

การประเมินปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดกากเมล็ดมะรุม (*Moringa oleifera*)

จันจิรา จรามรบุรพงศ์^{1*} และ เมธิญา กลกิจ²

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

²สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

*chanjirajara@webmail.npru.ac.th

บทคัดย่อ

เมล็ดมะรุมถูกนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และยา ในรูปแบบต่าง ๆ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดกากเมล็ดมะรุมซึ่งเป็นผลพลอยได้จากโรงงานสกัดน้ำมันแบบสกัดเย็น กากเมล็ดมะรุมถูกสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลตโดยใช้ 30%, 60% และ 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สารสกัดได้รับการตรวจสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยรีเอเจนต์ Folin-Ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ($y = 0.0143x + 0.0082$, $R^2 = 0.9983$) ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีการทดสอบสีของอะลูมิเนียมคลอไรด์โดยใช้เคอร์ซีตินเป็นสารมาตรฐาน ($y = 0.0011x - 0.1111$, $R^2 = 0.9976$) ประสิทธิภาพของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้รับการพิจารณาจากการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi* และ *Escherichia coli* ได้รับการประเมินโดยวิธีการแพร่กระจายแบบ agar well ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัด 60 % เอทานอลมีค่าสูงสุด เท่ากับ 10.30 ± 0.19 mg GAE/g E และ 41.97 ± 4.78 mg QE/g E ตามลำดับ และมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 75.06% เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น 10 mg/mL ซึ่งสูงกว่าสารสกัด 30% และ 95% เอทานอล อีกทั้งสารสกัด 60 % เอทานอล ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhi* ที่มีขนาดบริเวณยับยั้งเท่ากับ 0.13 ± 0.06 , 0.27 ± 0.06 และ 0.20 ± 0.10 mm ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากากเมล็ดมะรุมยังคงมีสารออกฤทธิ์ที่สามารถศึกษาต่อเพื่อนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์

คำสำคัญ: กากเมล็ดมะรุม ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ต้านออกซิเดชัน ต้านแบคทีเรีย

Evaluation of Total Phenolic, Flavonoid Contents, Antioxidant Activities and Antibacterial Activities of *Moringa oleifera* Seed Meal Extracts

Chanjira Jaramornburapong^{1*} and Maytiya Konkit²

¹Program of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University

²Program of Microbiology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Pathom Rajabhat University

*chanjirajara@webmail.npru.ac.th

Abstract

Moringa seeds are used in various forms in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries. This research aimed to study the total phenolic content, total flavonoid content, antioxidant activity, and antibacterial activity of moringa seed meal, a byproduct of cold-pressed oil extraction plants. The moringa seed meal was extracted using the Soxhlet method with 30%, 60%, and 95% ethanol as a solvent. The total phenolic content of the extracts was determined using Folin-Ciocalteu reagents. The method was used to analyze the total phenolic content using gallic acid as a standard ($y = 0.0143x + 0.0082$, $R^2 = 0.9983$). The total flavonoid content was analyzed using the aluminium chloride colorimetric assay with quercetin as a standard ($y = 0.0011x - 0.1111$, $R^2 = 0.9976$). Antioxidant activity was evaluated using DPPH radical scavenging. Antibacterial activity against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi*, and *Escherichia coli* was assessed using the agar well spread method at a concentration of 200 mg/mL. The total phenolic and total flavonoid content of the 60% ethanol extract was found to be highest, at 10.30 ± 0.19 mg GAE/g E and 41.97 ± 4.78 mg QE/g E, respectively, and exhibited DPPH radical scavenging activity of equal to 75.06% when tested at a concentration of 10 mg/mL, which is higher than the 30% and 95% ethanol extracts. Furthermore, the 60% ethanol extract can inhibit the growth of *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella Typhi* bacteria with inhibitory zone sizes of 0.13 ± 0.06 , 0.27 ± 0.06 และ 0.20 ± 0.10 mm, respectively. The experimental results show that Moringa seed cake still contains active compounds that can be further studied for beneficial applications.

Keywords: *Moringa oleifera* seed meal, Phenolic, Flavonoid, Antioxidant, Antibacterial

1. บทนำ

มะรุม (*Moringa oleifera*) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Moringaceae และเติบโตได้ในเขตร้อน สกุลมะรุมประกอบด้วย 14 ชนิด [1] โดยที่ *Moringa oleifera* และ *Moringa stenopetala* [2] เป็นชนิดที่ใช้น้อยอย่างแพร่หลายที่สุด มะรุมมีถิ่นกำเนิดในแถบเทือกเขาหิมาลัยทางภาคเหนือของอินเดีย มะรุมเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กทรงพุ่มกว้างที่สูงได้ถึง 8 เมตร เปลือกไม่มีสีเทา เข้มมีรอยขีดสีเหลือง มีใบเป็นแบบสลับเรียงกันแบบไม่หนาแน่น มีใบย่อยตรงข้ามสีเขียวเข้มด้านบนและสีอ่อนด้านล่าง มีลักษณะรูปวงรีกลมและมีขนาดยาวได้ถึง 2.5 เซนติเมตร ดอกออกตลอดทั้งปี มีลักษณะเป็นช่อดอกแบบหลวม ๆ ตามซอกใบ

