



วารสารวิชาการ วิศวกรรมศาสตร์ ม.อบ. UBU Engineering Journal

บทความวิจัย

สมบัติการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวและแผ่นฟิล์มยางพาราผสม สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

Anti-bacterial property of gac fruit aril extract and para rubber film mixed with gac fruit aril extract

ปรานปรียา จันทรเพ็ง สมใจ ขจรชีพนันธุ์งาม*

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมืองขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Pranpariya Junpeng Somjai Kajorncheappunngam*

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University Khon Kaen 40002

* Corresponding author.

E-mail: ksomja@kku.ac.th

วันที่รับบทความ 29 เมษายน 2563; วันที่แก้ไขบทความ ครั้งที่ 1 15 มิถุนายน 2563; วันที่ตอบรับบทความ 1 กรกฎาคม 2563

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการสกัดสารไลโคปีนจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวโดยใช้เทคนิคการสกัดแบบอัลตราโซนิกที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย และทำการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวด้วยเทคนิคการหล่อขึ้นรูป ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนด้วยเทคนิค HPLC สารที่สกัดได้และแผ่นฟิล์มยางพาราที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) และ *Escherichia coli* (*E. coli*) ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC พบว่าสามารถสกัดสารไลโคปีนจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวได้สูงสุด 2.2069 mg/g ของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสด และสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli* พบว่าในเชื้อ *E. coli* สารที่สกัดได้มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อได้ (MBC) เท่ากันคือ 50 mg/mL ในขณะที่เชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 12.5 mg/mL และค่า MBC เท่ากับ 25 mg/mL ในส่วนของแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวทุกสูตรสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli* จากแผ่นฟิล์มยางพาราทั้ง 5 สูตร พบว่าแผ่นฟิล์มสูตร REGP6 (สูตรที่ 5) เป็นแผ่นฟิล์มที่ดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เมื่อเทียบกับแผ่นฟิล์มสูตรอื่นๆ โดยมีบริเวณการยับยั้งเชื้อเฉลี่ย 0.71 ± 0.51 และ 1.74 ± 0.27 mm ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของแผ่นฟิล์มสูตร REGP6 ที่มีอายุการเก็บ 30 วัน จะลดลงร้อยละ 57 เทียบกับแผ่นฟิล์มยางพาราสูตรเดียวกันที่มีอายุ 1 วัน

คำสำคัญ

เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ไลโคปีน สมบัติการต้านแบคทีเรีย แผ่นฟิล์มยางพารา

Abstract

This research work was a study of Lycopene extraction from Gac fruit aril by ultrasonic techniques and using ethanol as extracting solvent. Para rubber films mixed with the Gac fruit aril extract were prepared by solvent casting method. The lycopene content in the Gac fruit aril extract was analyzed by HPLC technique. The Gac fruit aril extract as well as Para rubber films mixed with Gac fruit aril extract were tested for antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*). Result from HPLC analysis indicated that maximum lycopene content of 2.2069 mg/g

of fresh Gac fruit aril was obtained. Results from antibacterial test of Gac fruit aril extract showed that the value of minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of *E. coli* were similar and they were equal to 50 mg/mL. Whereas the MIC value of 12.5 mg/mL and the MBC value of 25 mg/mL were found for *S. aureus*. All formulations of Para rubber film mixed with the Gac fruit aril extract could prohibit the growth of *S. aureus* greater than *E. coli*. Among the 5 formula of Para rubber film, the Para rubber film REGP6 (the 5th formula) illustrated the best antibacterial activity in both *E. coli* and *S. aureus* with the average inhibition zone of 0.71 ± 0.51 and 1.74 ± 0.27 mm, respectively. Furthermore, Para rubber film REGP6 with 30 days of storage showed a reduction of growth inhibition capability of 57% in *S. aureus* compared to Para rubber film REGP6 with 1 day of storage.

Keywords

gac fruit aril; lycopene; anitibacterial property; para rubber film

1. คำนำ

ฟักข้าว (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Momordica chinensis* [Lour.] Spreng.) หรือ มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า Gac fruit [1] เป็นสมุนไพรท้องถิ่นที่น่าสนใจชนิดหนึ่งเนื่องจากส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีสารไลโคปีน (Lycopene) ที่เป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ซึ่งมีสรรพคุณช่วยป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์ในร่างกายและมีสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) ที่มีประสิทธิภาพ [2] และยังพบสารเบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอที่มีความสำคัญต่อการมองเห็น การสร้างกระดูกและฟัน การซ่อมแซมเนื้อเยื่อและการสร้างสุขภาพของผิวพรรณอีกด้วย [3] และปริมาณสารไลโคปีนในเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีมากกว่ามะเขือเทศถึง 16 เท่า [4] การสกัดสารไลโคปีนจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีการสกัดแบบซอกซ์เลต (Soxhlet extraction method) วิธีการสกัดด้วยไมโครเวฟ (Microwave assisted extraction method) วิธีการสกัดด้วยความดันสูง (High pressure extraction method) ซึ่งวิธีเหล่านี้มีข้อเสียคือ มีความซับซ้อนในการสกัด ใช้เวลานานในการสกัด และมีราคาสูง แต่วิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิค (Ultrasonic extraction method) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสูง ใช้ตัวทำละลายในการสกัดน้อย ค่าใช้จ่ายต่ำ และไม่เป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม [5] จากการศึกษาค้นคว้าพบว่างานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นวิธีการสกัดสารไลโคปีนจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว แต่ไม่พบรายงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ในทางชีวภาพของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ดังนั้นคณะวิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อของสารไลโคปีนที่สกัดได้จากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้จะเป็น

