*A. baumannii* DMST 1118	*A. baumannii* DMST 1113	*S. pneumonia* DMST 7591	*S. pneumoniae* DMST 8226	*S. pneumoniae* DMST 19616
มะม่วงฟ้าลั่น	15.3 ± 0.6	16.0 ± 1.0	15.0 ± 1.7	NZ	14.0 ± 0	NZ
มะม่วงเขียวเสวย	15.3 ± 0.6	18.3 ± 1.5	16.3 ± 1.2	NZ	20.0 ± 0	NZ
มะละกอ	14.7 ± 1.2	15.7 ± 0.6	16.0 ± 1.7	NZ	21.0 ± 0	NZ
ขนุน	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
เงาะ	NZ	NZ	NZ	12.0 ± 0	NZ	NZ
มังคุด	NZ	NZ	NZ	16.0 ± 0	NZ	NZ
ลำไย	7.7 ± 1.2	NZ	9.7 ± 0.6	NZ	18.0 ± 0	NZ

หมายเหตุ NZ = ไม่เกิดโซนใส (no clear zone)

ตาราง 6 (ต่อ)

สารสกัดจากเมล็ดผลไม้ที่ความเข้มข้น 1,500 µg /disc	clear zone ของแบคทีเรียที่ทดสอบ (มิลลิเมตร)					
	A. baumannii DMST 1120	*A. baumannii* DMST 1118	*A. baumannii* DMST 1113	*S. pneumoniae* DMST 7591	*S. pneumoniae* DMST 8226	*S. pneumoniae* DMST 19616
เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
เนื้อในเมล็ดมะขามสด	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ
เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด	NZ	NZ	NZ	NZ	18.0 ± 0	NZ
Ampicilin (10 µg /disc)	NZ	NZ	NZ	45.0 ± 0	35.0 ± 0	37.0 ± 0
Chloramphenicol (30 µg /disc)	NZ	NZ	NZ	8.5 ± 0	10.0 ± 0	9.0 ± 0
Gentamicin (10 µg /disc)	NZ	NZ	NZ	13.5 ± 0	14.5 ± 0	15.0 ± 0

หมายเหตุ NZ = ไม่เกิดโซนใส (no clear zone)

ตาราง 7 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ทดสอบต่อแบคทีเรียกลุ่มที่มักปนเปื้อนกับอาหาร ด้วยวิธี agar dilution method

เชื้อที่ทดสอบ	ความเข้มข้นของสาร (µg /ml)											
	มะม่วงฟ้าลั่น	มะม่วงเขียวเสวย	มะละกอ	ขนุน	เงาะ	มังคุด	ลำไย	เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	เนื้อในเมล็ดมะขามสด	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามตั้ว	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด	Chloramphenicol
E. coli DMST 4212	1000	250	500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	64
S. aureus TISTR 517148	500	250	500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	64
S. Typhi DMST 5784	1000	250	250	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	64
S. sonnei DMST 17564	1000	500	500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	256
B. cereus DMST 11778	250	250	250	>10000	500	10000	1000	500	500	>10000	1000	64
B. subtilis DMST 15896	250	250	250	>10000	10000	>10000	1000	1000	>10000	>10000	1000	64
P. aeruginosa DMST 4739	500	500	250	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	1000	128
L. monocytogenes DMST 17303	1000	1000	1000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	64
S. marcescens DMST 4228	500	250	250	>10000	>10000	>10000	500	>10000	>10000	500	500	64

ตาราง 8 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ทดสอบต่อแบคทีเรียกลุ่มดื้อยา ด้วยวิธี agar dilution method

