



การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น คุณค่าทางโภชนาการ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ของผลมะนาวไม่รู้รูโห่ (*Carissa carandas* L.)

นพดล หงษ์สุวรรณ¹, แคทรียา สุทธานุช², ดวงมล ศักดิ์เลิศสกุล^{2*}

บทคัดย่อ

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น คุณค่าทางโภชนาการ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ของผลมะนาวไม่รู้รูโห่ (*Carissa carandas* L.)

นพดล หงษ์สุวรรณ¹, แคทรียา สุทธานุช², ดวงมล ศักดิ์เลิศสกุล^{2*}

ว. เกษตรศาสตร์อีสาน, มีนาคม 2558; 11(ฉบับพิเศษ) : 7-13

บทนำ: มะนาวไม่รู้รูโห่ (*Carissa carandas* L.) เป็นพืชวงศ์ Apocynaceae ที่ได้รับความสนใจในระบบการแพทย์อายุรเวทของอินเดีย โดยมีการนำส่วนต่างๆ ของมะนาวไม่รู้รูโห่มาใช้รักษาโรค วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น คุณค่าทางโภชนาการ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของผลมะนาวไม่รู้รูโห่ 2 ระยะ ได้แก่ ผลอ่อน และผลแก่ โดยแยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนเปลือกและเนื้อ กับ ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ด ซึ่งได้ตัวอย่างทั้งหมด 4 ชนิด ดังนี้ (1) ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีเขียวปนสีแดง): PP(W/R), (2) ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลอ่อน (ผลสีเขียวปนสีแดง): PS(W/R), (3) ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PP(Dm) และ (4) ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PS(Dm) **วิธีการดำเนินการวิจัย:** ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ด้วยวิธี Proximate analysis ของผลสดมะนาวไม่รู้รูโห่ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัด เมทานอลจากผลมะนาวไม่รู้รูโห่ ในการศึกษาเชื้อ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) และ *Escherichia coli* (*E. coli*) ถูกนำมาใช้เป็นตัวแทนเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย **ผลการศึกษาวิจัย:** พบสารกลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน คูมารินกับแอนทราควิโนน และเทอร์ปีนอยด์กับสเตียรอยด์ ในสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้รูโห่ทั้ง 4 ชนิด ด้านคุณค่าทางโภชนาการ PP(Dm) มีปริมาณสูงที่สุด ซึ่งค่าพลังงานทั้งหมดได้จาก ไขมัน (ร้อยละ 12.30 ± 0.29) โปรตีน (ร้อยละ 13.84 ± 0.37) และคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 51.14 ± 0.78) นอกจากนี้สารสกัดจาก PP(Dm) และ PP(W/R) สามารถออกฤทธิ์ต้านการเจริญและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ได้ดี สำหรับสารสกัด PS(W/R) และ PS(Dm) มีฤทธิ์ต้านการเจริญและฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้น้อย **สรุปผลการวิจัย:** การศึกษานี้พบว่ามะนาวไม่รู้รูโห่ทั้ง 2 ระยะ มีศักยภาพที่สามารถเป็นแหล่งอาหารทางเลือกเพิ่มเติม และสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ต้านเชื้อแบคทีเรียอีกทางเลือกหนึ่ง

คำสำคัญ: มะนาวไม่รู้รูโห่, องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น, คุณค่าทางโภชนาการ, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

¹ สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

¹ Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakonnakhon Campus

² คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

² Faculty of Pharmacy, Khon Kaen University, KhonKaen, Thailand 40002

* **Corresponding author:** Faculty of Pharmaceutical Sciences, KhonKaen University, KhonKaen, Thailand 42000 Tel/Fax 043-362092

e-mail: sduangk@kku.ac.th



Abstract

Study of primary chemical compositions, nutritional values, and antibacterial properties of Ma-now-mai-roo-hoo

(*Carissa carandas* L.)