ประโยชน์ในการพัฒนานำสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวไปประยุกต์ใช้เป็นสารชีวภัณฑ์หรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดประโยชน์ต่อไป

การบรรจุสารออกฤทธิ์ไว้ในแผ่นฟิล์มเป็นวิธีหนึ่งที่ยิยมใช้เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ หรือใช้เป็นตัวกลางในการบรรจุสารออกฤทธิ์เพื่อให้อยู่ในรูปที่สะดวกต่อการใช้งาน พอลิเมอร์ที่นิยมนำมาใช้ขึ้นเป็นแผ่นฟิล์มนั้นมีหลายชนิด เช่น โคลิธซาน ไหมไฟโรโบริน โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl-alcohol; PVA) เป็นต้น ยางพาราแห่งชาติ STR 5L เป็นพอลิเมอร์อีกชนิดหนึ่งที่เหมาะสมแก่การนำมาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มเนื่องจากยางแห่งชาติ STR 5L มีปริมาณสิ่งสกปรกเจือปนน้อยเหมาะกับการนำมาประยุกต์ใช้ทางด้านบำรุงภัณฑ์ และยางพารามีสมบัติทางด้านความยืดหยุ่นสูง มีสมบัติในด้านความเหนียวติดกัน และมีความทนทานต่อแรงดึง นอกจากนี้ภายในแผ่นฟิล์มยางพารานั้นมีความเป็นรูพรุนอยู่มาก โดยรูพรุนของยางพารามีสมบัติเป็นพวกชอบน้ำ (Hydrophilic) ซึ่งจะสามารถกักเก็บหรือจับกับสารที่มีขั้วได้ง่าย และการเพิ่มปริมาณรูพรุนของยางพาราเพื่อให้มีปริมาณบรรจุสารออกฤทธิ์ได้มากขึ้นสามารถทำได้โดยการเติมสาร Xanthan gum ซึ่งเป็นพลาสติไซเซอร์ที่ช่วยเพิ่มความหนืดและสร้างเนื้อเจลชนิดหนึ่งที่จะทำให้เกิดรูพรุนมากขึ้น [6] ทำให้มีประโยชน์ในการบรรจุสารออกฤทธิ์ต่างๆดีขึ้น

จากที่กล่าวมาข้างต้นจึงนำไปสู่วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ ทำการสกัดสารไลโคปีนจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวด้วยวิธีอัลตราโซนิค วิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนที่สกัดได้ แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปผสมกับยางพาราเพื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งของสารที่สกัดได้

และแผ่นฟิล์มยางพาราที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว โดยแบคทีเรียที่เลือกมาศึกษาได้แก่ *E. coli* และ *S. aureus* เนื่องจากแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ทั่วไปที่สามารถก่อโรคในมนุษย์ได้ และยังเป็นตัวแทนของแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบอีกด้วย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาอิทธิพลของปริมาณสารตัวเติม Pro polymer (Acrylates/ C10- 30 alkyl acrylate-crosspolymer) ที่ผสมลงในแผ่นฟิล์มยางพาราที่มีผลต่อสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มยางพาราที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ผลจากการวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาต่อไปในขั้นสูงเพื่อประยุกต์ใช้เป็นแผ่นฟิล์มปิดแผลหรือแผ่นฟิล์มบำรุงรักษาต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1 สารเคมี

สารมาตรฐานไลโคปีน (Sigma, USA) Ethanol (C_2H_5OH , RCIL Labscan, Thailand) Methanol (CH_3OH , Carlo Erba, Italy) Acetonitrile (C_2H_3N , RCIL Labscan, India) Dichloromethane (CH_2Cl_2 , RCIL Labscan, Thailand) Glycerol ($C_3H_8O_3$, Ajax Finechem, Australia) Pro polymer (Chanjao Longevity Co., Ltd., Thailand) ยางพารา STR 5L (ปริมาณสิ่งสกปรก ไม่เกิน 0.04% และมีค่าสี ไม่เกิน 4 หน่วยโลวิบอนด์) Muller hinton broth (BiomarkTM laboratories, India) Muller hinton agar (BiomarkTM laboratories, India) ผลฟักข้าว (ตำบลหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์) เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

2.2 การเตรียมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

นำเมล็ดฟักข้าวมากรองเพื่อแยกส่วนของเมล็ดและเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวออกจากกัน หลังจากนั้นนำเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมาปั่นเพื่อลดขนาดของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส [7] เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวหลังการอบไม่เปลี่ยนแปลง แล้วนำเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่แห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่อง ball mill ให้มีขนาด 80 mesh เก็บผงที่ได้ไว้ในภาชนะปิดสนิทเพื่อป้องกันความชื้น

2.3 การสกัดสารจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวโดยใช้วิธี Ultrasonic extraction

วิธีการสกัดได้ดัดแปลงจาก ณรงค์พันธุ์ และคณะ [8] โดยนำผงเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่เตรียมได้จากข้อที่ 2.2 มา 25 กรัม เทผสมกับเอทานอล 250 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ แล้วนำมาสกัดในอ่างอัลตราโซนิกที่ความถี่ 40 kHz เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่สกัดได้มากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำสารสกัดไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง(Centrifuge) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ความเร็ว 3500 rpm หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่ความดัน 0.03 MPa อุณหภูมิ 40 °C นำสารสกัดที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีน (Lycopene) ที่สกัดได้จากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