มีกลิ่นหอมหวานมาก ผลมีขนาดใหญ่สีน้ำตาลอ่อน มีลักษณะเฉพาะคอดเล็กน้อย รูปทรงเรียวยาวจนถึงปลาย ด้านในผลมีเมล็ดกลมๆ สีดำอมน้ำมันเรียงเป็นแถว [3] มะรุมเป็นต้นไม้เอนกประสงค์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างมากเนื่องจากใช้ในอุตสาหกรรมและทางการแพทย์หลายประการ [4, 5]

เมล็ดมะรุมอุดมไปด้วยวิตามิน น้ำมัน โปรตีน แร่ธาตุ และสารอาหารอื่นๆ [6] สารประกอบทางเคมีต่าง ๆ ได้ถูกแยกออกมาจากเมล็ดมะรุม รวมถึงฟีนอลิกไกลโคไซด์และอนุพันธ์ [7-10] คาร์บาเมต [11] ฟลาโวนอยด์ [12] อัลคาลอยด์ [13] ฟีนอลิก [14] และอื่น ๆ การศึกษาทางเภสัชวิทยาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเมล็ด *M. oleifera* หรือสารประกอบที่แยกได้จากเมล็ด *M. oleifera* มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ด้านมะเร็ง [12] ด้านการอักเสบ [15] ด้านอนุมูลอิสระ [16, 17] ด้านเบาหวาน [18] ด้านไวรัส และปกป้องตับ [19]

จากงานวิจัยก่อนหน้านี้เกี่ยวกับสารสกัดเมล็ดมะรุมพบว่ามีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านต่าง ๆ มากมาย กากเมล็ดมะรุมที่ได้หลังจากวิธีการสกัดเย็นน้ำมันมีอัตราการการใช้ประโยชน์ต่ำและมักถูกทิ้งหรือเผาทำลายก่อให้เกิดขยะทางการเกษตรและป่าไม้ ซึ่งไม่เพียงแต่ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมเท่านั้น แต่ยังเป็นภาระสิ้นเปลืองทรัพยากรเพื่อให้สามารถนำประโยชน์จากกากเมล็ดมะรุมอย่างคุ้มค่าและเพิ่มมูลค่าเพิ่มของเมล็ดมะรุม ในงานวิจัยนี้จึงให้ความสำคัญกับสิ่งเหลือทิ้งจากการผลิตน้ำมันเมล็ดมะรุมที่ได้จากสถานประกอบการในจังหวัดนครปฐม จึงนำกากเมล็ดมะรุมที่เป็นผลพลอยได้จากการอุตสาหกรรมมาศึกษาเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ดังนั้นในงานวิจัยนี้ทำเพื่อศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH ของสารสกัดหยาบจากกากเมล็ดมะรุมที่เป็นของเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมสกัดน้ำมัน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของตัวทำละลายสำหรับใช้สกัดกากเมล็ดมะรุมเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง ทางแพทย์ เป็นต้น

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บกากเมล็ดมะรุมที่ได้หลังจากการสกัดน้ำมันด้วยวิธีการบีบเย็น จากสถานประกอบการภูมารุม ตำบลหนองจูเหลื่อม อำเภอมะเข่งนครปฐม จังหวัดนครปฐม เดือนเมษายน ปี 2566

2.2 การสกัดตัวอย่าง

นำกากเมล็ดมะรุมที่ได้มาอบด้วยเครื่องอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ นำมาบดให้เป็นผงด้วยเครื่องปั่นละเอียดแบบแห้ง นำผงกากเมล็ดมะรุมมาสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลต (Universal Extractor E800, Buchi) โดยใช้ตัวทำละลาย 30% , 60% และ 95% เอทานอล ในอัตราส่วน 1 : 10 (ผงพืช : ตัวทำละลาย) จากนั้นนำมากรองโดยใช้กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 และระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดหยาบ 30MO 60MO และ 95MO ตามลำดับ นำสารสกัดหยาบที่ได้ชั่งน้ำหนักและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบ (%yield) จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบ (\%yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้} \times 100}{\text{น้ำหนักของผงพืชแห้งที่ใช้สกัด}}$$

2.3 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุมด้วยวิธี Folin ciocalteu colorimetric ดัดแปลงจาก Madaan et al. [20] ดังนี้

2.3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร นำสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96 well plate แล้วเติมสารละลาย 20% โดยมวลต่อปริมาตร โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม แล้วเติมสารละลาย 10% โดยปริมาตร Folin Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (MRX A2000, K LAB) สร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก โดยแกน x แทนความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิก และแกน y แทนค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆ (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

2.3.2 การหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบ

เตรียมสารละลายสารสกัดหยาบ 30MO 60MO และ 95MO เข้มข้น 5,000 มิลลิกรัม/ลิตร ปิเปตสารละลายสารสกัดหยาบปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96 well plate แล้วเติมสารละลาย 20% โดยมวลต่อปริมาตร โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม แล้วเติมสารละลาย 10% โดยปริมาตร Folin Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (MRX A2000, K LAB) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัดหยาบโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักพืชแห้ง (mg of gallic acid equivalent / g dry weight) (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