เชื้อที่ทดสอบ	ความเข้มข้นของสาร (µg /ml)											
	มะม่วงฟ้าลั่น	มะม่วงเขียวเสวย	มะละกอ	ขนุน	เงาะ	มังคุด	ลำไย	เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	เนื้อในเมล็ดมะขามสด	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด	Chloramphenicol
MRSA BH1	1000	500	500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
MRSA BH2	500	500	500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
MRSA BH3	1000	500	500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	256
P. aeruginosa DMST 19214	10000	500	500	>10000	>10000	>10000	1000	>10000	>10000	10000	10000	64
P. aeruginosa DMST 19222	250	250	250	>10000	>10000	>10000	1000	>10000	>10000	10000	10000	64
P. aeruginosa DMST 19232	250	250	500	>10000	>10000	>10000	10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
A. baumannii DMST 1120	500	500	250	>10000	>10000	>10000	10000	>10000	>10000	>10000	>10000	512
A. baumannii. DMST 1118	1000	250	1000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	512
A. baumannii DMST 1113	500	500	1000	>10000	>10000	>10000	10000	>10000	>10000	>10000	>10000	512
S. pneumoniae DMST 7591	10000	1000	1000	10000	250	1000	>10000	1000	500	>10000	>10000	64
S. pneumoniae DMST 8226	10000	1000	10000	10000	10000	10000	10000	10000	>10000	>10000	>10000	64
S. pneumoniae DMST 19616	10000	10000	10000	>10000	5000	>10000	>10000	1000	10000	>10000	>10000	128

ตาราง 9 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย (MBC) ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ทดสอบต่อแบคทีเรียกลุ่มที่มักปนเปื้อนกับอาหาร ด้วยวิธี broth microdilution method

เชื้อที่ทดสอบ	ความเข้มข้นของสาร (µg /ml)											
	มะม่วงฟ้าลั่น	มะม่วงเขียวเสวย	มะละกอ	ขนุน	เงาะ	มังคุด	ลำไย	เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	เนื้อในเมล็ดมะขามสด	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด	Chloramphenicol
E. coli DMST 4212	5000	2500	2500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
S. aureus TISTR 517148	10000	2500	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
S. typhi DMST 5784	10000	2500	2500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
S. sonnei DMST 17564	10000	2500	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
B. careus DMST 11778	5000	2500	2500	>10000	>10000	>10000	10000	10000	>10000	>10000	>10000	128
B. subtilis DMST 15896	5000	2500	1250	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
P. aeruginosa DMST 4739	5000	2500	2500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
L. monocytogenes DMST 17303	10000	10000	10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	256
S. marcescens DMST 4228	5000	2500	1250	>10000	>10000	>10000	5000	>10000	>10000	5000	5000	256

ตาราง 10 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย (MBC) ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ต่อแบคทีเรียกลุ่มดื้อยา ด้วยวิธี broth microdilution method

เชื้อที่ทดสอบ	ความเข้มข้นของสาร (µg /ml)											
	มะม่วงฟ้าลั่น	มะม่วงเขียวเสวย	มะละกอ	ขนุน	เงาะ	มังคุด	ลำไย	เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	เนื้อในเมล็ดมะขามสด	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว	เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด	Chloramphenicol
MRSA BH1	5000	10000	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	512
MRSA BH2	5000	5000	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	512
MRSA BH3	10000	5000	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
P. aeruginosa DMST 19214	>10000	5000	2500	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
P. aeruginosa DMST 19222	5000	2500	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	128
P. aeruginosa DMST 19232	2500	2500	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	256
A. baumannii DMST 1120	>10000	5000	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	256
A. baumannii DMST 1118	>10000	5000	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	500
A. baumannii DMST 1113	>10000	5000	5000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	>10000	500
S. pneumoniae DMST 7591	100000	10000	10000	100000	5000	10000	>100000	10000	10000	>100000	>100000	128
S. pneumoniae DMST 8226	100000	10000	100000	>100000	100000	100000	>100000	>100000	>100000	>100000	>100000	128
S. pneumoniae DMST 19616	100000	100000	10000	>10000	5000	>100000	>100000	>100000	>100000	>100000	>100000	128

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบการก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอมส์

