

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การสกัดสารจากเมล็ดผลไม้ด้วยเมธานอล

จากผลของการสกัดสารจากเมล็ดผลไม้ด้วยเมธานอล (ตาราง 1) สามารถแบ่งสารสกัดออกตามปริมาณสารสกัดที่ได้ (% yield) เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกเป็นสารสกัดของเมล็ดผลไม้ที่ให้ปริมาณสารสกัดค่อนข้างมากคือ 30-45 % ได้แก่ เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่คั่วและเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่สด กลุ่มที่สอง ได้แก่ เนื้อในเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น และมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดเงาะพันธุ์โรงเรียน ให้ปริมาณสารสกัด 6-7 % กลุ่มที่ 3 ได้แก่ เมล็ดขนุนพันธุ์ศรีบรรจง เมล็ดมังคุด เมล็ดมะละกอสุก และเมล็ดลำไยพันธุ์อีดอ ให้ปริมาณสารสกัดอยู่ระหว่าง 1- 2 % และกลุ่มสุดท้าย ได้แก่ เนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่คั่ว และเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่สดที่ให้ปริมาณสารสกัดที่ค่อนข้างน้อยคือ < 1 % เท่านั้น ทั้งนี้ น่าจะเนื่องจากองค์ประกอบสารที่พบในเนื้อในเมล็ดของผลไม้ในกลุ่มสุดท้ายนี้ส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ซึ่งถูกสกัดออกมาได้น้อยด้วยเมธานอล [136] ผลการทดสอบพบว่าเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่คั่วให้ปริมาณของสารสกัดสูงสุดคือ 44.84% ในขณะที่เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่สดให้ปริมาณของสารสกัดเพียง 30% แสดงให้เห็นว่าการคั่วเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามทำให้ได้สารสกัดเพิ่มมากขึ้นประมาณ 2 เท่า และเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่คั่วให้ปริมาณของสารสกัดน้อยที่สุดคือ 0.75% ซึ่งใกล้เคียงกับเนื้อในเมล็ดมะขามเปรี้ยวแก่สดที่ 0.81% แสดงว่าการคั่วเนื้อในเมล็ดมะขามไม่ทำให้ได้สารสกัดเพิ่มขึ้นเหมือนกับการคั่วเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขาม เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของสารสกัด พบว่าส่วนใหญ่จะให้ลักษณะเหนียวหนืดสีน้ำตาล ยกเว้นเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามทั้งคั่วและสดจะให้สีน้ำตาลแดงละลายได้ดีในน้ำและมีความเข้มข้นสูงมาก นอกจากนี้กลิ่นที่ได้จากสารสกัดเป็นกลิ่นเฉพาะตัวของผลไม้แต่ละชนิด