1) การสร้างกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานไลโคปีน
ทำการดัดแปลงวิธีจาก Kubola และคณะ [9] โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานไลโคปีนให้ได้ความเข้มข้น 10, 20, 40, 80 และ 160 $\mu g/ml$ (ใช้ Petroleum ether เป็นตัวทำละลาย) จากนั้นกรองสารละลายมาตรฐานไลโคปีนแต่ละความเข้มข้นด้วย Nylon syringe filter 0.45 μm แล้วนำสารละลายมาตรฐานไลโคปีนแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 5 ไมโครลิตร ฉีดเข้าไปในเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง(High performance liquid chromatography: HPLC Shimadzu รุ่น LC 20A) โดยใช้คอลัมน์ Cosmosil C18 (4.6x250 mm) มี Mobile phase เป็น Methanol (A) : Acetonitrile (B) : Dichloromethane (C) ; 30:28:42 อัตราการไหล 1.0 mL/min และ Injection volume เท่ากับ 5 μl วัดที่ความยาวคลื่น 475 nm (SPD-M20A diode array- Detector) เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน พร้อมทั้งบันทึก เวลา และพื้นที่ใต้กราฟ

2) การวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนในสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

นำสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่สกัดได้มาวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีน โดยนำสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 5 ไมโครลิตร ฉีดเข้าไปในเครื่องโครมาโทกราฟี-ของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) แล้วนำพื้นที่ใต้กราฟของสารตัวอย่างไป

วิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนจากกราฟมาตรฐาน ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

2.5 การขึ้นรูปแผ่นฟิล์มยางพาราโดยใช้วิธีการหล่อขึ้นรูป (Solvent Casting)

ทำการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มยางพาราโดยนำสารละลาย

ยางพารา STR 5L ที่มีความเข้มข้น 4% (w/w) ซึ่งเตรียมโดยนำยางพารา STR 5L 4 ส่วน ละลายใน Dichloromethane 100 ส่วนมาผสมกับสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว กลีเซอรอล และ สารละลาย Pro polymer ที่มีความเข้มข้น 2% (w/w) ตามสูตรผสม ดังตารางที่ 1 เทส่วนผสมของแผ่นฟิล์มแต่ละสูตรลงในปิกเกอร์ ทำการกวนด้วยเครื่องกวนสารเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และทำการวัดความหนาของแผ่นฟิล์มด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของสารที่ใช้ในการเตรียมแผ่นฟิล์มยางพารา

สูตร	ส่วนประกอบของแผ่นฟิล์ม	สัญลักษณ์
1	Rubber STR 5L+ Extract 14 phr	RE
2	Rubber STR 5L + Extract 14 phr + Glycerol 5 phr	REG
3	Rubber STR 5L + Extract 14 phr + Glycerol 5 phr + Pro polymer 2 phr	REGP2
4	Rubber STR 5L + Extract 14 phr + Glycerol 5 phr + Pro polymer 4 phr	REGP4
5	Rubber STR 5L + Extract 14 phr + Glycerol 5 phr + Pro polymer 6 phr	REGP6

* phr (Parts per hundred of rubber) คือ การผสมยางโดยคิดสัดส่วนปริมาณสารต่างๆ เมื่อเทียบกับยาง 100 ส่วน (โดยน้ำหนัก)

หลังจากนั้นเทส่วนผสมที่ทำการผสมเรียบร้อยแล้วลงในจานเพาะเชื้อทิ้งไว้ให้แห้งข้ามคืน แล้วทำการลอกแผ่นฟิล์มออกจากจานเพาะเชื้อ เก็บแผ่นฟิล์มไว้ในบรรจุภัณฑ์แบบปิดเพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไป

2.6 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวทั้งหมด 3 วิธี โดยดัดแปลงจาก Collins และคณะ, Jorgensen และคณะ และ Beilei และคณะ [10–12] คือ

1) การทดสอบหาบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) ด้วยวิธี Disc diffusion technique

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ทำการเตรียม 0.85% NaCl ปริมาณ 10 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง แล้วนำ loop มาเชี่ยเชื้อแบคทีเรีย 1 โคโลนีหรือมากกว่าลงในหลอดทดลอง แล้วปรับความใสของสารละลาย NaCl ให้เท่ากับ 0.5 Mcfaland เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็ง Muller hinton-agar (MHA) และนำเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ปริมาณอย่างละ 1 มิลลิลิตร มาเกลี่ย (Spread plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งบนจานเพาะเชื้อ ตัดกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.3 มิลลิเมตร วางลงบนจานเพาะเชื้อ แล้วหยดสารละลาย Dichloromethane, Ethanol, Glycerol, Pro-polymer โดยสารละลายทั้ง 4 ชนิดใช้เป็นสารควบคุม (Control) และสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ตำแหน่งละ 10 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่ม 1 คืน ที่อุณหภูมิ 35 °C สังเกตการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบนจานเพาะเชื้อ และวัดความยาวของ inhibition zone และประเมินผลประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

2) การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ด้วยวิธี Broth dilution technique

ทำการดูอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Broth) ใส่ลงในหลอดทดลองที่ 2-12 หลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วดูสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่มีความเข้มข้น 100 mg/mL ลงในหลอดที่ 1 และ 2 หลอดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นดูสารละลายในหลอดที่ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่ 3 ทำซ้ำทำนองเดียวกันนี้ไปจนถึงหลอดที่ 11 สำหรับหลอดที่ 11 เมื่อผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวและอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันได้ดีแล้วดูสารละลายทิ้งไป 1 มิลลิลิตร ส่วนหลอดที่ 12 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวไม่มีสารสกัด จึงใช้เป็น positive control จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงไปในทุกหลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำหลอดทดลองทั้งหมด 12 หลอด ไปบ่มเลี้ยงเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งการประเมินผลหาค่า MIC ให้สังเกตจากความขุ่นของเชื้อที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอดการทดลองเปรียบเทียบกับ positive control

3) การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ด้วยวิธี Agar dilution technique

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้(MBC) สามารถใช้การทดลองชุดเดียวกันกับการทดสอบการหาค่า MIC โดยนำน้ำเลี้ยงเชื้อในหลอด MIC ที่ไม่มีความขุ่นและเกลี่ย บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) สำหรับเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้จะประเมินจากการสังเกตบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย แต่ถ้าเชื้อแบคทีเรียมีการเจริญแสดงว่าค่าความเข้มข้นนั้นไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

2.7 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของแผ่นฟิล์มยางพาราที่ผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

ทำการทดสอบหาบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) ของแผ่นฟิล์มยางพาราที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ที่ดัดแปลงจาก Collins และคณะ [11] โดยการเตรียมแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวทั้งหมด 2 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดที่ 1 แผ่นฟิล์มมีอายุ 1 วัน และชุดที่ 2 แผ่นฟิล์มมีอายุ 30 วัน แล้วตัดแผ่นฟิล์มทั้ง 2 ชุดให้ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.3 มิลลิเมตร วางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการป้ายเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว หลังจากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่ม 1 คืน ที่อุณหภูมิ 35 °C สังเกตการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย วัดค่า inhibition zone และประเมินผลประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีน (Lycopene) ในสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสด 1 กรัม เมื่อนำมาอบให้แห้งและบดเป็นผงจะได้เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว 0.4457 กรัม และเมื่อนำผงเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ด้วยวิธี Ultrasonic extraction ได้สารสกัดที่มีลักษณะ

เป็นของเหลวสีเหลือง และหลังจากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีน ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่าสามารถสกัดสารไลโคปีนได้สูงถึง 2.2069 mg/g ของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสด ซึ่งมีปริมาณของสารไลโคปีนที่ได้มากกว่างานวิจัยที่มีรายงานก่อนหน้านี้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณของสารไลโคปีนในแต่ละวิธีการสกัด

วิธีการสกัด	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารไลโคปีน mg/g ของเยื่อหุ้ม เมล็ดฟักข้าวสด	อ้างอิง
คลีนเนื้อ เสียง	เฮกเซน: เมทานอล	1.146	[8]
เครื่องกวน แม่เหล็กไฟฟ้า	เอทานอล	1.7996	[13]
เครื่องกวน แม่เหล็กไฟฟ้า	คลอโรฟอร์ม: เมทานอล	0.49	[14]
Supercritical carbon dioxide	-	0.1353	[15]

ผลของการวิเคราะห์ครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการสกัดสารไลโคปีนจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ด้วยวิธีอัลตราโซนิก ให้ปริมาณสารไลโคปีนในปริมาณสูง ทั้งนี้เนื่องจากคลื่นเหนือเสียงเป็นวิธีที่เพิ่มพลังงานให้กับของเหลว ทำให้ของเหลวมีโอกาสสัมผัสกับสารสำคัญมากขึ้น และคลื่นอัลตราโซนิกจะมีช่วงอัดและช่วงขยายเกิดขึ้น ในช่วงขยายจะทำให้เกิดฟอง เมื่อฟองได้รับแรงจากช่วงอัดก็จะทำให้ฟองแตกออก แล้วเกิดความร้อนและความดันในบริเวณนั้นจนสามารถเจาะทำลายผนังเซลล์ของวัสดุที่นำมาสกัด เมื่อผนังเซลล์แตกออกก็ทำให้อัตราการถ่ายเทมวลดีขึ้นส่งผลให้วัสดุที่นำมาสกัดละลายในตัวทำละลายได้ดีขึ้น [16]

3.2 ผลของการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มยางพาราโดยใช้วิธีการหล่อขึ้นรูป (Solvent Casting)

ได้ทำการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มยางพาราทั้งหมด 5 สูตร (ดังตารางที่ 1) ด้วยวิธีการหล่อขึ้นรูป โดยแผ่นฟิล์มยางพาราทุกสูตรมีการเติมปริมาณของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวเท่ากันคือ 14 phr หรือคิดเป็นปริมาณสารไลโคปีน 8.6664