2.4 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะขามโดยวิธี Aluminium chloride colorimetric ดัดแปลงจาก Chen et al. [21] ดังนี้

2.4.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน

เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินเข้มข้น 500, 400, 300, 200 และ 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีตินแต่ละความเข้มข้นลงใน 96-well plate ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 5% โดยมวลต่อปริมาตร โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ปริมาตร 15 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 10% โดยมวลต่อปริมาตร อลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องอีก 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปริมาตร 120 ไมโครลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องอีก 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (MRX A2000, K LAB) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน โดยแกน x แทนความเข้มข้นของสารละลายเคอร์ซีติน และแกน y แทนค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเคอร์ซีตินที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

2.4.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบ

เตรียมสารละลายสารสกัดหยาบ 30MO 60MO และ 95MO เข้มข้น 5,000 มิลลิกรัม/ลิตร ปิเปตสารละลายสารสกัดหยาบลงใน 96-well plate ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 5% โดยมวลต่อปริมาตร โซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ปริมาตร 15 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 10% โดยมวลต่อปริมาตร อลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องอีก 5 นาที แล้วเติมน้ำกลั่น 1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปริมาตร 120 ไมโครลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องอีก 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (MRX A2000, K LAB) แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่

ได้มาหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดหยาบโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์ซีตินในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมน้ำหนักพืชแห้ง (mg of quercetin equivalent / g dry weight) (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะขามทดสอบโดยดัดแปลงวิธีจาก Ravi et al. [22] ดังนี้

เตรียมสารละลายมาตรฐานโพลลอคซ์เข้มข้น 0.0625, 0.031, 0.015 และ 0.008 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมสารละลายสารสกัดหยาบ 30MO 60MO และ 95MO เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานโพลลอคซ์แต่ละความเข้มข้นหรือสารละลายสารสกัดหยาบลงใน 96 well plate ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย 0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยปราศจากแสงเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (MRX A2000, K LAB) แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูล DPPH (%DPPH radical scavenging) จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูล DPPH} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

(%DPPH radical scavenging)

เมื่อ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH กับสารละลายมาตรฐานโพลลอคซ์หรือสารสกัดหยาบ

2.6 การทดสอบฤทธิ์ด้านแบคทีเรีย

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้นโดยวิธี agar well diffusion กับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Salmonella Typhi* ทดสอบโดยดัดแปลงวิธีจาก Rani et al. [23] ดังนี้

2.6.1 การเตรียม Nutrient broth solution

เตรียมสารละลาย Nutrient broth โดยชั่ง Nutrient broth 13 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ต้มจนได้สารละลายใส เทแบ่งใส่หลอดทดลองประมาณครึ่งหนึ่งของหลอด จากนั้นปิดจุก แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.6.2 การเตรียม Nutrient agar

เตรียม Nutrient agar โดยชั่ง Nutrient broth 8 กรัม และ agar 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ต้มจนได้สารละลายใส แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทใส่ลงในเพลท ปิดฝาเพลท ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเก็บไว้ใช้ในขั้นต่อไป

2.6.3 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

เตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบโดยนำห้วงเชื้อเชื้อเฝ้าไฟจนรอนแดง ใช้ห้วงเชื้อเชื้อแบคทีเรียทดสอบใส่ลงใน Nutrient Broth solution ที่เตรียมได้จากข้อ 2.6.1 นำไปใส่เครื่องปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน

2.6.4 การตรวจสอบโซนยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบ

นำเชื้อแบคทีเรียทดสอบทั้งสี่สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella Typhi* ที่เตรียมได้จากข้อ 2.6.3 มาทำการเกลี่ยให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar ที่เตรียมได้จาก

ข้อ 2.6.2 ด้วยไม้พั่นสำหรับที่ปราศจากเชื้อ จากนั้นเจาะหลุมด้วยที่ปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เติมสารละลายสารสกัดหยาบ 30MO 60MO และ 95MO ที่มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบโซนยับยั้งโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง รายงานค่าในหน่วยมิลลิเมตร โดยใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลินความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมที่ให้ผลบวก และใช้ 95% เอทานอล และน้ำเป็นตัวควบคุมที่ให้ผลลบ (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ลักษณะและเปอร์เซ็นต์ผลได้ ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุมที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 30% เอทานอล 60% เอทานอล และ 95% เอทานอล มีผลการทดลองดังนี้

3.1 ลักษณะและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุม

การสกัดจากเมล็ดมะรุมที่ได้จากสถานประกอบการภูมามารุมด้วยวิธีซอกซ์เลต (Universal Extractor E800, Buchi) โดยใช้ตัวทำละลาย 30% เอทานอล 60% เอทานอล และ 95% เอทานอล ได้สารสกัดหยาบ 30MO 60MO และ 95MO ตามลำดับ ซึ่งมีลักษณะของสารสกัดหยาบแสดงดังภาพที่ 1 และมีปริมาณผลได้แสดงดังตารางที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุม

ตารางที่ 1 ลักษณะและเปอร์เซ็นต์ผลได้ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุม

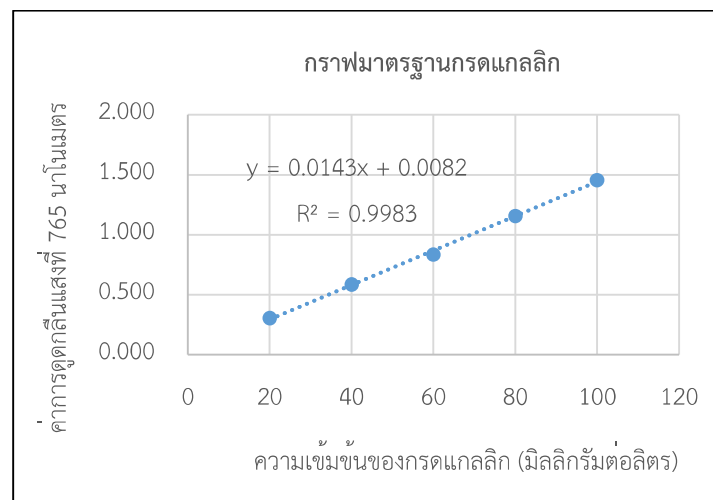
สารสกัดหยาบ	ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	ลักษณะสารสกัดหยาบ	เปอร์เซ็นต์ผลได้ (%yield)
30MO	30% เอทานอล	ของแข็งสีน้ำตาล	11.06
60MO	60% เอทานอล	ของแข็งสีน้ำตาล	16.95
95MO	95% เอทานอล	ของเหลวสีเหลือง	15.04

จากผลการทดลองพบว่า ตัวทำละลายที่แตกต่างกันส่งผลโดยตรงต่อปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้ (%yield) ของสารสกัดจากเมล็ดมะรุมหลังบิบน้ำมัน โดยการเลือกใช้ตัวทำละลาย 60% เอทานอลสกัดจากเมล็ดมะรุมให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ผลได้เท่ากับ 16.95% ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ผลได้มากกว่าการใช้ตัวทำละลาย 30% และ 95% เอทานอล ที่มีค่าเท่ากับ 11.06% และ 15.04% ตามลำดับ การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดจากเมล็ดมะรุมจะส่งผลต่อปริมาณของสารพฤกษเคมีกลุ่มต่างๆ ที่ได้ในสารสกัดหยาบแตกต่างกัน เนื่องจากสารสำคัญที่อยู่ในเมล็ดมะรุมมีคุณสมบัติในการละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกัน สารสำคัญในเมล็ดมะรุมส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มของแอลคาลอยด์ ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์หลายชนิด รวมทั้งสารกึ่งมีขั้ว (semi-polar compounds) ที่ยังคงเหลืออยู่ในเมล็ดหลังจากการสกัดน้ำมัน การใช้ตัวทำละลาย 60% เอทานอล ซึ่งเป็น hydroethanolic solvent มีความเหมาะสมต่อการสกัดสารสำคัญจากพืช เนื่องจากมีสมดุลระหว่างความมีขั้วของน้ำและเอทานอล จึงสามารถสกัดได้ทั้งสารที่มีขั้วและกึ่งมีขั้วได้

พร้อมกัน อีกทั้งน้ำยังช่วยให้โครงสร้างเซลล์พืชเกิดการบวม (matrix swelling) ส่งผลให้การแพร่ของตัวทำละลายเข้าสู่เซลล์พืชได้ดีขึ้น และช่วยเพิ่มการปล่อยสารสำคัญออกจากเนื้อเยื่อพืช ในทางตรงกันข้าม 95% เอทานอล มีความเป็น non-aqueous สูงกว่า จึงเหมาะกับการละลายสารที่มีขั้วน้อย เช่น lipid residue หรือ chlorophyll มากกว่าสารพินอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) จำนวนมาก ส่วน 30% เอทานอล มีน้ำเป็นองค์ประกอบสูงเกินไป จึงอาจสกัดสารที่ละลายน้ำได้ดี เช่น คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีนออกมามาก แต่ไม่เหมาะสมต่อการละลายสารที่มีขั้วบางชนิด ส่งผลให้ %yield ต่ำกว่าการเลือกใช้ตัวทำละลาย 60% เอทานอล ในงานวิจัยของ Sultana et al. [24] ได้ศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดใบและรากของมะรุมด้วยตัวทำละลาย 80% เอทานอลและเอทานอลบริสุทธิ์ พบว่าการเลือกใช้ตัวทำละลาย 80% เอทานอล ให้เปอร์เซ็นต์ผลได้ที่มากกว่าการใช้เอทานอลบริสุทธิ์เพียงอย่างเดียวทั้งวิธีการสกัดโดยการแช่ที่อุณหภูมิห้องและการให้ความร้อนด้วยวิธีรีฟลักซ์ เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Do et al. [25] ที่ศึกษาผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดผักแขยง ด้วยตัวทำละลายน้ำและเมทานอลเอทานอล และอะซิโตนในน้ำที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ (50%, 75% และ 100%) พบว่าการใช้ตัวทำละลายที่มีส่วนผสมของน้ำให้ปริมาณสารสกัดที่สูงกว่าการใช้น้ำ หรือสารละลายอินทรีย์ทั้งสามชนิดนี้เพียงอย่างเดียว