แบคทีเรีย *S.* Typhimurium ก่อนนำมาทำการทดสอบต้องมีการตรวจสอบคุณสมบัติของแบคทีเรีย ซึ่งคุณสมบัติของ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100 ได้แก่ ความต้องการกรดอะมิโนฮิสทีดีนในการเจริญเติบโต การตรวจการก่อกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีตามธรรมชาติ การตรวจ rfa mutation การตรวจ uvrB mutation และการตรวจ R-factor ผลแสดงดังตาราง 11 จากผลการทดสอบพบว่า Background (BG) ซึ่งเป็นเป็น spontaneous mutation ของแบคทีเรียสายพันธุ์ TA 98 มี 15 โคโลนี ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ TA 100 มี 102 โคโลนี ซึ่งเป็น spontaneous mutation ปกติของ *S.* Typhimurium ทั้ง 2 สายพันธุ์นี้ ผลการตรวจสอบความต้องการกรดอะมิโนฮีสทีดีน (histidine requirement) ในการเจริญเติบโต *S.* Typhimurium ทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100 จะเจริญได้ในจานอาหารที่เติมกรดอะมิโนฮีสทีดีนลงไปในอาหารเท่านั้น การตรวจสอบ R-factor ใน *S.* Typhimurium ทั้งสายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100 มีคุณสมบัติในการดื้อต่อยาแอมพิซิลลินโดยไม่เกิดโซนใส การตรวจคุณสมบัติ rfa mutation *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 เกิดโซนใสเส้นผ่าศูนย์กลาง 17 มิลลิเมตร และสายพันธุ์ TA 100 เกิดโซนใส เส้นผ่าศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร เมื่อทดสอบกับสารละลาย Cystal violet 0.1 % การตรวจuvrB mutation *S.* Typhimurium ทั้งสายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100 มีคุณสมบัติไวต่อแสง UV โดยพบว่าแถบที่ถูกแสง UV จะไม่มีการเจริญของเชื้อ

ตาราง 11 คุณสมบัติของเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100