ปริมาณ phenolics ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้

จากผลการศึกษาเพื่อหาปริมาณ phenolics ของสารสกัดที่ได้ โดยวิธีแข่งหมักกับเมธานอลในอัตราส่วน ผงละเอียดของเมล็ดผลไม้ 1 ส่วน ต่อเมธานอล 2 ส่วน ความแตกต่างในค่าการละลายของสารที่เป็นองค์ประกอบต่างๆของเมล็ดผลไม้ที่นำมาทดสอบเป็นผลให้ได้ % yield และปริมาณสารกลุ่ม phenolics ที่ต่างกัน การศึกษาครั้งนี้ใช้เมธานอลในการสกัดสารเนื่องจากเป็นสารละลายที่นิยมใช้กันมาก และระเหยออกได้ง่าย การเลือกใช้ตัวทำละลายเมธานอลเป็นสารที่มีค่า polarity index อยู่ในช่วง 5.1 และใกล้เคียงกับเอทานอลที่มีค่า polarity index อยู่ในช่วง 4.3 ซึ่งสามารถสกัดสารต่างๆที่อยู่ในสารตัวอย่างได้ดี [137] จากปริมาณของสาร phenolics ที่ได้ (ตาราง 2) ทำให้แบ่งสารสกัดออกได้เป็น 3 กลุ่ม กลุ่มแรกได้แก่ สารสกัดจากเมล็ดมะละกอ เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น และเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด ที่มีปริมาณ phenolics อยู่ระหว่าง 200-300 GAE mg/g สารสกัดกลุ่มที่สองได้แก่สารสกัดจากเมล็ดลำไยมีปริมาณ phenolics อยู่ระหว่าง 100-200 GAE mg/g และกลุ่มสุดท้ายได้แก่สารสกัดจากเมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด เนื้อในเมล็ดมะขามคั่วและเนื้อในเมล็ดมะขามสด ที่พบปริมาณ phenolics อยู่ระหว่าง 10-50 GAE mg/g ของน้ำหนักสารสกัด การศึกษาในครั้งนี้พบว่าในเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยมีปริมาณ phenolics สูงกว่าในเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ คือ มีค่าเฉลี่ยที่พบ 323.1 และ 282.4 GAE mg/g ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยจากจังหวัดลพบุรี ในช่วงเดือนพฤษภาคมเป็นมะม่วงที่ออกในฤดูกาล ส่วนมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นเก็บตัวอย่างจากจังหวัดพิษณุโลก เป็นมะม่วงที่ออกนอกฤดูกาลในช่วงเดือนตุลาคม ซึ่งมีความแตกต่างกันในสายพันธุ์แหล่งที่ปลูก และระยะเวลาการเก็บเกี่ยวนี้ มีผลต่อปริมาณสารองค์ประกอบในพืชที่พบได้ [136] นอกจากนี้ปริมาณ phenolics ของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสูงกว่าในเนื้อในเมล็ดมะขามประมาณถึง 17 เท่า และถึงแม้ว่าการคั่วเมล็ดมะขามจะมีผลทำให้ได้ปริมาณสารสกัดมากขึ้นในกรณีของเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดตามที่กล่าวมาแล้ว แต่จะเห็นได้ว่าไม่มีผลต่อปริมาณของสาร phenolics ในสารสกัด โดยสารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว และสารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด มีปริมาณ phenolics ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ คือมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 307.5 และ 279.4 GAE mg/g ตามลำดับ เช่นเดียวกับสารสกัดในเนื้อเมล็ดมะขาม ที่มีปริมาณ phenolics เท่ากับ 20.2 และ 15.4 GAE mg/g สำหรับสารสกัดในเนื้อเมล็ดคั่ว และสารสกัดในเนื้อเมล็ดสด ตามลำดับ

ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Soony et al. [10] ซึ่งพบว่าปริมาณ phenolics ในเมล็ดมะม่วงสุกที่สุด รองลงมาได้แก่ เมล็ดมะขาม เมล็ดลำไย และเมล็ดขนุน โดยมีปริมาณ phenolics เท่ากับ 117, 94.5, 62.6 และ 27.7 GAE mg/g ตามลำดับ ในสารสกัดชั้นต้นตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าค่าที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ ในการศึกษาของ Soony et al. [10] สกัดสารโดยทำการแช่หมักในเอธานอลกับน้ำในอัตราส่วน 50:50 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง แต่การศึกษาครั้งนี้เลือกใช้วิธีแช่หมักกับตัวทำละลายเมธานอลและในเวลาที่ยาวกว่าคือ 48 ชั่วโมง ซึ่งเวลาที่นานสามารถสกัดสารสำคัญออกมาได้มากกว่า ส่วนตัวทำละลายที่ใช้ใน การใช้ตัวทำละลายเอธานอล ถึงแม้ว่าจะสามารถสกัดสารได้ทั้งที่มีขี้และไม่มีขี้ใกล้เคียงกับเมธานอล ในขณะที่น้ำเป็นตัวทำละลายที่มีขี้สกัดได้เฉพาะสารที่มีขี้ค่อนข้างมากเท่านั้น ดังนั้นการผสมกันระหว่างเอธานอลและน้ำ ให้สารสกัดที่น้อยกว่าตัวทำละลายเอธานอลและเมธานอลเพียงอย่างเดียว

