ฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำ

Bioactivity and Chemical Compositions of *Salacca wallichiana* Mart Leaf Oil

สัลวา ตอปี[1] วิภาวรรณ วงศ์สุดาลักษณ์[2] เสาวคนธ์ อินทร์ด้วง[3]

ผจงสุข สุธารัตน์[1] และ สิริมาภรณ์ วัชรกุล[1*]

Salwa Torpee[1], Wipawan Wongsudaluk[2], Saowakon Indoung[3],

Pajongsuk Sutarut[1] and Sirimaporn Watcharakul [1*]

ศูนย์ทรัพยากรจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา[1]

Microbial resources and utilization center, Songkhla Rajabhat University[1]

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา[2]

Faculty of science and technology, Songkhla Rajabhat University[2]

คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์[3]

Faculty of Veterinary Science, Prince of Songkla University[3]

[*]Email: sirimaporn.wa@skru.ac.th

Received : February 9, 2025

Revised : April 9, 2025

Accepted : May 8, 2025

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำ โดยการสกัดด้วยวิธีกลั่นด้วยไอน้ำ เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) พบว่า น้ำมันใบระกำมีกรดปาล์มิติก (Palmitic acid) เป็นสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักโดยพบที่ร้อยละ 12.76 ของปริมาณทั้งหมด และพบองค์ประกอบย่อยทางเคมีอื่น ๆ ในกลุ่มของกรดไขมัน และสเตอรอลพืช เมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป และสายพันธุ์ดื้อยากลุ่มที่สร้างเอนไซม์ Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) ด้วยวิธี Disc diffusion assay พบว่า น้ำมันใบระกำสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ในทุกสายพันธุ์ทดสอบ รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคดื้อยาสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ ESBL โดยให้วงใสการยับยั้งต่อเชื้อ *Escherichia coli* A1 (ESBL) ได้ดีที่สุดที่วงใสการยับยั้ง 10.83 ± 0.56 มิลลิเมตร เปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะ

Gentamicin ในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า น้ำมันใบระกำเป็นสารจากพืชท้องถิ่นที่อุดมไปด้วยสารอาหารในกลุ่มกรดไขมัน และมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถประยุกต์ใช้ในงานอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ อาหารเสริม และยาต้านเชื้อจุลินทรีย์

คำสำคัญ: น้ำมันใบระกำ เชื้อแบคทีเรียดื้อยา สารต้านจุลินทรีย์ องค์ประกอบทางเคมี

ABSTRACT

This research aimed to investigate the biological activity and the chemical composition of oil extracted from *Salacca* leaves using steam distillation. The chemical composition analysis using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC- MS) revealed that the major component of the *Salacca* leaf oil was palmitic acid, accounting for 12.76% of the total composition. Additionally, other minor components, including various fatty acids and plant sterols, were identified. The antimicrobial activity of the *Salacca* leaf oil was tested against pathogenic and multidrug-resistant microbial strains using the disc diffusion assay. The results showed that the oil exhibited antibacterial activity against all tested strains, including those producing Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) - producing strains. The *Salacca* leaf oil showed the most potent inhibition against *Escherichia coli* A1 (ESBL), with an inhibition zone of 10.83 ± 0.56 millimeters, compared to the antibiotic Gentamicin. This study suggests that *Salacca* leaf oil is a local plant-derived substance rich in nutrients, particularly fatty acids, and exhibits biological activity with antimicrobial properties. It has potential applications in the animal feed, supplements, and antimicrobial drug industries.

Keywords: *Salacca wallichiana* Leaf Oil, Antibiotic-Resistant Bacteria, Antimicrobial Agents, Chemical Composition