เชื้อทดสอบ	BG (DMSO)	His- จำนวนโคโลนี/plate	His+ จำนวนโคโลนี/plate	Ampicillin Resistant	Crystal violet	UV
S.Typhimurium สายพันธุ์ TA 98	15	0	20	ไม่พบโซนใส	โซนใสเส้นผ่าศูนย์กลาง 17 มิลลิเมตร	ไม่มีการเจริญของเชื้อ
S.Typhimurium สายพันธุ์ TA 100	102	0	120	ไม่พบโซนใส	โซนใสเส้นผ่าศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร	ไม่มีการเจริญของเชื้อ

หมายเหตุ

BG = background โดยนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นเป็น spontaneous mutation

UV = Ultraviolet

His = Histidine

DMSO = Dimethyl sulfoxide

ผลการตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสาร NQO ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100

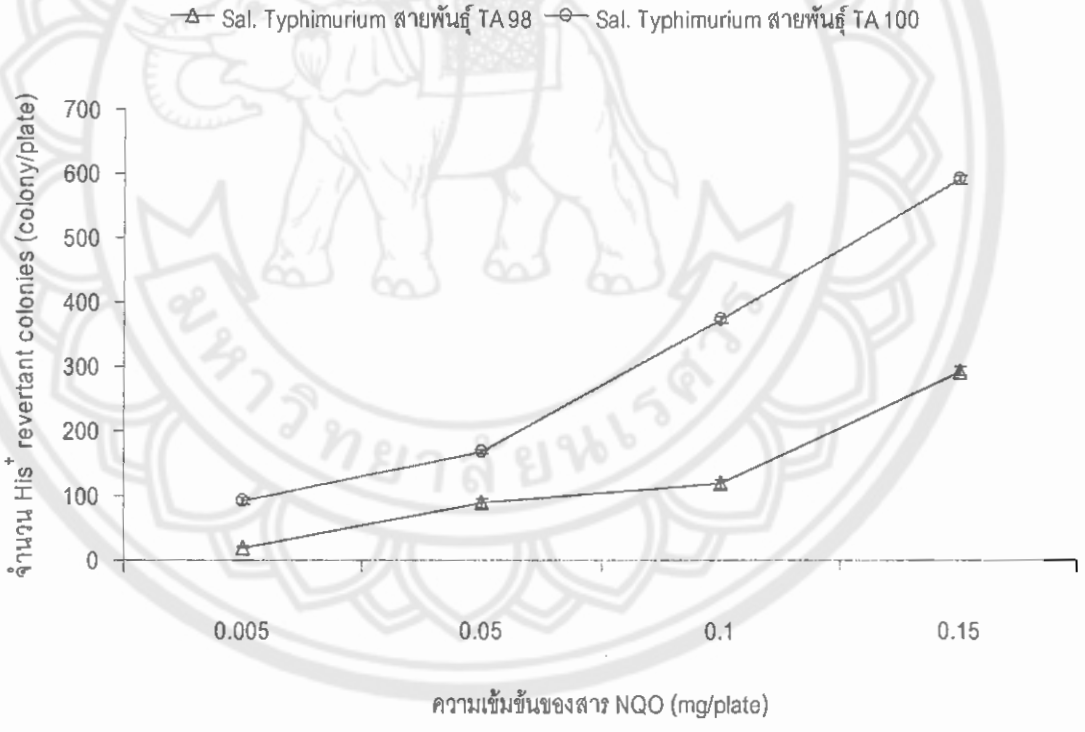
สาร 4-nitroquinoline-1-oxide (NQO) ที่ความเข้มข้น 0.005, 0.05, 0.10 และ 0.15 mg/plate นำมาทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100 เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสาร NQO เพื่อนำมาใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากพืชต่อไป ผลการทดสอบในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 ที่ความเข้มข้น 0.005, 0.05, 0.10 และ 0.15 mg/plate มีจำนวนโคโลนีที่นับได้เฉลี่ย คือ 20.17, 89, 118.17 และ 293 ตามลำดับ (ตาราง 12) ผลการทดสอบในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 100 ที่ความเข้มข้น 0.005, 0.05, 0.10 และ 0.15 mg/plate มีจำนวนโคโลนีที่นับได้เฉลี่ย คือ 91.83, 168.50, 372.50 และ 590.83 ตามลำดับ (ตาราง 13) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ ใช้ NQO ที่ 0.05 mg/plate เนื่องจาก NQO ที่ความเข้มข้นดังกล่าวก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ในปริมาณที่เหมาะสม