Noppadol Hongsuwan¹, Khaetthareeya Sutthanut², Duangkamon Sakloetsakun^{2*}

IJPS, March 2015; 11(Supplement) : 7-13

Introduction: Ma-now-mai-roo-hoo (*Carissa carandas* L.) is a common plant in Apocynaceae family, which is normally used in the Indian medicinal System, particularly, Ayurveda. This study aimed to investigate the primary chemical compositions, nutritional values, and antibacterial activities of 2 phases of unripe and ripe Ma-now-mai-roo-hoo namely (1) Pulp + peel of unripe: PP(W/R), (2) Seed coat + seed of unripe: PS(W/R), (3) Pulp + peel of ripe: PP(Dm) and (4) Seed coat + seed of ripe: PS(Dm). **Materials and Method:** Nutritional values of Ma-now-mai-roo-hoo were studied by Proximate analysis. The chemical compositions of methanolic extraction of the fruit were determined using Thin Layer Chromatography (TLC). In the study, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) were used as model bacteria in the antibacterial experiment. **Results:** It was found that all extract contained of phenolic, flavonoids, tannin, coumarins, anthraquinones, terpenes and steroids. PP(Dm) exhibited the highest nutritional values indicated by total energy obtained from fat ($12.30 \pm 0.29\%$), protein ($13.84 \pm 0.37\%$) and carbohydrates ($51.14 \pm 0.78\%$) compared to other parts. Furthermore, PP(Dm) and PP(W/R) methanolic extractions had antibacterial effect both bactericidal and bacteriostatic properties, whereas those of PS(W/R) and PS(Dm) had less effects. **Conclusion:** The unripe and ripe fruits of Ma-now-mai-roo-hoo showed a potential capacity as additional nutrition source and being able to develop for alternative products.

Keywords: *Carissa carandas* L., Chemical composition, nutritional value, antibacterial properties.

¹ Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Natural Resources, Rajamangala University of Technology Isan Sakonnakhon Campus

² Faculty of Pharmacy, Khon Kaen University, KhonKaen, Thailand 40002

* **Corresponding author:** Faculty of Pharmaceutical Sciences, KhonKaen University, KhonKaen, Thailand 42000 Tel/Fax 043-362092

e-mail: sduangk@kku.ac.th

บทนำ

มะนาวไม่รู้โห่ (*Carissa carandas* L.) เป็นพืชวงศ์ Apocynaceae ชื่อสามัญคือ Karanda, Carunda และ Christ's thorn ซึ่งให้ผลผลิตตลอดทั้งปี แต่ไม่เป็นที่นิยมในการรับประทานและเพาะปลูกในประเทศไทย อย่างไรก็ตามจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าในระบบการแพทย์อายุรเวทของอินเดีย มีการนำเนื้อของผล เมล็ด และน้ำยาง ของมะนาวไม่รู้โห่ มาใช้บรรเทาอาการประจำเดือนมาไม่ปกติ อาการคันจากการแพ้สิ่งต่างๆ ใช้รักษาโรคข้ออักเสบ รูมาตอยด์ เบื่ออาหาร อาหารไม่ย่อย จุกเสียด โรคตับ โรคหิว โรคหัวใจ ภาวะตัวบวม ใช้ รากมีประโยชน์ใช้รักษาความผิดปกติของกระเพาะอาหาร พยาธิในลำไส้ แผลในโรคเบาหวาน และลดความดันโลหิต (Maheshwari *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2007) มีรายงาน

การศึกษาพบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ กลัยโคไซด์ สเตียรอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และแทนนิน ในสารสกัดจากผลแก่และรากของมะนาวไม่รู้โห่ (Mishra *et al.*, 2013) ซึ่งสารกลุ่มต่างๆ ที่พบนี้มีประโยชน์ทางยาเป็นอย่างมาก เช่น สารอัลคาลอยด์มีฤทธิ์ใช้เป็นยาลดความดันโลหิต สารแอน ทราควิโนนใช้เป็นยาระบายโดยกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ใหญ่ สารฟลาโวนอยด์ใช้รักษาโรคเส้นเลือดฝอยเปราะ เป็นต้น (Soonthornchareonnon, 2004) มีรายงานการศึกษาว่าสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่จากเมทานอลให้ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งเบาหวานได้ดี (Kubola, *et al.*, 2011; Wetwitayaklung *et al.*, 2012; Itankar *et al.*, 2011) อย่างไรก็ตามจากการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่ายังมีผู้ทำการศึกษาเกี่ยวกับมะนาวไม่รู้โห่ค่อนข้างน้อย อีกทั้งยังไม่พบรายงานการศึกษาด้านคุณค่า