บทนำ

ระกำ (*Salacca wallichiana*) เป็นพืชในตระกูลเดียวกับสละอยู่ในวงศ์วงศ์แอรีกาซีอี (Arecaceae) เจริญเติบโตได้ดีในสภาพพื้นที่เขตร้อน จัดอยู่ในพืชตระกูลเดียวกับปาล์มที่มีหนามแหลมปกคลุม ระกำเป็นพืชที่นิยมรับประทานผลเนื่องจากเมื่อผลสุกจะมีรสเปรี้ยวอมหวาน มีสรรพคุณเป็นยารักษาอาการไอ ใช้เป็นยาขับเสมหะ (Mazumdar *et al*., 2019) มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของระกำส่วนเปลือกพบสารที่เป็นองค์ประกอบในกลุ่ม อัลคาลอยด์ กรดคาเฟอิก คาเทชิน กรดคลอโรจีนิก ฟลาโวนอยด์ กรดแกลลิก ลิแนลูล ฟีนอล รูติน ซาโปนิน และแทนนิน (Girsang *et al*., 2019) และยังพบสารต้านอนุมูลอิสระในส่วนของเมล็ดในรูปของเคอร์ซิติน (Yodsai *et al*., 2019) ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังพบสารกลุ่มสเตอรอลพืชในรูปของ เบต้า-ซิโตสเตอรอล สารไตรเอซิลกลีเซอรอล และกรดลิโนเลอิก ทั้งในส่วนเปลือกและเมล็ดเป็นจำนวนมาก (Ragasa *et al*., 2018) ในส่วนของเนื้อผลระกำมีองค์ประกอบหลักทางเคมีในสารกลุ่มสเตอรอลพืช และกรดไขมันในกลุ่มไตรกลีเซอไรด์ และในส่วนรากพบไตโตสเตอรอลในรูปของสติกมาสเตอรอล ในขณะที่ในเมล็ดของผลระกำพบกรดลิโนเลอิก (Ragasa *et al*., 2016) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพในส่วนของใบระกำอย่างชัดเจน มีเพียงรายงานการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในใบของปาล์มเลื่อย (saw palmetto) ซึ่งเป็นพืชในตระกูลเดียวกับระกำพบองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่มของกรดไขมันที่สำคัญ ได้แก่ กรดคาพริก กรดลอริก กรดปาล์มิติก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก กรดลิโนเลนิก และกรดอีโคซีโนอิก เป็นต้น ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านการก่อตัวของไบโอฟิลม์ในเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Enterococcus* species ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่พบว่า มีการสร้างไบโอฟิล์ม และเป็นปัจจัยก่อความรุนแรงในการก่อโรคเหนี่ยวนำไปสู่การกลายพันธุ์ และพบเป็นสายพันธุ์ดื้อยาอย่างรวดเร็ว (Kim *et al*., 2019 และ Harriott and Noverr, 2018)

โดยปัจจุบันสถานการณ์โรคติดเชื้อในประเทศไทยเป็นปัญหาสำคัญ และเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับหนึ่ง ซึ่งคิดเป็นอัตราส่วน 1 ต่อ 4 ของผู้ป่วยติดเชื้อทั้งหมด และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (Phuntip *et al*., 2023) สาเหตุเกิดจากการติดเชื้อที่มีคุณสมบัติการดื้อยาปฏิชีวนะ ส่งผลให้ผู้ป่วยมีอาการรุนแรงขึ้น ซึ่งสายพันธุ์ที่พบการดื้อยามากที่สุดในโรงพยาบาล ได้แก่ *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, Methicillin resistant *S. aureus* และ *P. aeruginosa* เป็นต้น โดยพบการดื้อยาปฏิชีวนะหลายขนาน และพบการติดเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้น มีอัตราการเสียชีวิตมากขึ้น (Sinchaiyaphum, 2020) โดยเฉพาะ

สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) จะมีความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตเพิ่มสูงขึ้น (Sangsa *et al*., 2018) การดื้อยาของ เชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ขณะที่ประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ลดลง การติดเชื้อดื้อยา จึงเป็นปัญหาสำคัญเร่งด่วนที่ต้องแก้ไข (Kananit *et al*.,2021) ดังนั้น การค้นหาสารจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ เป็นอีกแนวทางที่สามารถสนับสนุนส่งเสริม และช่วยแก้ปัญหา เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะเหล่านี้ได้ เพราะสารจากธรรมชาติมีองค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อนยากต่อการเกิดการดื้อยา และเพื่อเพิ่มการเข้าถึงยาโดยการนำพืชท้องถิ่นที่หาได้ง่าย ราคาไม่แพงมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ ลดปัญหาการเกิดเชื้อดื้อยาได้ในอนาคต ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันใบระกำต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และสายพันธุ์ดื้อยาที่สร้างเอนไซม์ ESBL และศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบระกำที่สกัดด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ เพื่อทดสอบประสิทธิ์ภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ และเพื่อให้ได้องค์ความรู้จากงานวิจัยเป็นฐานข้อมูลในการพัฒนา และต่อยอดในการพัฒนาอาหารบำบัดโรค อาหารสัตว์หรือผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ในอนาคตได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำ
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและเชื้อดื้อยาของน้ำมันใบระกำ