ตาราง 12 ผลการทดสอบฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ของ NQO ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98

ความเข้มข้นของ NQO (mg/plate)	จำนวน colony / plate						$\bar{x}$	SD
	1	2	3	4	5	6		
0.005	20.00	19.00	20.00	22.00	21.00	19.00	20.17	1.17
0.05	90.00	95.00	89.00	83.00	80.00	97.00	89.00	6.60
0.10	114.00	110.00	118.00	127.00	115.00	125.00	118.17	6.62
0.15	300.00	298.00	285.00	290.00	295.00	290.00	293.00	5.66
DMSO	21.00	23.00	22.00	20.00	25.00	19.00	21.67	2.16

ตาราง 13 ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของ NQO ในเชื้อ S. Typhimurium สายพันธุ์ TA 100

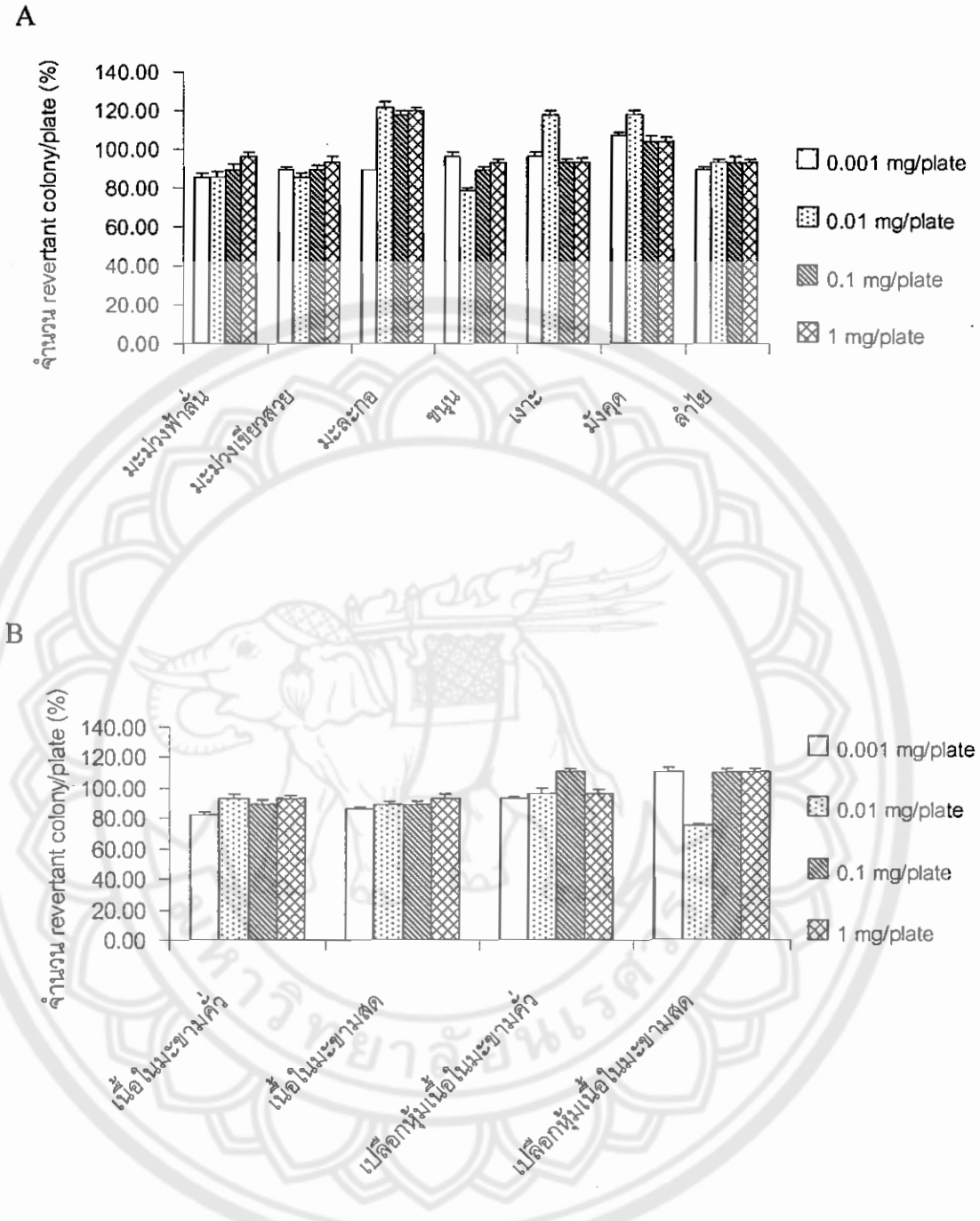
ความเข้มข้นของ NQO(mg/plate)	จำนวน colony / plate						$\bar{X}$	SD
	1	2	3	4	5	6		
0.005	95.00	86.00	87.00	99.00	99.00	85.00	91.83	6.58
0.05	170.00	172.00	170.00	165.00	165.00	169.00	168.50	2.88
0.10	371.00	365.00	378.00	375.00	378.00	368.00	372.50	5.39
0.15	585.00	584.00	591.00	602.00	593.00	590.00	590.83	6.49
DMSO	84.00	86.00	86.00	84.00	89.00	85.00	85.67	1.86