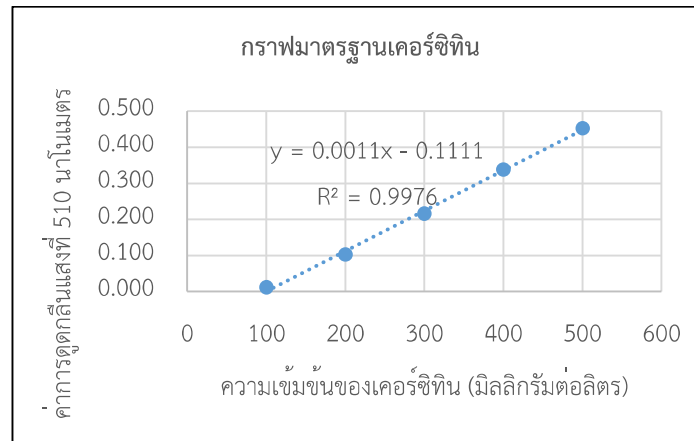
3.2 ผลการหาปริมาณพินอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ผลการหาปริมาณพินอลิกรวมของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุม 30MO 60MO และ 95MO โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0143x + 0.0082$, $R^2 = 0.9983$) ดังภาพที่ 2 พบว่าสารสกัดหยาบ 60MO มีปริมาณพินอลิกรวมเฉลี่ยสูงสุด มีค่าเท่ากับ 10.30 ± 0.19 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ซึ่งมีปริมาณมากกว่าสารสกัดหยาบ 30MO และ 95MO ที่มีค่าเท่ากับ 6.03 ± 0.04 และ 1.27 ± 0.34 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุม 30MO 60MO และ 95MO โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน ($y = 0.0011x - 0.1111$, $R^2 = 0.9976$) ดังภาพที่ 3 พบว่าสารสกัดหยาบ 60MO มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 41.97 ± 4.78 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ซึ่งมีปริมาณมากกว่าสารสกัดหยาบ 30MO และ 95MO ที่มีค่าเท่ากับ 39.05 ± 2.16 และ 33.04 ± 0.40 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน

ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบของตัวทำละลายที่เลือกใช้ในการสกัดมีผลต่อประสิทธิภาพในการดึงสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ออกจากกากเมล็ดมะรุมอย่างชัดเจน โดยสารฟีนอลิกส่วนใหญ่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) หลายตำแหน่ง ทำให้มีคุณสมบัติเป็นสารมีขั้วปานกลางถึงสูง จึงละลายได้ดีในสารละลายน้ำร่วมกับเอทานอลมากกว่าเอทานอลเพียงอย่างเดียว การที่ตัวทำละลาย 60% เอทานอลให้ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด อาจเกิดจากความสามารถในการทำละลายแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสารฟีนอลิกกับผนังเซลล์พืชได้ดีกว่า ส่งผลให้สารสำคัญถูกสกัดออกมามากขึ้น ในขณะที่ตัวทำละลาย 95% เอทานอล ให้ค่าปริมาณฟีนอลิกรวมต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นน้อยเกินไปเมื่อเทียบกับตัวทำละลายที่มีน้ำผสมอยู่จึงไม่เหมาะต่อการละลายสารฟีนอลิกที่ยังเหลืออยู่ในกากเมล็ดมะรุมหลังการบิบน้ำมัน นอกจากนี้การที่ค่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของ 60MO สูงกว่า 95MO และ 30MO ยังสะท้อนว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในกากเมล็ดมะรุมมีลักษณะเป็นสารกึ่งมีขั้ว จึงถูกสกัดได้ดีที่สุดในระบบตัวทำละลายน้ำร่วมกับเอทานอล ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh et al. [14] พบว่าสารสกัดของเมล็ดมะรุมที่ได้แบบ Free phenolic มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 780.0 ± 41.0 mg/100 g และมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 133.3 ± 6.3 mg/100 g ในขณะที่สารสกัด Bound phenolic มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 4173 ± 131.0 mg/100 g และมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 233.6 ± 8.21 mg/100 g จากการศึกษาด้วยเทคนิค HPLC พบว่าในผงเมล็ดมะรุมที่นำน้ำมันออกยังมี Quercetin, Gallic acid, Ferulic acid, Kaempferol และ Catechins ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เหลืออยู่ จากงานวิจัยของ Leone et al. [26] ที่รายงานว่าเมล็ดมะรุมมีสารสำคัญในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์หลายชนิด เช่น quercetin, kaempferol และ gallic acid ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลชีพ และจากงานวิจัยของ Sharma et al. [27] ได้ศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและองค์ประกอบสารกลุ่มฟีนอลิกของสารสกัดจากเมล็ดมะรุมที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 60% เอทานอล ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ (UAE) โดยใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ที่ 200 วัตต์ เป็นเวลา 20 นาที พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 460.86 ± 2.93 mgGAE/g extract เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดแบบแช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 101.81 ± 0.43 mgGAE/g extract เมื่อศึกษาองค์ประกอบของสารกลุ่มฟีนอลิกด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามี Gallic acid, Vanillic acid, Quercetin, Sinapic acid, Chlorogenic acid, *p*-Coumaric acid, Protocatechuic acid, Protocatechualdehyde และ Ferulic acid ในปริมาณที่มากกว่าสารสกัดที่ได้จากการแช่ และไม่พบ Caffeic acid จากวิธีการสกัดด้วยการแช่