ทางโภชนาการ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของผลสมะนาวไม่รู้รูห์ 2 ระยะ ได้แก่ ผลอ่อน และผลแก่ รวมทั้งการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ด้วยวิธี Proximate analysis และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) และ *Escherichia coli* (*E. coli*) ที่ศึกษาด้วยวิธี microbroth dilution

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. แหล่งที่มาของตัวอย่าง

ผลสมะนาวไม่รู้รูห์ สายพันธุ์ *Carissa carandas* L. วงศ์ Apocynaceae ซึ่งได้ผ่านการตรวจสอบสายพันธุ์จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้จาก ต.บ้านจำ อ. บางระจัน จ.สิงห์บุรี ในช่วงเดือนพฤษภาคม 2557 โดยเก็บตัวอย่างมาล้างน้ำให้สะอาด นำไปผึ่งลมในที่ร่มให้แห้ง แล้วนำมาแยกกระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง สีที่เทียบได้ คือ White Group 155B / Red Group 46A) กับระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม สีที่เทียบได้ คือ Purple Group N77A) โดยเทียบกับรหัสสีมาตรฐาน Royal Horticultural Society Colour Charts (RHS Colour Charts) จากนั้นนำผลสมะนาวไม่รู้รูห์ มาแยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนเปลือกและเนื้อ กับ ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ด ซึ่งได้ตัวอย่างทั้งหมด 4 ชนิด ดังแสดงด้านล่าง ก่อนเก็บในถุงพลาสติกปิดสนิทและแช่ตู้เย็นที่ -20 องศาเซลเซียส

(1) ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง): PP(W/R)

(2) ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง): PS(W/R)

(3) ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PP(Dm)

(4) ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม): PS(Dm)

2. การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของผลสมะนาวไม่รู้รูห์

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของมะนาวไม่รู้รูห์ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุ และเส้นใย ทดสอบด้วยวิธี Proximate analysis (AOAC, 2000) จากนั้นนำมาคำนวณหาพลังงาน (Energy) ทั้งหมด จากผลรวมของสารอาหาร 3 ชนิด คือ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต โดยคิดค่าพลังงานดังนี้

- โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ปริมาณ 1 กรัม ให้พลังงาน 4 กิโลแคลอรี

- ไขมัน ปริมาณ 1 กรัม ให้พลังงาน 9 กิโลแคลอรี

3. สารสกัดผลสมะนาวไม่รู้รูห์

วิธีการเตรียมสารสกัดผลสมะนาวไม่รู้รูห์ดัดแปลงมาจากการศึกษาของ Wetwitayaklung *et al.*, (2012) โดยนำตัวอย่างผลสมะนาวไม่รู้รูห์ ทั้ง 4 ชนิด มาแยกหมักไว้ในเมทานอล ร้อยละ 99.9 ในอัตราส่วน 1 : 5 เก็บในที่มืด เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยเขย่าเป็นครั้งคราว เมื่อครบเวลานำไปกรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 1 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator เติสารสกัดใส่กระเจกนาฬิกาฟิงให้แห้งในตู้ดูดควัน หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ต่อไป

4. วิธีการทดสอบกลุ่มสารเคมีเบื้องต้นในสารสกัดผลสมะนาวไม่รู้รูห์ ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

นำสารสกัดผลสมะนาวไม่รู้รูห์ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มา Spot ด้วยมือ โดยใช้หลอด Capillary ที่ยัดให้มีขนาดเล็ก Spot บนแผ่น TLC ที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จากนั้นนำแผ่น TLC ที่ Spot แล้ว ไปจุ่มในระบอบที่อิมมัลชันด้วยเมทานอลกับกรดฟอร์มิก อัตราส่วน 10 : 0.1 ส่วนสารสกัด PS(Dm) ใช้ระบบเอทิลอะซิเตท เมทานอล และกรดฟอร์มิก อัตราส่วน 4 : 6 : 0.1 ก่อนนำไปตรวจสอบกลุ่มสารด้วยน้ำยาทดสอบ