Maitree, S. et al. [138] รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงให้ปริมาณ phenolics น้อยกว่าสารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามประมาณ 8.6 เท่า โดยมีปริมาณ phenolics เท่ากับ 15.6 และ 134.4 GAE mg/g ตามลำดับ ในขณะที่การศึกษาในครั้งนี้พบว่าสารสกัดทั้งสองคือสารสกัดเมล็ดมะม่วงและสารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขาม มีปริมาณ phenolics ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น $P < 0.05$ ที่ 282.4 และ 307.5 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจจะมีปัจจัยมาจากความแตกต่างของแหล่งที่ปลูก สายพันธุ์ และอายุการเก็บเกี่ยว ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น และนอกจากนี้ยังมีความแตกต่างของวิธีสกัดกล่าวคือ ไมตรีและคณะสกัดสารโดยการแช่หมักในเอธานอลด้วยเวลาที่น้อยกว่าคือ 4.5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในขณะที่การศึกษาครั้งนี้แช่หมักกับเมธานอลเป็นเวลาถึง 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจเป็นผลให้ได้สารสกัดออกจากการสกัดในปริมาณที่มากกว่า

ในการสกัดสารจากเมล็ดผลไม้ที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ปริมาณ phenolics จะมีค่าแตกต่างกันมากเมื่อคำนวณค่าที่ได้เป็นต่อกรัมสารสกัด และต่อกรัมน้ำหนักวัตถุดิบเริ่มต้น เช่น เมล็ดมะละกอลูกสุกถ้าบดทิ้งไว้จนแห้งจะมีน้ำหนักลดลงมาก และมีปริมาณ phenolics ต่อกรัมสารสกัดเท่ากับ 336.4 GAE mg/g ปริมาณ phenolics ต่อกรัมน้ำหนักวัตถุดิบเริ่มต้นเท่ากับ 6.19 GAE mg/g (ตาราง 2) ดังนั้นในการนำไปประยุกต์ใช้ เช่น การทำผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากสารสกัดหรือจากวัตถุดิบเริ่มต้นต้องคำนึงถึงข้อมูลของปริมาณสาร phenolics ดังกล่าว

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ phenolics กับ Antiradical activity ($1/IC_{50}$)

ผลการตรวจสอบปริมาณ phenolics และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือ Antiradical activity ของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้ (ตาราง 3) จะเห็นได้ว่าค่า IC_{50} มีความสัมพันธ์เป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณของ phenolics และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบในสารสกัด คือเมื่อสารสกัดมีปริมาณ phenolics สูงมักจะมี IC_{50} ที่ต่ำ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ($1/IC_{50}$) ที่สูง เช่น จากการศึกษาที่ สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสดมีปริมาณ phenolics เท่ากับ 279.4 GAE mg/g และ IC_{50} ที่ 0.52 mg/ml โดยค่า Antiradical activity ที่ 1.92 ส่วนสารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามคั่วมีปริมาณ phenolics เท่ากับ 20.2 GAE mg/g แต่มีค่า IC_{50} ถึง 58.06 mg/ml และค่า Antiradical activity ที่ 0.02 ทั้งนี้ผลการตรวจสอบ IC_{50} พอแบ่งสารสกัดออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกพบปริมาณ phenolics อยู่ระหว่าง 200-300 GAE mg/g และมีค่า IC_{50} น้อยกว่า 1 mg/ml ได้แก่ สารสกัดเมล็ดมะละกอ มะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น และเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามสด กลุ่มที่สองพบปริมาณ phenolics อยู่ระหว่าง 100-200 GAE mg/g และมีค่า IC_{50} ระหว่าง 2-5 mg/ml ได้แก่ เมล็ดลำไย และกลุ่มสุดท้ายพบปริมาณ phenolics อยู่ระหว่าง 10-50 GAE mg/g มีค่า IC_{50} มากกว่า 5 mg/ml ได้แก่ สารสกัดจากเมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด เนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว และเนื้อในเมล็ดมะขามสด ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเมธานอลจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคั่ว โดยมีค่า IC_{50} ที่ 0.72 mg/ml และมีค่า Antiradical activity สูงสุดที่ 2.56 ในขณะที่สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะขามมีค่า IC_{50} ที่ 58.06 mg/ml และมีค่า Antiradical activity ที่ 0.02