3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเมล็ดมะรุม 30MO 60MO และ 95MO ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบ 60MO มีเปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่สูงที่สุด เท่ากับ $75.06 \pm 1.00\%$ ซึ่งมีค่ามากกว่าสารสกัดหยาบ 60MO และ 95MO ที่มีค่าเท่ากับ $54.76 \pm 1.56\%$ และ $27.01 \pm 0.86\%$ ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2 ผลการทดลองดังกล่าวมีความสัมพันธ์สอดคล้องกับค่าปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่ตรวจพบ โดยสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงมักมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงตามไปด้วย เนื่องจากสารกลุ่มนี้สามารถให้อะตอมไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ทำให้อนุมูลอิสระเกิดความเสถียรและลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ สารกลุ่มฟีนอลิกในเมล็ดมะรุม เช่น ฟลาโวนอยด์ มีโครงสร้างวงอะโรมาติกที่เชื่อมต่อกับหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งสามารถช่วยให้อนุมูลอิสระเสถียรได้ผ่านการเกิดเรโซแนนซ์จึงทำให้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง การที่สารสกัด 95MO มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำที่สุด สอดคล้องกับค่าปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่ต่ำ แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้นสูงไม่สามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งมีความแตกต่างกันของพืชแต่ละชนิด ซึ่งผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวม ซึ่งได้มีการรายงานก่อนหน้านี้ในงานวิจัยของ Sharma et al. [27] ได้ทำการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากเมล็ดมะรุมด้วยตัวทำละลาย 60% เอทานอล ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ (UAE) โดยใช้เวลาและกำลังของ UAE ที่แตกต่างกัน พบว่าการสกัดด้วยการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่ 200 วัตต์ เป็นเวลา 20 นาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 11.18 ± 0.02 mgAAE/g extract เทียบกับการสกัดแช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่มีค่าเท่ากับ 4.84 ± 0.02 mgAAE/g extract และจากงานวิจัยของ Li et al. [28] ที่มีการศึกษาองค์ประกอบสารพฤษเคมีกลุ่มฟีนอลิกที่มีอยู่ในเมล็ดมะรุมและเปลือกของเมล็ดมะรุม จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเมล็ดมะรุมและเปลือกเมล็ดมะรุมที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 75% เอทานอลโดยให้ความร้อนด้วยวิธีรีฟลักซ์พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ที่ $14.05 \pm 1.33\%$ และ $65.17 \pm 1.63\%$ ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และเปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุม

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก ต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีทิน ต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม)	เปอร์เซ็นต์การดักจับ อนุมูลอิสระ DPPH
30MO	6.03 ± 0.04	39.05 ± 2.16	54.76 ± 1.56
60MO	10.30 ± 0.19	41.97 ± 4.78	75.06 ± 1.00
95MO	1.27 ± 0.34	33.04 ± 0.40	27.01 ± 0.86

3.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งสี่สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Salmonella Typhi* ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดมะรุม 30MO 60MO และ 95MO ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงผลการยับยั้งแบคทีเรียดังตารางที่ 3 พบว่าสารสกัดทั้งสามนี้มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้แตกต่างกัน สารสกัดหยาบ 60MO สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทดสอบ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhi* ดีที่สุด โดยมีขนาดบริเวณยับยั้งเท่ากับ 0.13 ± 0.06 , 0.27 ± 0.06 และ 0.20 ± 0.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดหยาบ 95MO สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

Staphylococcus aureus และ *Salmonella Typhi* เท่านั้น โดยมีค่าขนาดบริเวณยับยั้งเท่ากับ 0.10 และ 0.70 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดหยาบ 30MO ไม่ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบทั้งสี่สายพันธุ์ จากงานวิจัยของ Sharma et al. (2020) [27] ได้ทำการศึกษาผลการยับยั้งแบคทีเรีย *E.coli* และ *S.typhimurium* (แบคทีเรียแกรมลบ) และ *B.cereus* และ *S.aureus* (แบคทีเรียแกรมบวก) ของการสกัดกากเมล็ดมะรุมด้วยตัวทำละลาย 60% เอทานอล ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ (UAE) ที่อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 โดยใช้เวลาและกำลังของ UAE ที่แตกต่างกัน เทียบกับการสกัดแช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการสกัดด้วยการใช้คลื่นอัลตราซาวนด์ที่ 200 วัตต์ เป็นเวลา 20 นาที มีบริเวณการยับยั้งมากที่สุดของทุกเชื้อแบคทีเรียทดสอบเมื่อเทียบกับสารสกัดอื่นที่สกัดด้วยกำลังไฟฟ้าและเวลาต่างกัน โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.87 ± 0.5 , 9.75 ± 0.75 , 19.75 ± 0.3 และ 19.25 ± 0.9 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับงานวิจัยนี้ที่มีเทคนิคการสกัดสารที่ต่างกันทำให้สารพฤษเคมีที่สกัดได้มีปริมาณต่างกัน จึงทำให้มีฤทธิ์ที่ทดสอบต่างกัน