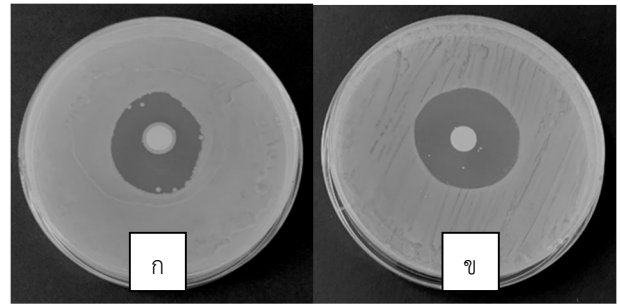
mg/g ของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสด แผ่นฟิล์มยางพาราแต่ละสูตรที่เตรียมได้มีความหนาประมาณ 0.25 มิลลิเมตร พบว่าแผ่นฟิล์มยางพาราสูตร RE มีลักษณะเปราะไม่แข็งแรง จึงได้ทำการพัฒนาแผ่นฟิล์มให้มีความยืดหยุ่นขึ้นโดยการเติมกลีเซอรอล (Glycerol) โดยพบว่าปริมาณกลีเซอรอลที่เหมาะสมคือ 5 phr ทำให้แผ่นฟิล์มยางพาราเกิดความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น จึงได้ทำการเติมกลีเซอรอลในปริมาณเท่ากัน คือ 5 phr ผสมลงในแผ่นฟิล์มยางพาราในสูตรที่ 2-5 (REG, REGP2, REGP4 และ REGP6) ผลการเติมกลีเซอรอลเพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นของแผ่นฟิล์มยางพาราสอดคล้องกับงานวิจัยของ Natta และ Athapol ที่รายงานว่า การเติมกลีเซอรอลลงในแผ่นฟิล์มที่ทำจากแป้งจะให้ความยืดหยุ่น ความแข็งแรงทางด้านแรงดึงและโมดูลัสมีค่าสูงขึ้น [17] การที่แผ่นฟิล์มยางพารามีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นเนื่องจากกลีเซอรอลจะเข้าไปแทรกกระหว่างสายพอลิเมอร์ของยางพาราทำให้ปริมาตรอิสระ (Free volume) เพิ่มขึ้น ทำให้สายโซ่พอลิเมอร์เคลื่อนไหวได้ง่ายขึ้น [18] และการเติมกลีเซอรอลยังทำให้ขนาดของรูพรุนของแผ่นฟิล์มมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีการกระจายตัวเพิ่มมากขึ้น กลีเซอรอลจึงเป็นพลาสติกไซเซอร์ที่ใช้ในการนำขนส่งยา [19] ผลของการเติมสาร Pro polymer ในปริมาณต่าง ๆ กัน ได้แก่ 2, 4, และ 6 phr ของแผ่นฟิล์มยางพาราสูตรที่ 3-5 (REGP2, REGP4 และ REGP6) พบว่าการเติมสาร Pro polymer ทำให้แผ่นฟิล์มยางพารามีความยืดหยุ่นมากขึ้น แผ่นฟิล์มแห้งเร็วหลังการหล่อขึ้นรูปสามารถลอกแผ่นฟิล์มยางพาราออกจากแม่พิมพ์ได้ง่ายขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรแผ่นฟิล์มที่ไม่ได้ผสม Pro polymer

3.3 ผลของการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

3.3.1 ผลการทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

จากการทดสอบเพื่อหาบริเวณการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว พบว่าในเชื้อ *E. coli* สารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว มีบริเวณการยับยั้งเฉลี่ย 23.82 ± 0.97 มิลลิเมตร แสดงดังในรูปที่ 1 (ก) และในเชื้อ *S. aureus* สารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีบริเวณการยับยั้งเฉลี่ย 24.40 ± 0.94 มิลลิเมตร แสดงดังในรูปที่ 1 (ข) จะสังเกตได้ว่าการเจริญของเชื้อ

แบคทีเรีย *S. aureus* จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ไม่มากนัก



รูปที่ 1 บริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Inhibition zone) ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวในเชื้อ (ก) *E. coli* (ข) *S. aureus*

3.3.2 ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

จากผลการหาค่าบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ในหัวข้อ 3.3.1 เป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นว่าสารสกัดนั้นมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หรือไม่ ดังนั้นขั้นตอนนี้เป็น การทดสอบหาค่า MIC ของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว โดยความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวเท่ากับ 100 mg/mL ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้จะประเมินและสังเกตจากการตกตะกอนของเชื้อที่อยู่บริเวณด้านล่างของหลอดทดลอง และบริเวณด้านบนของหลอดทดลองสารละลายจะมีลักษณะใส ผลการทดสอบแสดงดังในตารางที่ 3

ในกรณีของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* พบว่าสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่ความเข้มข้น 100 และ 50 mg/mL มีการตกตะกอนของเชื้อแบคทีเรียอยู่ก้นหลอด และสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงว่าความเข้มข้นดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่น้อยกว่าคือตั้งแต่ 25 mg/mL ลงไปพบว่าสารละลายในหลอดทดลองมีลักษณะขุ่นทั่วทั้งหลอด นั่นคือเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในหลอดทดลอง ดังนั้นค่า MIC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ได้มีค่าเท่ากับ 50 mg/mL และในกรณีของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* สารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่ความเข้มข้น 100, 50, 25 และ 12.5 mg/mL พบว่ามีการตกตะกอนของ

เชื้อแบคทีเรียอยู่กันหมดและสารละลายด้านบนมีลักษณะใส แสดงว่าความเข้มข้นดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ และพบว่าความเข้มข้นตั้งแต่ 6.25 mg/mL ลงไปสารละลายมีลักษณะขุ่นทั่วทั้งหลอด นั่นคือเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้ ดังนั้นค่า MIC ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้มีค่าเท่ากับ 12.5 mg/mL

ตารางที่ 3 ค่า MIC ของสารสกัดจากเห็ดห่มเมล็ดฟักข้าวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus*