ผลการศึกษาที่มีรายงานมาก่อนของ Zheng & Wang [139] กล่าวถึงค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ phenolics กับ Antiradical activity ($1/IC_{50}$) ที่ทำการศึกษาในพืชสมุนไพร 39 ชนิด โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu reagent ในการหาปริมาณ phenolics และ oxygen radical absorbance capacity assay เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าความสัมพันธ์ของค่าทั้งสองเป็นปฏิภาคกันโดยตรง และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.919 นอกจากนี้ Holm & Hiltunen [140] ศึกษาสารสกัดจากน้ำในพืชจำพวก Mentha พบว่าความสัมพันธ์ของค่าทั้งสองเป็นปฏิภาคกันโดยตรง และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.902 และ Dorman & Hiltunen. [141] รายงานการศึกษาสารสกัดจากน้ำในพืชเครื่องเทศหอมหลายชนิด เช่น ใบกระเพราหอม และพืชพวกมิน เป็นต้น พบว่าปริมาณ phenolics โดยวิธี Folin-Ciocalteu reagent และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH scavenging test มีความสัมพันธ์ที่เป็นปฏิภาคกันโดยตรง มีค่า R^2 เท่ากับ 0.835 ทั้งนี้มีรายงานการศึกษาค่าทั้งสอง

ไม่เป็นปฏิภาคกันโดยตรงของ Dorman & Hiltunen. [142] พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ phenolics กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่เป็นปฏิภาคกันโดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.644

อย่างไรก็ตามผลการทดสอบครั้งนี้พบว่าเนื้อในเมล็ดมะขามสดมีค่า IC_{50} ที่ 5.43 mg/ml แต่มีปริมาณ phenolics เพียง 15.4 GAE mg/g เมื่อเปรียบเทียบกับสารที่มีปริมาณ phenolics ถึง 323.1 GAE mg/g ของสารสกัดเมล็ดมะม่วงเขียวพันธุ์เขียวแต่มีค่า IC_{50} ที่ 0.40 mg/ml อาจเป็นไปได้ว่ามีสารประกอบทางเคมีอื่นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งไม่ได้ทำการตรวจวัดที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระ DPPH ได้ [133]

การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ต่อแบคทีเรียสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่มักปนเปื้อนกับอาหารและกลุ่มดื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยประเมินจากการเกิดโซนใสเมื่อทดสอบด้วยวิธี disc diffusion method และจากค่า MIC และ MBC ที่ทดสอบโดยวิธี agar dilution method และวิธี broth microdilution method พบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ดีได้แก่ เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอซึ่งมีปริมาณ phenolics สูงสุดในกลุ่ม กล่าวคือสารสกัดทั้งสามมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ ในกลุ่มแบคทีเรียที่มักปนเปื้อนกับอาหารมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 250-1,000 $\mu\text{g/ml}$ ส่วนค่า MBC จะอยู่ระหว่าง 1,250-10,000 $\mu\text{g/ml}$ ในกลุ่มเชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะก็เช่นเดียวกันสารสกัดทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ โดยมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 250 -10,000 $\mu\text{g/ml}$ ส่วนค่า MBC จะอยู่ระหว่าง 2500 -10,000 $\mu\text{g/ml}$ ส่วนสารสกัดอื่นๆ ผลการทดสอบที่ได้มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียบางชนิดหรือไม่มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรีย และสารสกัดทั้งสามได้แก่ สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอซึ่งมีปริมาณ phenolics สูงสุดในกลุ่มมีความสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย โดยมีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่กว้างขวาง อย่างไรก็ตามสารสกัดเมล็ดขนุนไม่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต้านต่อแบคทีเรียเลย ในขณะที่มีปริมาณ phenolics เท่ากับ 43.6 GAE mg/g