5. การทดสอบคุณสมบัติของสารสกัดผลสมะนาวไม่รู้รูห์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) โดยวิธี microbroth dilution

เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* ได้รับความอนุเคราะห์จากวิทยาลัยการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี โดยนำเชื้อทั้ง 2 ชนิดมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส และปรับค่าความขุ่นเท่ากับค่ามาตรฐาน McFarland No. 0.5 (1.5×10^8 CFU/mL) จากนั้นเตรียมสารสกัดผลสมะนาวไม่รู้รูห์ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1 กรัม/มิลลิลิตร ใน Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ร้อยละ 10 แล้วนำไปกรองผ่านเยื่อกรองขนาด 0.2 ไมครอน เจือจางสารสกัดผลสมะนาวไม่รู้รูห์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว แบบ Two-fold dilution นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เติมสารละลาย P-iodonitrotetrazolium (INT) ความเข้มข้น 0.2 นาโนกรัม/มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สังเกตผลโดยการเปลี่ยนสี อ่านผลค่า MIC โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเปล่า (Medium) เป็นชุดควบคุมผลลบ (Negative control) และใช้สารละลายยา



Tetracycline ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมผลบวก (Positive control)

6. การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ ที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration: MBC)

นำสารในหลุมจากการทดสอบที่ 5 ที่ไม่เห็นการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบมา Streak plate บนอาหารวุ้น จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปอบที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 ชั่วโมง อ่านผล MBC โดยดูการเติบโตของเชื้อทดสอบบนอาหารวุ้น

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาแต่ละการศึกษา ทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistics Package for the Social Sciences (SPSS) version 17.0

ผลการศึกษาวิจัย

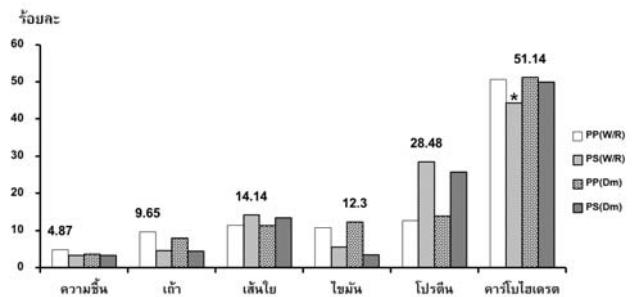
1. การสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด

ผลการศึกษาปริมาณผลผลิตร้อยละของสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด คือ PP(W/R), PS(W/R), PP(Dm) และ PS(Dm) ที่สกัดด้วยเมทานอลร้อยละ 99.9 พบว่าสารสกัดส่วน PP(Dm) มีปริมาณผลผลิตร้อยละ (%Yield) สูงที่สุด ร้อยละ 6.96 ± 0.02 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารสกัดส่วน PP(W/R), PS(W/R) และ PS(Dm) ร้อยละ 5.34 ± 0.03 , 5.35 ± 0.01 และ 5.54 ± 0.00 ตามลำดับ

2. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการเป็นการศึกษาองค์ประกอบด้านต่างๆ ของตัวอย่างผลสดมะนาวไม่รู้โห่ ซึ่งประกอบไปด้วยความชื้น เถ้า เส้นใย ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต (รูปที่ 1) ผลการวิเคราะห์พบว่า PP(W/R) มีปริมาณความชื้นและเถ้ามากที่สุด ร้อยละ 4.87 ± 0.10 และ 9.65 ± 0.70 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ PS(W/R), PP(Dm) และ PS(Dm) ปริมาณโปรตีนและเส้นใย พบใน PS(W/R) มากที่สุด ร้อยละ 28.48 ± 0.32 และ 14.14 ± 0.46 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ PP(W/R), PP(Dm) และ PS(Dm) แต่ปริมาณเส้นใยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติกับ PS(Dm) นอกจากนี้ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตพบใน PP(Dm) มากที่สุด ร้อยละ 12.30 ± 0.29 และ 51.14 ± 0.78 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณไขมันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ PP(W/R), PS(W/R) และ PS(Dm) และปริมาณคาร์โบไฮเดรตมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉพาะ PS(W/R)