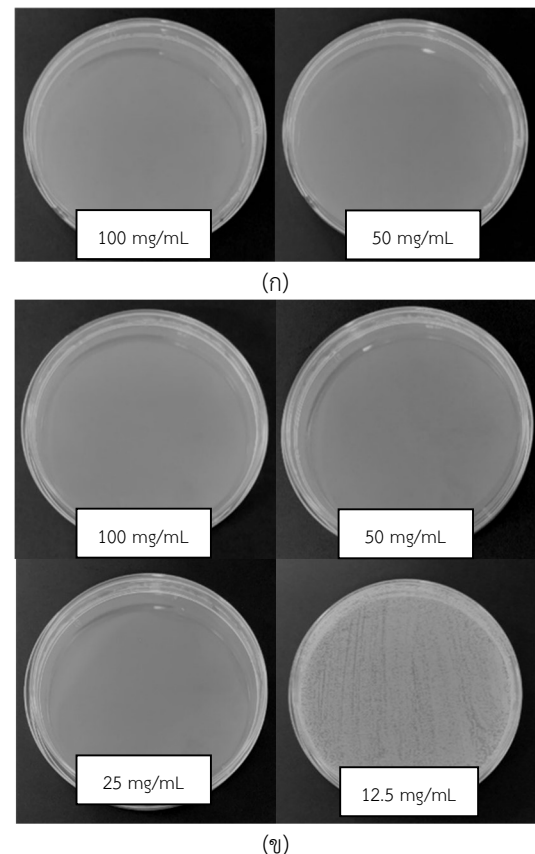
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/mL)	การเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i>	การเจริญของเชื้อ <i>S. aureus</i>
100	ตกตะกอน สารละลายด้านบนใส	ตกตะกอน สารละลายด้านบนใส
50	ตกตะกอน สารละลายด้านบนใส	ตกตะกอน สารละลายด้านบนใส
25	++	ตกตะกอน สารละลายด้านบนใส
12.5	++	ตกตะกอน สารละลายด้านบนใส
6.25	++	++
3.12	++	++
1.56	++	++
0.78	++	++
0.39	++	++
0.19	++	++
0.08	++	++

หมายเหตุ: ++ หมายถึง เชื้อมีการเจริญ สารละลายมีลักษณะขุ่นทั่วทั้งหลอด

3.3.3 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดจากเห็ดห่มเมล็ดฟักข้าว

เมื่อนำผลจากการหาค่า MIC ของสารสกัดจากเห็ดห่มเมล็ดฟักข้าวในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* (ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 mg/mL ขึ้นไป) และ *S. aureus* (ความเข้มข้นตั้งแต่ 12.5 mg/mL ขึ้นไป) ไปทำการหาค่า MBC โดยประเมินจากการสังเกตถ้ามีโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงว่าความเข้มข้นนั้นไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ พบว่าสารสกัดจากเห็ดห่มเมล็ดฟักข้าวมีค่า MBC ที่สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* ได้ที่ความเข้มข้น 50 mg/mL ไม่พบการเจริญของเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงดังรูปที่ 2 (ก)

ซึ่งคล้ายกับรายงานของ A. Ranjbar และ E. Ranjbar ที่ทำการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) ของสารสกัดจากเห็ดห่มเมล็ดฟักข้าวมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ที่ความเข้มข้น 25 mg/mL แสดงดังรูปที่ 2 (ข) ที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งค่า MBC ที่ได้มีค่าสูงกว่าค่า MIC นอกจากนี้สังเกตพบว่าที่ความเข้มข้น 12.5 mg/mL มีการเจริญของเชื้อ *S. aureus* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือกล่าวได้ว่าที่ความเข้มข้น 12.5 mg/mL ไม่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้



รูปที่ 2 การเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเห็ดห่มเมล็ดฟักข้าวแตกต่างกันในเชื้อ (ก) *E. coli* (ข) *S. aureus*

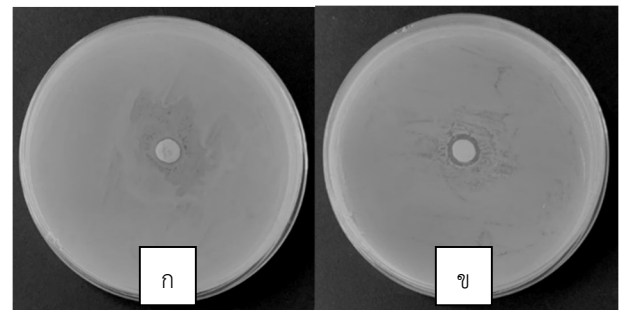
ผลของการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของสารสกัดจากเห็ดห่มเมล็ดฟักข้าวทั้งหมดทำให้ทราบว่าสารสกัดไลโคปีนจากเห็ดห่มเมล็ดฟักข้าวสามารถต้านเชื้อทั้ง *E. coli* และ *S. aureus* ได้ แต่สามารถต้านเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า ทั้งนี้ น่าจะเป็นเพราะเชื้อ *E. coli* (ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ) มีเยื่อหุ้มชั้นนอก ล้อมรอบผนังเซลล์ไว้