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างใบระกำเก็บในช่วงเดือนตุลาคม 2566 ถึง เดือนกรกฎาคม 2567 จากพื้นที่ตำบลเขาขาว อำเภอละงู จังหวัดสตูล (6.93347, 99.80818) ตรวจสอบสัณฐานวิทยา และระบุชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชโดยนักพฤกษศาสตร์ ดร.สุวรรณี พรหมศิริ ตัวอย่างถูกเก็บไว้ ณ ศูนย์ทรัพยากรจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ตัวอย่างเลขที่ 030351 คัดเลือกตัวอย่างโดยเลือกใบแก่ที่สมบูรณ์ มีลักษณะทรงรียาว มีสีเขียวเข้ม (ภาพประกอบ 1) นำมาล้าง ทำความสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปผึ่งลมให้แห้งก่อนนำไปสกัดน้ำมัน

2. การสกัดน้ำมันใบระกำ

นำใบระกำผึ่งหมาดไปกลั่นด้วยไอน้ำโดยใช้ชุดกลั่น Clevenger (Duran, Germany) กลั่นที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นแยกน้ำมันด้วยการสกัดกับตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน

อัตราส่วน 1 : 3 เติมสาร sodium sulphate anhydrous เพื่อดึงน้ำออก จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนด้วยเครื่อง evaporator (RC600-KNF, Germany) ที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส หาปริมาณร้อยละของผลผลิตน้ำมัน (% yield) และตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นของน้ำมันใบระกำ น้ำมันระกำที่สกัดได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสำหรับการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป และวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 - 10 นาทีเพื่อให้สารสกัดละลายเป็นของเหลวก่อนนำไปทดสอบ

3. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำ

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำโดยใช้ GC-MS (Agilent Technologies 7890 B/MS7000D, USA) ซึ่งมี GC column J and W VF-WAXms ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 250 ไมโครเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร (Agilent technologies) และใช้แก๊ส Helium (He) เป็นตัวพา ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตัวอย่างที่ใช้ฉีด 1 ไมโครลิตร เตรียมตัวอย่างน้ำมันใบระกำโดยทำการเจือจางกับตัวทำละลายที่อัตราส่วน 1 : 10 โดยฉีดตัวอย่างแบบ split ratio 50 : 1 และใช้โปรแกรมควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งมีอุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้น 45 องศาเซลเซียส ให้อุณหภูมิคงที่เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่งอุณหภูมิถึง 250 องศาเซลเซียส และให้อุณหภูมิคงที่เป็นเวลา 34 นาที สภาวะแมสสเปกโทรเมตรี อุณหภูมิของส่วน MS source ใช้ 230 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุด 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของส่วน MS Quad 150 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุด 200 องศาเซลเซียส ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 35 - 500 amu ใช้เวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมดรวม 100 นาที หลังจากการแยกเสร็จสมบูรณ์ บันทึกผลเป็นโครมาโทแกรม และประเมินผลโดยการหาร้อยละพื้นที่ทั้งหมด ซึ่งหาได้จากการเทียบค่า retention time และ mass spectrum ขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันจากใบระกำแต่ละพีคที่ได้กับค่า retention time และ mass spectrum ของค่ามาตรฐานที่บันทึกไว้ใน library แล้วพิจารณาสารประกอบที่มีร้อยละพื้นที่ทั้งหมดมากกว่าร้อยละ 1.00 (Watcharakul *et al*., 2024)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค

4.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

นำแบคทีเรียทดสอบทั้ง 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus amyloliquefaciens*, S. *aureus*, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* A1 (ESBL), *P. aeruginosa* A2 (ESBL), *E. coli* A1 (ESBL), และ *K. pneumoniae* (ESBL) เพาะเลี้ยงบนอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแบคทีเรียที่ได้ไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Mueller