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้

ผลการศึกษาของ Kabuki, T. et al. [1] พบว่าสารสกัดเนื้อในเมล็ดมะม่วงมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ กล่าวคือ แบคทีเรียแกรมบวกให้ค่า MIC ระหว่าง 50-500 ppm เช่น *S. aureus* และ MRSA มีค่า MIC ที่ 50 ppm และ *Bacillus* spp. มีค่า MIC ที่ 500 ppm ส่วนแบคทีเรียแกรมลบให้ค่า MIC ระหว่าง 1000-2500 ppm เช่น *E. coli* มีค่า MIC ที่ 2500 ppm เป็นต้น ผลการศึกษาในครั้งนี้เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่นได้ผลที่สอดคล้องกับรายงาน

การศึกษาของ Kabuki. et al. [1] คือมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ กล่าวคือ *Bacillus* ทั้งสองสายพันธุ์ มีค่า MIC ที่ 250 µg/ml และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli*, *S. sonnei*, และ *E. coli* มีค่า MIC ที่ 1,000 µg/ml ส่วนเมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย ให้ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบใกล้เคียงกัน คือ แบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus* ทั้งสองสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบ และ *S. aureus*, *E. coli* และ *Sal. Typhi* มีค่า MIC ที่ 250 µg/ml เช่นเดียวกัน การศึกษาของ Kabuki, T. et al. [1] ไม่ได้รายงานปริมาณ phenolics แต่รายงานพบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียคงเดิมเมื่อนำไปผ่านความร้อน 121 15 นาที หรือความเย็นที่ -20°C 16 ชั่วโมง และค่าความเป็นกรด-ด่างที่กว้างคือ 3-9 ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าสารสกัดเนื้อในเมล็ดมะม่วงมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสูงกว่าผลการศึกษาของ Kabuki, T. et al. โดยให้ค่า MIC ที่สูงกว่า ทั้งนี้มีความแตกต่างกันในการสกัดสารโดยการศึกษาของ Kabuki, T. et al. แห้หมักเนื้อในเมล็ดมะม่วงด้วยเอทานอล เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนการศึกษาในครั้งนี้แช่หมักด้วยเอทานอล เป็นเวลานานกว่าคือ 48 ชั่วโมง

ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษามาก่อนเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดต่อกลุ่มแบคทีเรียดื้อต่อยา แต่จากผลการศึกษาในครั้งนี้มีสารสกัดเมล็ดผลไม้ 3 ชนิดคือ เมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอ ที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้กว้างคือ ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกลุ่มที่ดื้อต่อยานำมาทดสอบทั้งหมด ได้แก่ MRSA,

P. aeruginosa, *A. baumannii* และ *S. pneumoniae* เมื่อเทียบกับสารสกัดชนิดอื่นๆ และ chloramphenicol โดยสารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอ ให้ค่า MIC ระหว่าง 250-1,000 µg/ml ค่า MBC ระหว่าง 2,500-10,000 µg/ml และ chloramphenicol มีค่า MIC และค่า MBC ระหว่าง 64-512 µg/ml มีปริมาณ phenolics ระหว่าง 250-350 GAE mg/g

การทดสอบฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์โดยใช้การทดสอบเอมส์

การทดสอบฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์สายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดไม้ทั้ง 11 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย เมล็ดมะละกอ เมล็ดขนุน เมล็ดเงาะ เมล็ดมังคุด เมล็ดลำไย สารสกัดเนื้อในเมล็ดมะม่วงคั่วและสด สารสกัดเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะม่วงคั่วและสด ในแบคทีเรีย *S. Typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 โดยไม่มีเอนไซม์กระตุ้น ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรงในแบคทีเรีย *S. Typhimurium* สายพันธุ์ TA 98