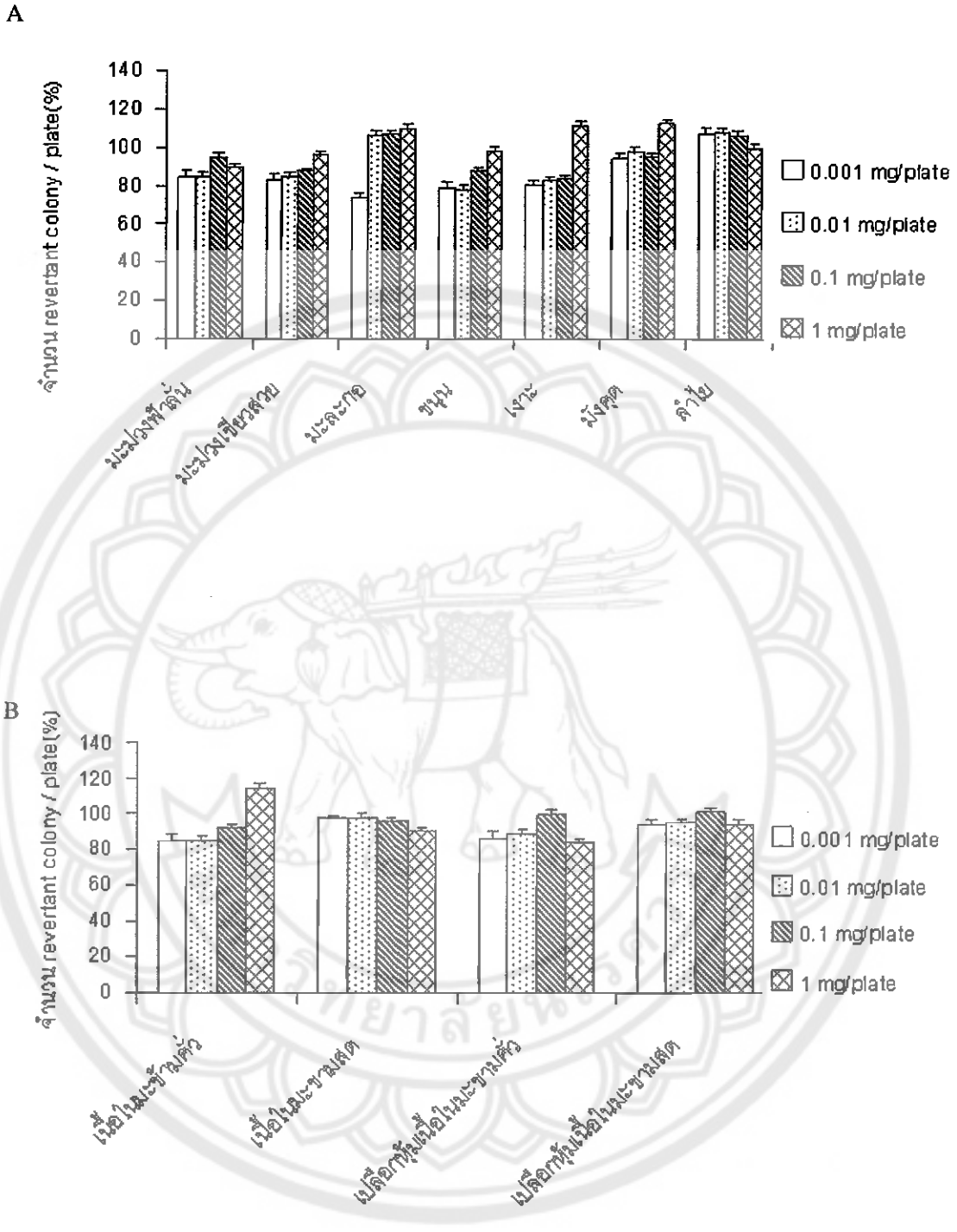
ภาพ 4 แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของ NQO ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อแบคทีเรีย S. Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100

ผลการตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้

ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ จำนวน 11 ชนิด พบว่า สารสกัดทั้ง 11 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เมล็ดมะละกอ เมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด เมล็ดลำไย สารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วและไม่คั่ว สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วและไม่คั่ว ที่ความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 mg/plate ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทั้งในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 และสายพันธุ์ TA 100 ที่ไม่มีเอนไซม์มากระตุ้น ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 ที่ความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 mg/plate มีความแตกต่างของจำนวนโคโลนีเพียงเล็กน้อย ในสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ทั้ง 11 ชนิด (ภาพ 5 A), (ภาพ 5 B) และ (ภาคผนวก ง ตาราง 15) ส่วน *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 100 ให้ผลในทำนองเดียวกันคือ ความเข้มข้นของสารสกัดไม่มีผลทำให้แบคทีเรียเกิดการกลายพันธุ์ได้ (ภาพ 6 A), (ภาพ 6 B) และ (ภาคผนวก ง ตาราง 15)