โดยเยื่อหุ้มนี้เป็นชั้นไขมันถึง 11 - 22 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์ ซึ่งเยื่อหุ้มชั้นนอกนี้จะทำหน้าที่เหมือนเครื่องกันสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ ดังนั้นแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) จึงถูกทำลายได้ยากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ที่ซึ่งโดยปกติแล้วจะมีโครงสร้างผนังเซลล์แข็งแรงกว่าแบคทีเรียแกรมลบ [21] ซึ่งคล้ายกับรายงานก่อนหน้านี้ของ เบญจมาศ และคณะ ที่ได้ทำการศึกษาสารไลโคปีนจากใบรสน้ำ โดยสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวก (เช่น *S. aureus*) และแกรมลบ (เช่น *E. coli*) ได้ [22] และ นิรมล และคณะ ทำการศึกษาการต้านจุลชีพก่อโรคของสารสกัดผลมะเขือเทศสีดาและผลมะเขือเทศราชินี พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S. pyogenes*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli* และ *P. aeruginosa*) ได้เช่นกัน [23]

3.4 ผลของการทดสอบหาบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ของแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว

จากการนำแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ทั้งหมด 5 สูตร มาทดสอบเพื่อหาบริเวณการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* พบว่าแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวชนิด RE (สูตรที่ 1) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ เนื่องจากสารออกฤทธิ์ไลโคปีนที่ถูกบรรจุในแผ่นฟิล์มไม่สามารถปลดปล่อยแพร่ออกมาได้ในส่วนของแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสูตร REG, REGP2, REGP4 และ REGP6 (สูตรที่ 2-5) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ โดยมีบริเวณการยับยั้งเชื้อเฉลี่ย 0.22 ± 0.34 , 0.26 ± 0.18 , 0.54 ± 0.22 และ 0.71 ± 0.51 มิลลิเมตร ตามลำดับ และในเชื้อ *S. aureus* แผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสูตร REG, REGP2, REGP4 และ REGP6 มีบริเวณการยับยั้งเชื้อเฉลี่ย 0.24 ± 0.16 , 0.79 ± 0.15 , 1.36 ± 0.33 และ 1.74 ± 0.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความยาวของบริเวณการยับยั้งเชื้อ พบว่าแผ่นฟิล์มยางพาราที่มีสูตรผสมเหมือนกันจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* และแผ่นฟิล์มยางพาราสูตรที่ 5 (REGP6) จะยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด

ตัวอย่างบริเวณยับยั้งเชื้อของแผ่นฟิล์มยางพารา สูตรที่ 5 (REGP6) แสดงดังรูปที่ 3 แผ่นฟิล์มยางพาราที่มีการผสม Pro polymer ซึ่งทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าแผ่นฟิล์มยางพาราที่ไม่ได้ผสม Pro polymer และเมื่อเพิ่มปริมาณของ Pro Polymer ลงในแผ่นฟิล์มยางพาราก็ยังทำให้การยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากคุณสมบัติของ Pro Polymer เป็นโมเลกุลที่ชอบน้ำ สามารถดูดความชื้นบริเวณโดยรอบแผ่นฟิล์มได้ดี เพิ่มคุณสมบัติในการซับน้ำของแผ่นฟิล์ม ทำให้สารออกฤทธิ์ในแผ่นฟิล์มถูกชะและปลดปล่อยออกจากแผ่นฟิล์มได้มากขึ้น ส่งผลทำให้การยับยั้งเชื้อเกิดได้ดีขึ้น ซึ่งคล้ายกับรายงานก่อนหน้านี้ของ Thawatchai และคณะ ที่รายงานว่า การเติม Xanthan gum เป็นพลาสติกไซเซอร์ช่วยเพิ่มคุณสมบัติการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์ม ช่วยให้การทำงานของสารออกฤทธิ์ได้ดีขึ้น แต่ไม่มีผลต่อคุณสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์ม [24]



รูปที่ 3 บริเวณการยับยั้งเชื้อของแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวชนิด REGP6 ในเชื้อ (ก) *E. coli* (ข) *S. aureus*

เมื่อนำแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวทั้ง 5 สูตรที่เก็บไว้เป็นเวลา 30 วัน มาทดสอบเพื่อหาบริเวณการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) พบว่าแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสูตรที่ 1-4 (RE, REG, REGP2 และ REGP4) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ แต่แผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสูตรที่ 5 (REGP6 แผ่นฟิล์มยางพาราที่มีการผสม Pro polymer สูงสุด 6 phr) มีบริเวณการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เฉลี่ย 0.26 ± 0.31 และ 0.74 ± 0.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าแผ่นฟิล์มยางพาราสูตร REGP6 มีบริเวณการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มากกว่าในเชื้อ *E.*

coli แต่บริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จะลดลงเทียบกับแผ่นฟิล์มยางพาราสูตรเดียวกัน (REGP6) ที่มีอายุ 1 วัน คิดเป็นลดลงร้อยละ 57 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวเกิดการสลายตัว (Degrade) ไปตามระยะเวลาในการเก็บแผ่นฟิล์มยางพารา