Hinton Broth (MHB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำไปปรับความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU/mL เพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค

4.2. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค

ศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันใบระกำต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี disc diffusion agar โดยการนำแบคทีเรียทดสอบที่เตรียมไว้เพาะเลี้ยงลงบนอาหาร MHA จากนั้นวางแผ่นกระดาษกรองปราศจากเชื้อที่มีน้ำมันใบระกำปริมาตร 10 µg/disc ลงบนจานอาหาร MHA ที่มีแบคทีเรียทดสอบ ทำ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสการยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นรอบแผ่นกระดาษกรองด้วยเวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ บันทึกผลประเมินผลเปรียบเทียบกับดิสยาปฏิชีวนะมาตรฐาน Gentamicin (ความเข้มข้น 10 µg; OXOID) (Watcharakul *et al*., 2024)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละชุดการทดสอบ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนซึ่งใช้ SPSS Statistic version 15.0 และเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test

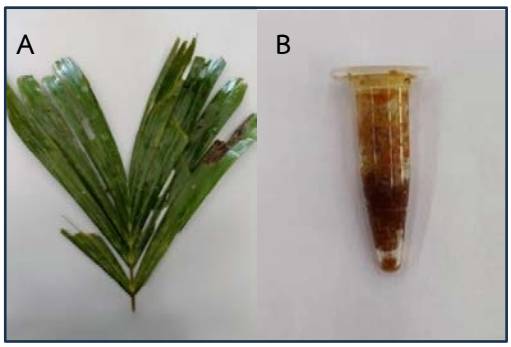
ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดน้ำมันใบระกำและผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำ

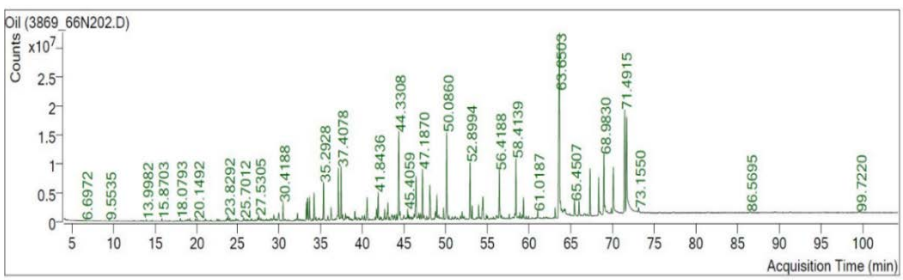
ผลการสกัดน้ำมันใบระกำด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำโดยใช้ชุดกลั่นน้ำมันหอมระเหยเบากว่าน้ำ (Clevenger apparatus; Duran, Germany) พบว่า มีปริมาณร้อยละของผลผลิตเท่ากับร้อยละ 0.10 น้ำมันที่สกัดได้มีลักษณะสีน้ำตาล หนืด มีลักษณะเหลวเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและแข็งตัวเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ 4 - 8 องศาเซลเซียส (ภาพประกอบ 1B)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำด้วยเครื่อง GC-MS พบว่าน้ำมันใบระกำมีองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด 317 ชนิดที่ปริมาณของสารแตกต่างกันดังแสดงในรูปของโครมาโทแกรม (ภาพประกอบ 2) และเมื่อพิจารณาค่าร้อยละของสารที่พบทั้งหมด (% of total) ที่ค่ามากกว่าร้อยละ 1.00 พบสารทั้งหมดจำนวน 22 ชนิด (ตารางที่ 1) พบกรดปาล์มิติก (palmitic acid) ที่ร้อยละ 12.76 สารบิส (2 - เอทิลเฮกซิล) ซีบาเคท (Bis(2-ethylhexyl) sebacate) ที่ร้อยละ 6.25 และ กรดลิโนเลนิกอัลฟา ที่ร้อยละ 5.35 เป็นองค์ประกอบหลักทางเคมี นอกจากนี้ยังพบ