ภาพ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98

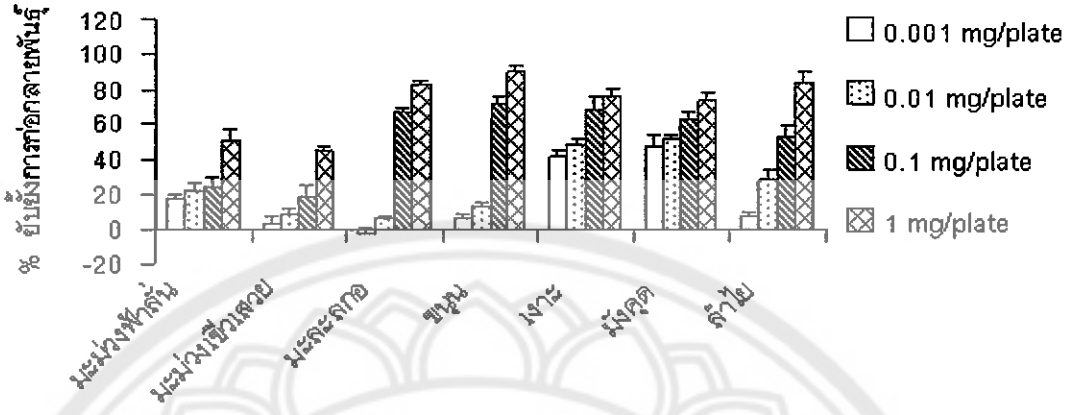


ภาพ 6 ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 100

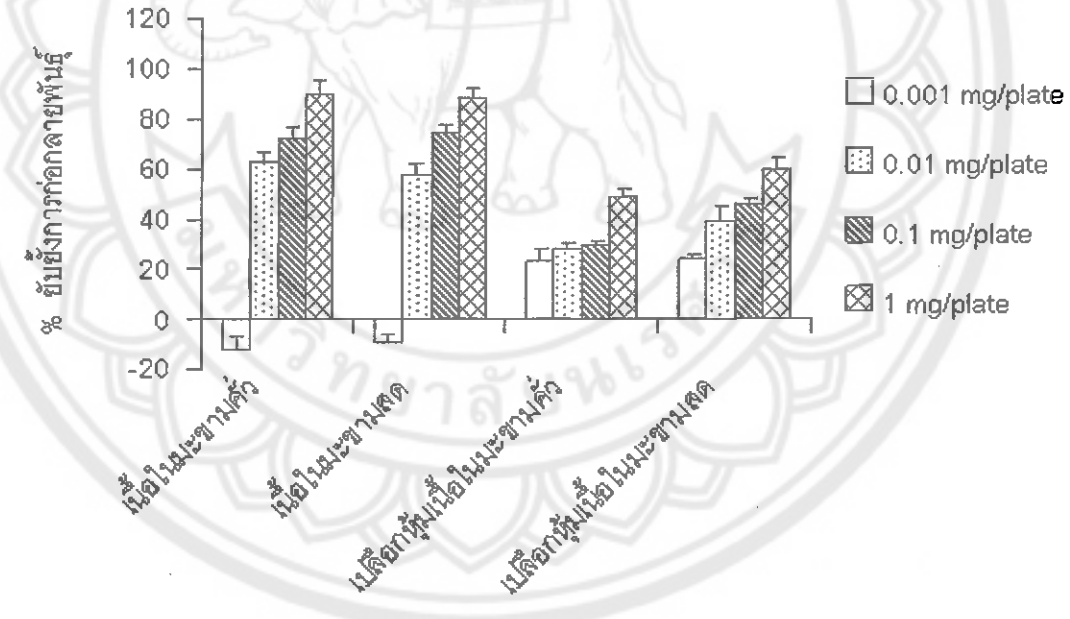
ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้

ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ทั้ง 11 ชนิด แสดงเป็นค่าร้อยละการยับยั้ง (percent inhibition) สารสกัดจากเมล็ดผลไม้แต่ละชนิด ดังแสดงในภาคผนวก จ ตาราง 16 และภาพ 7A, 7B, 8A และ 8B พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ที่วามเข้มข้นตั้งแต่ 0.001 ถึง 1 mg/plate สารสกัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้น 1 mg/plate ของสารสกัดทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ได้ดีที่สุด และพบว่าสารสกัดกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98 สูง ได้แก่ สารสกัดจากขนุน สารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว เนื้อในเมล็ดมะขามสด ลำไย และมะละกอ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งก่อกลายพันธุ์ที่ 89.65, 89.65, 88.50, 83.91 และ 82.76 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่เหลืออีก 6 ชนิด คือ เงาะ มังคุด สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด มะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว และมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย มีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งก่อกลายพันธุ์รองลงมาที่ 77.01, 73.56, 59.77, 50.57, 49.42 และ 44.83 ตามลำดับ และสารสกัดกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 100 สูง ได้แก่ สารสกัดจากมังคุด ลำไย เงาะ มะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น มะละกอ และมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งก่อกลายพันธุ์ที่ 98.76, 98.14, 95.03, 93.17, 88.82 และ 87.58 ตามลำดับ (ภาคผนวก จ ตาราง 16) ส่วนสารสกัดที่เหลืออีก 5 ชนิด คือ ขนุน สารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะขามสด สารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสดและคั่ว มีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งก่อกลายพันธุ์รองลงมาที่ 47.83, 40.10, 37.56, 36.55 และ 33.50 ตามลำดับ (ภาคผนวก จ ตาราง 16)