4. สรุปผลการศึกษา

การสกัดสารไลโคปีนจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยวิธี Ultrasonic extraction สามารถสกัดสารไลโคปีนได้สูงสุด 2.2069 mg/g ของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวสด สารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli* มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ในเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เท่ากับ 50 และ 12.5 mg/mL ตามลำดับ และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ในเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* อยู่ที่ 50 และ 25 mg/mL ตามลำดับ ในส่วนของแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวทุกสูตรสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli* และสูตรของแผ่นฟิล์มที่ดีที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้คือแผ่นฟิล์มสูตร REGP6 ที่มีบริเวณการยับยั้งเชื้อเฉลี่ย 0.71 ± 0.51 และ 1.74 ± 0.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ และแผ่นฟิล์มสูตร REGP6 ที่มีอายุ 30 วัน ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จะลดลงคิดเป็นร้อยละ 57 เทียบกับแผ่นฟิล์มสูตรเดียวกันที่มีอายุ 1 วัน ผลการศึกษาข้างต้นทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวและแผ่นฟิล์มยางพาราผสมสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวมีศักยภาพในการนำไปพัฒนาต่อยอดเพื่อเป็นวัสดุปิดแผลหรือแผ่นฟิล์มบนทางด้านผลิตภัณฑ์บำรุงภัณฑ์ต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการ “การพัฒนาระบบการผลิตยางเครพที่มีสมบัติสูงสำหรับโรงงานยางเครพรายย่อย(SME)” ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- [1] Peng C-I. *Flora of Taiwan*. Taiwan: Department of Botany, National Taiwan University; 2003.
- [2] Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1995;62(6 SUPPL.).
- [3] ปิยะมาศ บุญเพ็ง. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวโดยใช้เทคนิคไมโครเวฟ. *วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง*. 2555.
- [4] Vuong LT, Franke AA, Custer LJ, Murphy SP. Momordica cochinchinensis Spreng. (gac) fruit carotenoids reevaluated. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006;19: 664–668.
- [5] Tao Y, Wu D, Zhang Q. Ultrasound- assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage. *Ultrason Sonochemistry*. 2014;21(2): 706–715.
- [6] Phaechamud T, Issarayungyuen P, Pichayakorn W. Gentamicin sulfate loaded porous natural rubber films for wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;85: 634–644.
- [7] Neelapong W, Phonyotin B, Sittikijyothin W. Extraction of Active Compounds from Thai Herbs: Powder and Extract. *The Journal of KMUTNB*. 2018;29(1): 157–166.
- [8] Rattanapanudda N, Imuri P, Kuming W. Effect of ultrasonic on extraction lycopene from Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม*. 2556;9: 841–846.
- [9] Kubola J, Siriamornpun S. Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) . *Food Chem*. 2011;127(3): 1138–1145.
- [10] Collins C, Lyne P, Grange JM, Falkinham III JO.

- Microbiological Methods*. London: Arnold, a member of the Holder Headline Group;
- [11] Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Medical Microbiology*. 2009;49(11): 1749–1755.
- [12] Ge B, Wang F, Sjölund-Karlsson M, McDermott PF. Antimicrobial resistance in *Campylobacter*: Susceptibility testing methods and resistance trends. *Journal of Microbiological Methods*. 2013;95(1): 57–67.
- [13] ชนวรรณ ศรีสกุลดิศ. การศึกษาความเป็นไปได้ในการสกัดสารไลโคปีนจากผักขาวด้วยตัวทำละลายที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม. *วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ*. 2556.
- [14] Kubola J, Meeso N, Siriamornpun S. Lycopene and beta carotene concentration in aril oil of gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) as influenced by aril-drying process and solvents extraction. *Food Research International*. 2013;50(2): 664–669.
- [15] Akkarachaneeyakorn S, Boonrattanakom A, Pukpin P, Rattanawaraha S, Mattaweewong N. Extraction of Aril Oil from Gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) Using Supercritical Carbon Dioxide. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2017;41(5): 1–12.
- [16] Soria AC, Villamiel M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 2010;21(7): 323–331.
- [17] Laohakunjit N, Noomhorm A. Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier Properties of Rice Starch Film. *Starch*. 2004;56: 348–356.
- [18] Pitiphatharaworachot S, Puangsin B. Effect of Glycerol on Physical and Thermal Properties of Tapioca Starch Films. ใน: *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55*. 2560.
- [19] Pichayakorn W, Suksaereea J, Boonmea P, Amnuakita P, Taweepredab W, Ritthidej GC. Nicotine transdermal patches using polymeric natural rubber as the matrix controlling system: Effect of polymer and plasticizer blends. *Journal of Membrane Science*. 2012;411–412: 81–90.
- [20] Ranjbar A, Ranjbar E. Antimicrobial Property of Lycopene Oleoresin on some Food Pathogens Running Head: Lycopene oleoresin antibacterial potent. *Iranian Food Science and Technology*. 2016;12(3) :382–387.
- [21] นงลักษณ์ สุขวาศย์ศิลป์ และธิดา นิงสานนท์. กลุ่มไซโปรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin) ออกฤทธิ์ยับยั้ง เซลล์แบคทีเรีย *Escherichia coli*. *โครงการคลังข้อมูลยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล*. 2532;(4): 33–34.
- [22] Nupan B, Thipwong J, Saisard K, Samala S. Phytochemical and Antibacterial Studies of the Crude Leaves' Extract from *Limnophila rugosa* (Roth) Merr. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*. 2016;3: 26–33.
- [23] นิรมล ธรรมวิริยสติ, นันทา คุณคณะ, พกษา อินนอก, จิราพร จรอนันต์.ฤทธิ์นอกกายของสารสกัดผลมะเขือเทศสีดาและผลมะเขือเทศราชินีในการต้านจุลชีพก่อโรค. *Srinagarind Medical Journal*. 2017;32(4): 359–365.
- [24] Phaechamud T, Lertsuphotvanit N, Issarayungyuen P, Chantadee T. Design, fabrication and characterization of xanthan gum/ liquid- loaded porous natural rubber film. *Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2019;49(1): 149–160.