รูปที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ส่วน
หมายเหตุ

1. PP(W/R) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง)
2. PS(W/R) = ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง)
3. PP(Dm) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)
4. PS(Dm) = ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)
5. ตัวเลขที่แสดง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น * ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉพาะ PS(W/R) เท่านั้น

3. องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบกลุ่มสารในสารสกัดใช้น้ำยาทดสอบ 6 ชนิด ประกอบด้วย Folin-Ciocalteu, Dragendroff, Aluminium chloride, 1% Methanolic ferric chloride, Borntrager และ Anisaldehyde สำหรับตรวจสอบสารกลุ่มฟีนอลิก อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน คูมารินกับแอนทราควิโนน และเทอร์ปีนอยด์กับสเตียรอยด์ ตามลำดับ ผลการตรวจสอบกลุ่มสารที่พบในสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 พบสารกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดทุกส่วนของมะนาวไม่รู้โห่ แต่ไม่พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ในสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คูมารินกับแอนทราควิโนน และเทอร์ปีนอยด์กับสเตียรอยด์ ในสารสกัดส่วน PS(W/R) PP(Dm) และ PS(Dm) และพบสารกลุ่มแทนนินเฉพาะสารสกัดส่วน PS(W/R) เท่านั้น



ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบกลุ่มสารที่พบในสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด

Sample	Phenolic	Alkaloids	Flavonoids	Tannin	Coumarins	Terpenes
					Anthraquinones	Steroids
PP(W/R)	+	-	-	-	-	-
PS(W/R)	+++	-	+++	++++	++++	+++
PP(Dm)	+++	-	+	-	++	+
PS(Dm)	+++	-	++	-	+++	+++

หมายเหตุ

- เครื่องหมาย + หมายถึง การพบกลุ่มสาร และปริมาณของสาร โดยประเมินจากความเข้มของแถบสีที่ปรากฏบนแผ่น TLC หลัง Spray reagent ชนิดต่างๆ
- เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่พบกลุ่มสาร
- PP(W/R) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีเขียวปนสีแดง)
- PS(W/R) = ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลอ่อน (ผลสีเขียวปนสีแดง)
- PP(Dm) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)
- PS(Dm) = ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

เมื่อนำสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มาทดสอบ พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจาก PS(W/R), PP(Dm) และ PS(Dm) ซึ่งมีค่า MIC เท่ากันที่ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สารสกัดจาก PP(W/R) ค่า MIC เท่ากับ 3.91 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ค่า MIC ของ Tetracycline เท่ากับ 0.31 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทดสอบกับเชื้อ *E. coli* พบว่า PP(Dm) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดจาก PP(W/R) กับ PS(Dm) มีค่า MIC เท่ากันที่ 3.91 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และลำดับสุดท้ายสารสกัดจาก PS(W/R) ค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบค่า MIC ของ Tetracycline เท่ากับ 0.04 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดคือสารสกัดจาก PP(W/R) กับ PP(Dm) ซึ่งมีค่า MBC เท่ากันที่ 15.63 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดจาก PS(Dm) มีค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และลำดับสุดท้าย คือ สารสกัดจาก PS(W/R) มีค่า MBC เท่ากับ 125.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ค่า MBC ของ Tetracycline เท่ากับ 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทดสอบกับเชื้อ *E. coli* พบว่า สารสกัดจาก PP(W/R) สามารถฆ่าเชื้อได้ดีที่สุด มีค่า MBC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดจาก PP(Dm), PS(Dm) และ PS(W/R) ค่า MBC เท่ากับ 31.25, 62.50, 125.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า MBC ของ Tetracycline เท่ากับ 0.31 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า MIC และ ค่า MBC ของสารสกัดมะนาวไม่รู้โห่ และยามาตรฐาน ต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli*