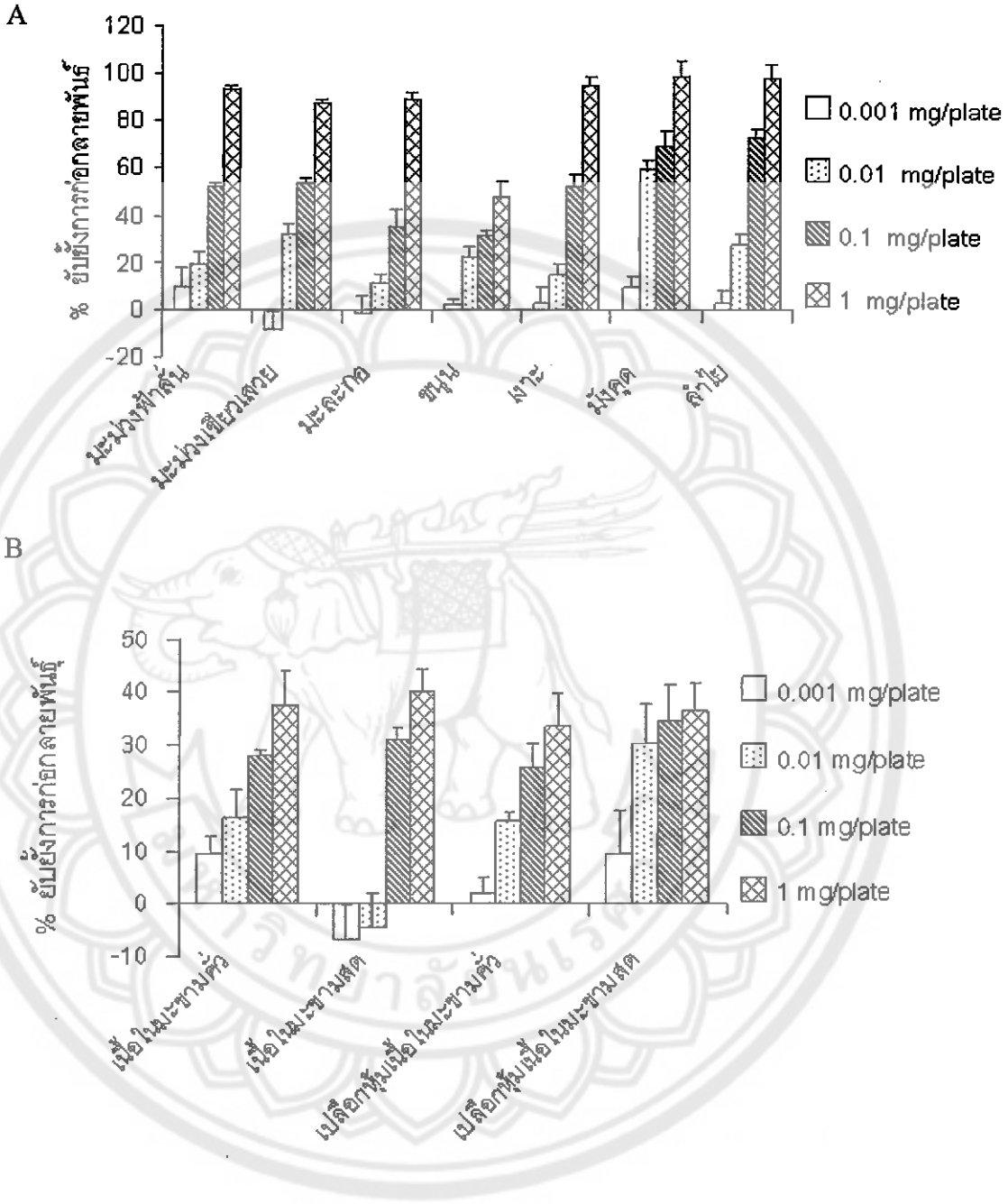
A



B



ภาพ 7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 98



ภาพ 8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ในเชื้อ *S.* Typhimurium สายพันธุ์ TA 100