ตารางที่ 3 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบของสารสกัดหยาบกากเมล็ดมะรุม

สารสกัดหยาบ	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)			
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>
30MO	0	0	0	0
60MO	0.13 ± 0.06	0.27 ± 0.06	0	0.20 ± 0.10
95MO	0	0.10 ± 0.0	0	0.17 ± 0

B. cereus = *Bacillus cereus*, *S. aureus* = *Staphylococcus aureus*, *E. coli* = *Escherichia coli*, *S. typhi* = *Salmonella Typhi*

4. สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากกากเมล็ดมะรุมหลังการบิบน้ำมัน โดย 60% เอทานอล เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้เปอร์เซ็นต์ผลได้สูงที่สุด รวมถึงมีปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด นอกจากนี้ สารสกัด 60MO ยังแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียต่อ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella Typhi* ได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายอื่น ขณะที่ไม่พบฤทธิ์ต่อ *Escherichia coli* ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับความแตกต่างของโครงสร้างผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่ากากเมล็ดมะรุมหลังการสกัดน้ำมันยังคงเป็นแหล่งของสารพฤษเคมีที่มีคุณค่า โดยเฉพาะสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านจุลชีพสำหรับการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เครื่องสำอาง และเภสัชภัณฑ์ในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยโครงการวิจัยบูรณาการนักศึกษาระดับปริญญาตรีและอาจารย์เพื่อการพัฒนาท้องถิ่นและความเป็นเลิศทางวิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม



6. เอกสารอ้างอิง

- [1] Abdulkarim, S.M., Long, K., Lai, O.M., Muhammad, S.K.S., & Ghazali, H.M. (2005). Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *Food Chemistry*, 93(2), 253-263.
- [2] Seifu, E., & Teketay, D. (2020). Introduction and expansion of *Moringa oleifera* Lam. in Botswana: Current status and potential for commercialization. *South African Journal of Botany*, 129, 471-479.
- [3] Flora, S.J.S., & Pachauri, V., (2011) *Chapter 92 - Moringa (Moringa oleifera) Seed Extract and the Prevention of Oxidative Stress*, in *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, V.R. Preedy, R.R. Watson, and V.B. Patel, Editors., Academic Press: San Diego. p. 775-785.
- [4] Keatinge, J., Ebert, A., Hughes, J., Yang, R.-Y., & Curaba, J. (2017). Seeking to attain the UN's Sustainable Development Goal 2 worldwide: the important role of *Moringa oleifera*. *Acta Horticulturae*, 1-10.
- [5] Makkar, H.P.S., & Becker, K. (1996). Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 63(1), 211-228.
- [6] Liang, L., Wang, C., Li, S., Chu, X., & Sun, K. (2019). Nutritional compositions of Indian *Moringa oleifera* seed and antioxidant activity of its polypeptides. *Food Sci Nutr*, 7(5), 1754-1760.
- [7] Cheenpracha, S., Park, E.J., Yoshida, W.Y., Barit, C., Wall, M., Pezzuto, J.M., & Chang, L.C. (2010). Potential anti-inflammatory phenolic glycosides from the medicinal plant *Moringa oleifera* fruits. *Bioorg Med Chem*, 18(17), 6598-602.
- [8] Li, L.Z., Chen, L., Tu, Y.L., Dai, X.J., Xiao, S.J., Shi, J.S., Li, Y.J., & Yang, X.S. (2023). Six New Phenolic Glycosides from the Seeds of *Moringa oleifera* Lam. and Their α -Glucosidase Inhibitory Activity. *Molecules*, 28(17), 6426.
- [9] Tang, M., Chen, G., Jiang, K., Luo, M., Wu, H., Hu, B., & Zhou, X. (2020). A New Phenolic Glycoside from the Seeds of *Moringa oleifera*. *Chemistry of Natural Compounds*, 56, 642-644.
- [10] Wang, F., Zhong, H.H., Chen, W.K., Liu, Q.P., Li, C.Y., Zheng, Y.F., & Peng, G.P. (2017). Potential hypoglycaemic activity phenolic glycosides from *Moringa oleifera* seeds. *Nat Prod Res*, 31(16), 1869-1874.
- [11] Francis, J.A., Jayaprakasam, B., Olson, L.K., & Nair, M.G. (2004). Insulin Secretagogues from *Moringa oleifera* with Cyclooxygenase Enzyme and Lipid Peroxidation Inhibitory Activities. *Helvetica Chimica Acta*, 87(2), 317-326.
- [12] Maiyo, F.C., Moodley, R., & Singh, M. (2016). Cytotoxicity, Antioxidant and Apoptosis Studies of Quercetin-3-O Glucoside and 4-(β -D-Glucopyranosyl-1 $\rightarrow$ 4- α -L-Rhamnopyranosyloxy)-Benzyl Isothiocyanate from *Moringa oleifera*. *Anticancer Agents Med Chem*, 16(5), 648-56.
- [13] Jiang, Y., Liu, R., Huang, L., Huang, Q., Liu, M., Liu, S., & Li, J. (2023). Spiroleiferthione A and Oleiferthione A: Two Unusual Isothiocyanate-Derived Thioketone Alkaloids from *Moringa oleifera* Lam. Seeds. *Pharmaceuticals*, 16(3), 452.