Sample	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
PP(W/R)	3.91	15.63	3.91	15.63
PS(W/R)	1.95	125.00	7.81	125.00
PP(Dm)	1.95	15.63	1.95	31.25
PS(Dm)	1.95	31.25	3.91	62.50
Tetracycline	0.31	1.25	0.04	0.31

หมายเหตุ

- PP(W/R) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีเขียวปนสีแดง), PP(Dm) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)
 PS(W/R) = ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลอ่อน (ผลสีเขียวปนสีแดง), PS(Dm) = ส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)

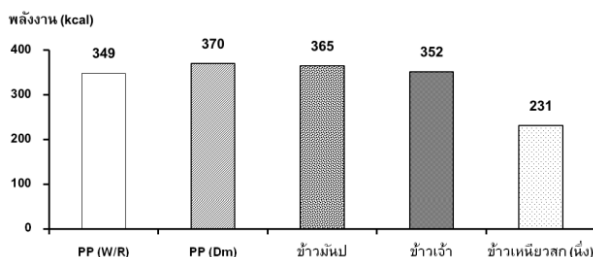
อภิปรายผลการศึกษา

1. องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น

สารกลุ่มฟีนอลิกพบได้ในทุกส่วนของสารสกัดจากผลสดมะนาวไม่รู้โห่ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คูมารินกับแอนทราควิโนน และเทอร์ปีนอยด์กับสเตียรอยด์ พบเฉพาะในส่วนของ PS(W/R), PP(Dm) และ PS(Dm) แต่ไม่พบใน PP(W/R) สารกลุ่มแทนนิน พบเฉพาะในส่วนของ PS(W/R) เท่านั้น และไม่พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์จากสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด ซึ่งผลการตรวจสอบใกล้เคียงกับการศึกษาของ Mishra, *et al.*, (2013) ที่ทำการศึกษามะนาวไม่รู้โห่ โดยนำส่วนผลแก่และรากมาสกัดด้วยอีเทอร์ (60-80) คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท เอทานอล และน้ำ แล้วนำมาวิเคราะห์หาสารในกลุ่มอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ กลัยโคไซด์ สเตียรอยด์ เทอร์ปีนอยด์ แทนนิน จากสารสกัดจากผลแก่และรากของมะนาวไม่รู้โห่ แต่ในงานวิจัยครั้งนี้ไม่พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ทั้งนี้เนื่องมาจากใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งสารสกัดอัลคาลอยด์ในรูปอิสระ (Free base) สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์

2. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

เมื่อนำปริมาณสารอาหารที่อยู่ในผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด มาคำนวณค่าพลังงาน (Energy) เปรียบเทียบกับข้าวที่เป็นแหล่งให้พลังงานหลักของคนไทย พบว่าส่วน PP(Dm) ให้พลังงานอยู่ที่ 370 กิโลแคลอรี ต่อ 100 กรัม ของส่วนที่กินได้ ซึ่งให้พลังงานมากกว่าข้าวมันปูและข้าวเจ้าที่ให้พลังงานเพียง 365 และ 352 กิโลแคลอรี ต่อ 100 กรัม ของส่วนที่กินได้ (Nutrition division, Department of health, Ministry of public health, 2001) ตามลำดับ สำหรับส่วน PP(W/R) ให้พลังงานอยู่ที่ 349 กิโลแคลอรี ต่อ 100 กรัม ของส่วนที่กินได้ ซึ่งมากกว่าข้าวเหนียวสุก (หนึ่ง) ที่ให้พลังงานเพียง 231 กิโลแคลอรี ต่อ 100 กรัม ของส่วนที่กินได้ เท่านั้น (รูปที่ 2) ดังนั้นผลสดมะนาวไม่รู้โห่จึงมีศักยภาพเพียงพอที่จะเป็นทางเลือกของแหล่งอาหารได้ในอนาคต



รูปที่ 2 ค่าพลังงานของผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด

PP(W/R) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลอ่อน (ผลสีขาวปนสีแดง)

PP(Dm) = ส่วนเปลือกและเนื้อระยะผลแก่ (ผลสีแดงเข้ม)