กรดไขมันที่สำคัญ ได้แก่ กรดไมริสติก (ร้อยละ 2.36) กรดลอริก (ร้อยละ 2.24) และกรดสเตียริก (ร้อยละ 1.58) เป็นองค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพประกอบ 1 (A) ใบระกำสด (B) น้ำมันระกำที่สกัดได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำแข็งตัวเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ



ภาพประกอบ 2 โครมาโทแกรมของการวิเคราะห์น้ำมันระกำด้วยเทคนิค GC-MS

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรค

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคทั่วไป ได้แก่ *B. amyloliquefaciens, S. aureus, E. coli* ATCC25922 และแบคทีเรียก่อโรคดื้อยากลุ่มที่สร้างเอนไซม์ ESBL ได้แก่ *E. coli* A1, *P. aeruginosa* A1, *P. aeruginosa* A2, *K. pneumoniae* พบว่า น้ำมันใบระกำสามารถต้านแบคทีเรียทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มดื้อยาที่สร้างเอนไซม์ ESBL สายพันธุ์ *E. coli* A1 ให้ขนาดวงใสการยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 10.83 ± 0.56 มิลลิเมตร และแบคทีเรียสายพันธุ์ดื้อยาอื่น ๆ ที่สร้างเอนไซม์ ESBL เช่น *P. aeruginosa* A1, *P. aeruginosa* A2 และ *K. pneumoniae* ให้ขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 9.53 ± 0.23, 8.63 ± 0.35 และ 8.66 ± 0.40 มิลลิเมตร ตามลำดับ

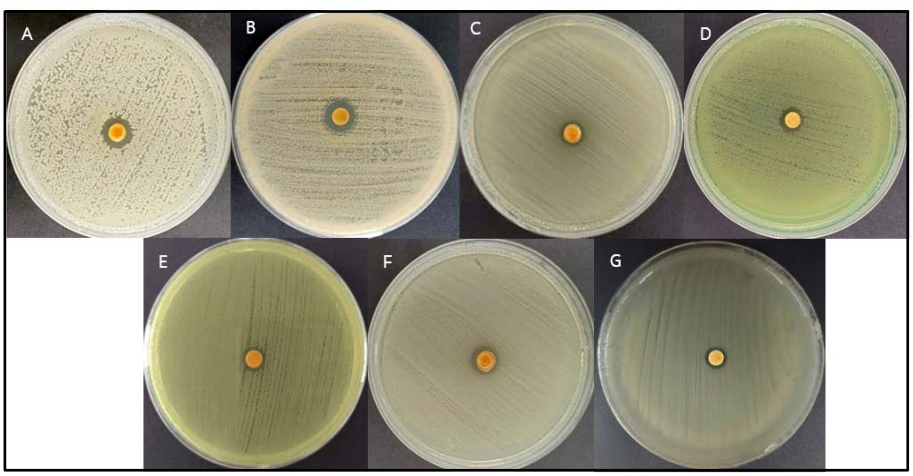
ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS (แสดงผลที่ค่าร้อยละของปริมาณสารทั้งหมดที่มากกว่าร้อยละ 1.00)

No.	RT (min)	Compound name	Match Factor	% of Total
1	33.3707	Caproic acid	89.0	1.02
2	34.1468	Benzyl alcohol	98.3	1.10
3	35.2928	Benzeneethanol	95.9	1.58
4	37.0905	3-Hexenoic acid	97.6	2.09
5	37.4078	2- Hexenoic acid	97.1	2.20
6	40.5332	5-Cyclopropylidenepentyl tetrahydro-2H-pyran-2-yl ether	80.1	1.25
7	41.8436	4-Phenyl-3-buten-2-one	97.8	1.13
8	44.3308	1,2,3,4,4a,7,8,8a-Octahydro-2,4a,5,8a-tetramethyl-1-naphthol	79.4	4.92
9	46.4007	3-Ethyl-4-methyl-1H-pyrrole-2,5-dione	94.0	2.31
10	47.1870	Megastigmatrienone	96.0	2.15
11	48.0695	5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimetthyl-2(4H)-Benzofuranone	97.4	2.13
12	50.0860	2,3-Dihydrobenzofuran	94.7	4.04
13	52.8994	Lauric acid	96.0	2.24
14	54.4398	Vanillin	96.6	1.37
15	56.4188	Phytol	93.6	2.21
16	58.4139	Myristic acid	95.9	2.36
17	63.6503	Palmitic acid	97.8	12.76
18	67.3302	Squalene	96.2	2.03
19	68.3679	Stearic acid	95.2	1.58
20	68.9830	Heptadecene-(8)-carbonic acid-(1)	96.9	2.50
21	71.4915	Bis(2-ethylhexyl) sebacate	96.6	6.25
22	71.7268	9,12,15-Octadecatrienoic acid	95.7	5.35