และ TA 100 ซึ่งผลการทดสอบครั้งนี้สอดคล้องกับการวิจัยของบังอร และคณะที่ศึกษาพบว่าสารสกัดเมธานอลจากเปลือกมังคุดไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ใน *S. Typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 [143] และยังไม่มีการศึกษาวิจัยฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ชนิดอื่นๆ

ผลการทดสอบฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์พบว่าสารสกัดทั้ง 11 ชนิดที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ ต่อสาร NQO ในเชื้อ *S. Typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ สายพันธุ์

TA 100 ได้โดยตรง ไม่ต้องการการกระตุ้นจากเอนไซม์ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าสาร NQO เป็นสารในกลุ่ม direct mutagen ที่สามารถทำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ได้โดยตรง ซึ่ง Fiora & Ramel [144] ได้อธิบายถึงสารประกอบบางชนิดด้านการก่อตัวขึ้นของสารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) โดยทำปฏิกิริยากับสารนั้นทั้งทางตรงและทางอ้อม สารบางตัวมีผลต่อการเกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) โดยทำลายสารก่อกลายพันธุ์ เช่น myeloperoxidase และ horseradish peroxidase ที่สามารถทำให้ Trp-P-2 สลายไปในหลอดทดลอง [145] มีรายงานการศึกษาอื่นๆ พบว่าสารประกอบบางชนิด เช่น N-acetyl cystein เป็นสารประกอบที่มีผลโดยตรงคือ ไปลดการก่อกลายพันธุ์ ของ Trp-P-2 โดยจะเพิ่มการก่อกลายพันธุ์ของ Trp-P-2 ที่ความเข้มข้นต่ำๆ [146] ผลการศึกษาฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ในครั้งนี้พบว่าที่ความเข้มข้น 1 mg/plate ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้มาก่อนมีฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ได้ดีที่สุด สารสกัดจากเมล็ดเงาะมีฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ได้ดีที่สุดใน *S. Typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ที่ความเข้มข้น 1 mg/plate และมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งก่อกลายพันธุ์ที่ 77.01 ส่วนสารสกัดเมล็ดมังคุดมีฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ได้ดีที่สุดใน *S. Typhimurium* สายพันธุ์ TA 100 ที่ความเข้มข้นเดียวกัน คือ 1 mg/plate มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งก่อกลายพันธุ์ที่ 98.76 และความสามารถในการแสดงฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด ดังแสดงใน (ภาคผนวก ง ตาราง 15)

การทดสอบฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์โดยใช้การทดสอบเอมส์

มีรายงานการศึกษาจากหลายคณะ ถึงการศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ในพืชผักพื้นบ้านและพืชสมุนไพร เช่น ใบโหระพา [147] กระเพรา ชিং ดอกกระดังงา ดอกคำฝอย [130] พริก เสาวรส [28] และเปลือกมังคุด [128], [144] เป็นต้น ด้วยการใช้การทดสอบเอมส์ [131] ข้อดีของวิธีเอมส์ คือ เป็นวิธีการตรวจที่รวดเร็วใช้เวลาทราบผลตรวจประมาณ 2-3 วัน สะดวก และขั้นตอนง่ายไม่ซับซ้อน [122] ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการประเมินความเสี่ยงในการเกิดสารก่อกลายพันธุ์และมีฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้มต่อไป

การศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดผลไม้จำนวน 11 ตัวอย่าง ที่นำมาทดสอบพบว่าสารสกัดเมล็ดมะละกอสุกมีปริมาณ phenolics สูงสุดที่ 336.4 GAE mg/g สารสกัดจากเปลือกหุ้มเนื้อในเมล็ดมะขามคว่ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด คือมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.39 mg/ml และปริมาณ phenolics เป็นปฏิภาคโดยตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดเมล็ดมะม่วงพันธุ์ฟ้าลั่น เมล็ดมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และเมล็ดมะละกอสุก มีข้อบ่งชี้การออกฤทธิ์กว้าง สามารถต้านแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียกลุ่มที่มักปนเปื้อนกับอาหารและแบคทีเรียกลุ่มดื้อยาที่นำมาทดสอบจำนวน 18 สายพันธุ์ โดยแบคทีเรียที่ไวต่อสารสกัดที่สุดคือ *B. cereus* มีค่า MIC เท่ากับ 250 μ g/ml นอกจากนี้ผลการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้นี้พบว่าสารสกัดทั้ง 11 ตัวอย่าง ที่นำมาทดสอบไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ แต่ยังมีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 1 mg/plate ของทุกสารสกัด โดยสารสกัดกลุ่มที่มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ในเชื้อ *S. Typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 สูง ได้แก่ สารสกัดจากขนุน สารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะขามคว่ำ เนื้อในเมล็ดมะขามสด ลำไย และมะละกอ โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งก่อกลายพันธุ์ที่ 89.65, 89.65, 88.50, 83.91 และ 82.76 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) ดังนั้นสารสกัดจากเมล็ดผลไม้นี้ที่ได้จากธรรมชาติ ก็น่าจะเป็นทางเลือกใหม่ที่ดีในการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การใส่ลงไปในการอาหารเพื่อยืดเวลาของการเน่าเสีย การทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ และเป็นผลิตภัณฑ์ด้านเชื้อต่างๆ เป็นต้น เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับเมล็ดผลไม้นี้ซึ่งมักจะไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์

ข้อเสนอแนะ

1. ปริมาณสาร phenolics และฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวคือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ และฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ อาจเปลี่ยนแปลงไปตามสายพันธุ์ แหล่งที่ปลูก อายุการเก็บเกี่ยว และปัจจัยอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อการผลิตสารสำคัญในพืช ดังนั้นในการศึกษาต่อไป จำเป็นต้องควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการศึกษานี้ เช่น ถ้าต้องการศึกษาระหว่างสายพันธุ์ ต้องควบคุมตัวแปรคือ แหล่งที่ปลูก และระยะเวลาเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบ เป็นต้น

2. การศึกษาครั้งนี้หาปริมาณสาร phenolics ทั้งหมดโดยไม่ได้แยกเป็นกลุ่มชนิดของ phenolics ต่างๆ เช่น ฟลาโวนอยด์ และ แทนนิน รวมทั้งยังไม่ได้หาปริมาณของสารประกอบประเภทอื่นเช่น แอลคาลอยด์ ดังนั้นจึงควรมหาปริมาณของสารเหล่านี้ในสารสกัดที่ได้ เพื่อที่จะได้หาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารต่างๆเหล่านี้กับฤทธิ์ทางชีวภาพที่ศึกษา อันจะเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ได้ต่อไป

3. การทำวิจัยครั้งนี้เป็นการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเมล็ดผลไม้ โดยใช้สารสกัดหยาบที่มีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด ซึ่งอาจมีสารตัวอื่นที่ออกฤทธิ์แบบเสริมกันหรือหักล้างกันร่วมด้วย ควรจะมีแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดที่ได้ และควรจะมีการศึกษาตรวจวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารที่สกัดได้ต่อไปโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี เทคนิคแมสสเปกโตรเมตรี เทคนิคนิวเคลียร์ แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี และอาศัยปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆ เพื่อตรวจพิสูจน์สูตรโครงสร้างที่แน่นอนของสารสกัด

4. ควรจะมีการศึกษากลไกในการออกฤทธิ์ด้านแบคทีเรีย กลไกด้านอนุมูลอิสระและกลไกการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัด เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาขั้นสูงต่อไป เช่นการนำไปใช้ร่วมกับสารอื่นๆ

5. ควรมีการศึกษาความเป็นพิษทั้งเฉียบพลันและเรื้อรังของสารสกัดที่ได้ เพื่อจะได้ข้อมูลในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ต่อไป