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

ในการศึกษาได้ใช้ DMSO ร้อยละ 10 เป็นตัวทำละลาย ซึ่งพบว่า DMSO ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญและการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้ในผลการทดสอบจะเห็นได้ว่าสารสกัด PP(Dm) สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้ดี และจากการตรวจสอบด้วยวิธี TLC จะพบสารกลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ คูมารินกับแอนทราควิโนน และเทอร์ปีนอยด์กับสเตียรอยด์ ในสารสกัด PP(Dm) ดังนั้นสารกลุ่มดังกล่าวน่าจะมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Agarwal, *et al.*, (2012) ที่รายงานว่าสารสกัดจากใบมะนาวไม่รู้โห่ด้วยเมทานอลมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียเช่นกัน

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นพบสารกลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน คูมารินกับแอนทราควิโนน และเทอร์ปีนอยด์กับสเตียรอยด์ ในสารสกัดผลสดมะนาวไม่รู้โห่ทั้ง 4 ชนิด ด้านคุณค่าทางโภชนาการพบว่าส่วน PP(Dm) ให้ปริมาณผลรวมของสารอาหารหลักที่ให้พลังงานต่อร่างกาย ได้แก่ ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ในปริมาณที่มากที่สุด ร้อยละ 12.30 ± 0.29, 13.84 ± 0.37 และ 51.14 ± 0.78 ตามลำดับ และการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* และ *E. coli* สารสกัดจาก PP(Dm) สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้ดี โดยมีค่า MIC ต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากันที่ 1.95 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า MBC ต่อเชื้อ *S. aureus* อยู่ที่ 15.63 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเชื้อ *E. coli* อยู่ที่ 31.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าผลสดมะนาวไม่รู้โห่ในส่วนเปลือกและเนื้อ จากผลแก่: PP(Dm) มีศักยภาพที่สามารถเป็นแหล่งอาหารทางเลือกเพิ่มเติมจากที่บริโภคอยู่ในปัจจุบัน และยังเป็นอีกตัวเลือกหนึ่งในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่ใช้ต้านเชื้อแบคทีเรีย

กิตติกรรมประกาศ

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร วิทยาลัยการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



References

- (AOAC) AoAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. USA: Maryland; 2000.
- Agarwal, T., Singh, R., Shukla, A. D., & Waris, I. In vitro study of antibacterial activity of *Carissa carandas* leaf extracts. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2012; 2(1), 36-40.
- Itankar, P. R., Lokhande, S. J., Verma, P. R., Arora, S. K., Sahu, R. A., & Patil, A. T. Antidiabetic potential of unripe *Carissa carandas* Linn. fruit extract. *Journal Ethnopharmacology*, 2011; 135(2), 430-433.
- Kubola, J., Siriamornpun, S., & Meeso, N. Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*. 2011; 126(3), 972-981.
- Maheshwari R, Sharma A, Verma D. Phyto-therapeutic Significance of Karaunda. *Bulletin of Environment Pharmacology and Life Sciences*. 2012; 1(12), 6-34.
- Mishra CcK, Shrivastava B, Sasmal D. Pharmacognostical standardization and phytochemical identification of fruit and root of *Carissa carandas* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013; 5(3), 347-350.
- Noppamas Soonthornchareonnon. *Phytochemistry*. Faculty of Pharmacy, Mahidol University. Thailand: Bangkok; 2004.
- Nutrition division, Department of health, Ministry of public health. *Nutritive values of Thai foods*. Thailand: Bangkok; 2001.
- Sharma A, Tiwari RK, Kaushik A, Tyagi LK, Virmani KST, Yadav S, et al. Standardisation of *Carissa carandas* Linn: A drug used in indian system of medicine as per W.H.O. guideline. *Continental Journals Pharmaceutical Sciences*. 2007; 1, 9-14
- Wetwitayaklung P, Charoenteeraboon J, Limmatvapirat C, Phaechamud T. Antioxidant Activities of Some Thai and Exotic Fruits Cultivated in Thailand. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2012; 3(1), 12-21.