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ของน้ำมันใบระกำต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบโดยวิธี Disc diffusion agar

Pathogens	Inhibition zone (mm.)
B. amyloliquenfacien	10.64 ± 0.90[a]
S. aureus	10.38 ± 0.58[ab]
E. coli ATCC 25922	8.98 ± 0.89[c]
P. aeroginosa A1 (ESBLs)	9.53 ± 0.23[bc]
P. aeroginosa A2 (ESBLs)	8.63 ± 0.35[c]
E. coli A1 (ESBLs)	10.83 ± 0.56[a]
K. pnuemoniea (ESBLs)	8.66 ± 0.40[c]

* Different lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$)



ภาพประกอบ 3 วงใสการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบของน้ำมันใบระกำบนอาหาร MHA *B. amyloliquefaciens* (A), *S. aureus* (B), *E. coli* ATCC 25922 (C), *P. aeruginosa* A1 (ESBL) (D), *P. aeruginosa* A2 (ESBL) (E), *E. coli* A1 (ESBL) (F), *K. pneumoniae* (ESBL) (G)

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า พืชในวงศ์ปาล์มมีสารประกอบทางเคมีหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น กรดไขมันสายยาว ฟีนอลิก และสเตอรอล ซึ่งมีบทบาทในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ กำจัดอนุมูลอิสระและลดการอักเสบ โดยมีการศึกษาสารจากเปลือกของระกำที่พบสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง (Girsang *et al*., 2019) รวมถึงการศึกษาส่วนรากของระกำที่พบไตรเตอร์พีน และสเตอรอลซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด (Ragasa *et al.,* 2018) แต่ยังไม่มีการศึกษาที่ลงรายละเอียดเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันใบระกำ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้ จึงถือเป็นการเติมช่องว่างในองค์ความรู้เกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันใบระกำ ซึ่งเป็นการนำเสนอข้อมูลใหม่ที่มีประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ในหลายด้าน

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า น้ำมันใบระกำมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในกลุ่มของกรดไขมัน เช่น กรดปาล์มิติก กรดไมริสติก กรดลอริก และกรดสเตียริกซึ่งพบกรดปาล์มิติกในปริมาณสูงที่สุดที่ร้อยละ 12.76 ของปริมาณทั้งหมด (ตารางที่ 2) ซึ่งกรดปาล์มิติกเป็นสารประกอบกรดไขมันอิ่มตัวสายยาว พบได้มากในน้ำมันปาล์ม เมล็ดถั่ว ดอกทานตะวัน ฝ้าย และพืชต่าง ๆ (Zhao *et al*., 2019) และจากรายงานวิจัยของ Booker et al. (2014) พบว่า องค์ประกอบหลักของต้นปาล์มใบเลื่อย (saw palmetto) พบกรดไขมัน และสเตอรอลพืช (phytosterols) มากกว่าร้อยละ 90 โดยกรดไขมันที่พบ ได้แก่ กรดคาไพรลิก กรดคาพริก กรดลอริก กรดไมริสติก กรดปาลมิติก กรดโอเลอิก กรดลิโนเลอิก และกรดสเตียริกซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำในงานวิจัยนี้ (ตารางที่ 1) โดยระกำเป็นพืชตระกูลปาล์มจึงพบปริมาณของกรดปาล์มิติกมากที่สุดเมื่อเทียบกับองค์ประกอบอื่น ๆ