- [14] Singh, R.S.G., Negi, P.S., & Radha, C. (2013). Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of *Moringa oleifera* seed flour. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1883-1891.
- [15] Minaian, M., Asghari, G., Taheri, D., Saeidi, M., & Nasr-Esfahani, S. (2014). Anti-inflammatory effect of *Moringa oleifera* Lam. seeds on acetic acid-induced acute colitis in rats. *Avicenna J Phytomed*, 4(2), 127-36.
- [16] Ghada, B.K., Marwa, R., Shah, T.A., Dabiellil, M., Dawoud, T.M., Bourhia, M., Tebra, T., Hadhami, C., Tarek, S., & Chiraz, C.-H. (2025). Phytochemical composition, antioxidant potential, and insecticidal activity of *Moringa oleifera* extracts against *Tribolium castaneum*: a sustainable approach to pest management. *BMC Plant Biology*, 25(1), 579.
- [17] Xu, Y.B., Chen, G.L., & Guo, M.Q. (2019). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Crude Extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and Their Correlations with Flavonoids. *Antioxidants (Basel)*, 8(8), 296.
- [18] Aljazzaf, B., Regeai, S., Elghmasi, S., Alghazir, N., Balgasim, A., Hdud Ismail, I.M., Eskandrani, A.A., Shamlan, G., Alansari, W.S., Al-Farga, A., & Alghazeer, R. (2023). Evaluation of Antidiabetic Effect of Combined Leaf and Seed Extracts of *Moringa oleifera* (Moringaceae) on Alloxan-Induced Diabetes in Mice: A Biochemical and Histological Study. *Oxid Med Cell Longev*, 2023, 9136217.
- [19] Xiong, Y., Riaz Rajoka, M.S., Zhang, M., & He, Z. (2022). Isolation and identification of two new compounds from the seeds of *Moringa oleifera* and their antiviral and anti-inflammatory activities. *Nat Prod Res*, 36(4), 974-983.
- [20] Madaan, R., Bansal, G., Kumar, S., & Sharma, A. (2011). Estimation of Total Phenols and Flavonoids in Extracts of *Actaea spicata* Roots and Antioxidant Activity Studies. *Indian J Pharm Sci*, 73(6), 666-9.
- [21] Chen, G.-L., Chen, S.-G., Xie, Y.-Q., Chen, F., Zhao, Y.-Y., Luo, C.-X., & Gao, Y.-Q. (2015). Total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of 23 edible flowers subjected to in vitro digestion. *Journal of Functional Foods*, 17, 243-259.
- [22] Ravi, S., Shanmugam, B., Subbaiah, G.V., Prasad, S.H., & Reddy, K.S. (2017). Identification of food preservative, stress relief compounds by GC-MS and HR-LC/Q-TOF/MS; evaluation of antioxidant activity of *Acalypha indica* leaves methanolic extract (*in vitro*) and polyphenolic fraction (*in vivo*). *J Food Sci Technol*, 54(6), 1585-1596.
- [23] Rani, A.S.S., Babu, S., Anbukumaran, A., Veeramani, S., Ambikapathy, V., Gomathi, S., & Senthilkumar, G., (2021) Chapter 21 - Prospective Approaches of *Pseudonocardia alaniniphila* Hydrobionts for *Litopenaeus vannamei*, in *Advances in Probiotics*, D. Dhanasekaran and A. Sankaranarayanan, Editors., Academic Press. p. 327-348.
- [24] Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180.
- [25] Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302.



- [26] Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., & Bertoli, S. (2016). Moringa oleifera Seeds and Oil: Characteristics and Uses for Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12), 2141.
- [27] Sharma, P., Wichaphon, J., & Klangpetch, W. (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of defatted Moringa oleifera seed meal extract obtained by ultrasound-assisted extraction and application as a natural antimicrobial coating for raw chicken sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 332, 108770.
- [28] Li, L., Dai, X., Xiao, S., Tang, Z., Wang, Y., Yu, N., Xiong, T., & Li, Y. (2025). Phenolic compounds, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities from *moringa oleifera* seed by-products. *Scientific Reports*, 15(1), 22878.