นอกจากนี้ ผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของน้ำมันใบระกำ พบว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั่วไปแกรมบวก ได้แก่ *B. amyloliquefaciens* และ *S. aureus* และแบคทีเรียก่อโรคแกรมลบดื้อยา กลุ่มที่สร้างเอนไซม์ ESBL โดยพบว่า น้ำมันใบระกำสามารถต้านเชื้อดื้อยาสายพันธุ์ *E. coli* A1 (ESBL) ได้ดี (ตารางที่ 2 และภาพประกอบ 3) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Huang และคณะ (2011) ที่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ในช่องปาก พบว่า กรดปาล์มิติมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิด เช่น *Streptococcus mutants*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguis*, *C. albicans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* นอกจากนี้

ยังมีรายงานวิจัย พบว่า กรดไมริสติกและ กรดปาล์มิติกซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดกรดไขมันอิ่มตัว มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ในการต้าน เชื้อยีสต์ก่อโรคสายพันธุ์ *C. albicans* และ *Candida tropicalis* ที่ก่อโรคในปลาม้าลายโดยมีการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ โดยการใช้กรดไมริสติก 250 µg/mL ร่วมกับกรดปาล์มิติก 400 µg/mL (Prasath *et al*., 2020) มีฤทธิ์ยับยั้งปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคด้วยการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์ม การสร้างเส้นใย เอนไซม์โปรตีเอส ไลเปส การสังเคราะห์เออร์กอสเตอรอล (ergosterol biosynthesis) ซึ่งกรดไมริสติกมีฤทธิ์ยับยั้งไบโอฟิลม์ และการสร้างเส้นใยของเชื้อยีสต์ *C. albicans* โดยควบคุมโปรตีนที่เกี่ยวข้องในเสตอรอล (sterol) สฟิงโกลิพิด (sphingolipids) และวิถีการดื้อยาหลายชนิด (multi-drug resistance pathways) (Prasath *et al*., 2019) และมีการศึกษาการทำงานของกรดปาล์มิติกที่เป็นตัวกลาง ในการเปลี่ยนแปลงของไรโซสเฟียร์ซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์บริเวณรอบรากฝอย และการระงับการก่อโรคของเชื้อราฟิวซาเรียม (Fusarium) ในแตงโม โดยพบว่า กรดปาล์มิติกที่ความเข้มข้น 0.25 - 2 mM สามารถยับยั้งการสร้างเส้นใยและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. niveum ได้ (Ma *et al*., 2021) นอกจากนี้ยังพบว่า กรดกรดลอริก และกรดไมริสติกมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิลม์ซึ่งมีผลต่อเชื้อก่อโรคกลุ่มที่มีการสร้าง ไบโอฟิลม์ ได้แก่ *S. aureus*, *E. coli* O157 : H7 และ *C. albicans* (Kim *et al*., 2022) ในขณะที่กรดโอเลอิก และกรดปาล์มิติมีประสิทธิภาพ ในการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิลม์ของ *P. aeruginosa* (Oscar *et al*., 2018) โดย ไบโอฟิลม์จากแบคทีเรีย และเชื้อรามีบทบาทสำคัญในการต้านทานต่อยาต้านจุลชีพ และเป็นปัจจัยสำคัญในการก่อโรค (Handorf *et al*., 2019) โดยการศึกษากลไก พบว่า กรดไขมันสามารถเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความผิดปกติอย่างรุนแรงโดยส่งผลให้โครงสร้างของโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลง และเพิ่มการซึมผ่านเข้าออกของสารของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ไซโทพลาสซึมสลายตัว ดังนั้น การใช้สารจากธรรมชาติที่สามารถทดแทนยาปฏิชีวนะที่มีราคาแพงหรือใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ เพื่อลดต้นทุนหรือเพิ่มการเข้าถึงยาที่มีคุณภาพ เพื่อควบคุมการติดเชื้อหรือลดการดื้อยาของเชื้อก่อโรคจึงเป็นแนวทางที่สำคัญทั้งในปัจจุบันและอนาคต

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบระกำ ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโตรเมทรี พบว่า น้ำมันใบระกำมีกรดปาล์มิติกเป็นองค์ประกอบหลักและพบกรดไขมันที่สำคัญอื่น ๆ ได้แก่

กรดไมริสติก กรดลอริก และ กรดสเตียริก เป็นต้น และผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของน้ำมันใบระกำต่อเชื้อก่อโรคทดสอบ พบว่า น้ำมันใบระกำมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียก่อโรคทดสอบได้ทุกสายพันธุ์รวมทั้งสายพันธุ์ดื้อยาที่ผลิตเอนไซม์ ESBLs จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้เป็นแนวทางในการนำน้ำมันใบระกำหรือใบระกำไปพัฒนาหรือประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ ทั้งเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์หรือผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ และเป็นแนวทางในการพัฒนางานวิจัยต่อไปในอนาคตได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม (ววน.) ทุนวิจัยมูลฐาน (FF2566) เลขที่สัญญา 10/2566 และทุนวิจัยมูลฐาน (FF2567) เลขที่สัญญา 09/2567 และขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.สุวรรณี พรหมศิริ นักพฤษศาสตร์สำหรับการบ่งชี้ชนิดพืช ขอขอบคุณคณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยในส่วนของการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ รวมทั้งขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลาในการเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และขอบคุณสำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในส่วนของการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันใบระกำ

เอกสารอ้างอิง

Booker A., Suter A., Krnjic A., Strassel B., Zloh M., Said M. & Heinrich M. (2014). A phytochemical comparison of saw palmetto products using gas chromatography and H-1 nuclear magnetic resonance spectroscopy metabolomic profiling. *Journal of Pharmacy and* Pharmacology, 66, 811-822.

Girsang E., Lister I.N., Ginting C.N., Khu A., Samin B., Widowati W., Wibowo S. & Rizal R. (2019). Chemical constituents of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) peel and in silico anti-aging analysis. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences. 3*(2), 122-128.

Handorf O., Schnabel U., Bosel A., Weihe T., Bekeschus S. & Graf A.C. (2019). Antimicrobial effects of microwave-induced plasma torch (MiniMIP) treatment on Candida albicans biofilms. *Microbial Biotechnology*, *12*, 1034-1048.

Harriott M.M. & Noverr M.C. (2009). Candida albicans and Staphylococcus aureus form polymicrobial biofilms: Effects on antimicrobial resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 53(9), 3914-3922.

Huang C.B., Alimova Y., Myers T.M. & Ebersole J. L. (2011). Short-and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Archives of Oral Biology*, *56,* 650-654.

Kananit T., Bouphan P. & Songsri C. (2021). The Development of an antimicrobial guidelines, Phen hospital. *Udonthani Hospital Medical Journal*, *29*(2).232-248.

Kim H.S., Ham S.Y., Jang Y., Sun P.F., Park J.H., Lee J.H. & Park H.D. (2019). Linoleic acid, a plant fatty acid, controls membrane biofouling via inhibition of biofilm formation. *Fuel, 253*, 754-761.

Kim Y-G., Lee J-H., Park S., Kim S., & Lee J., (2022) Inhibition of polymicrobial biofilm formation by saw palmetto oil, lauric acid and myristic acid. *Microbial Biotechnology, 15*(2), 590–602.

Ma K., Kou J., Rahman M.K.U., Du W., Liang X., Wu F., Li W. & Pan K. (2021). Palmitic acid mediated change of rhizosphere and alleviation of *Fusarium* wilt disease in watermelon. *Saudi Journal of Biological Sciences, 28*, 3616-3623.

Mazumdar P., Pratama H., Lau S.E., Teo C.H. & Harikrishna J.A. (2019). Biology, phytochemical profile and prospects for snake fruit: An antioxidant-rich fruit of South East Asia. *Trends in Food Science & Technology*, *91*, 147-158.

Oscar F.L., Nithya C., Alharbi S.A., Alharbi N.S. & Thajuddin N. (2018) Microfouling inhibition of human nosocomial pathogen *Pseudomonas aeruginosa* using marine cyanobacteria. *Microbial Pathogenesis*, *114*, 107-115.

Phuntip K., Ratchanee T., Suwimol T. & Buppha R. (2023). Infection situation, antimicrobial susceptibility trends, and guidelines for caring patients with drugs-resistant infection for nurses at Sikao hospital, Trang province. *Journal of Health and Pedagogy*,

3(2), 62-78.

Prasath K.G., Sethupathy S. & Pandian S.K. (2019). Proteomic analysis uncovers the modulation of ergosterol, sphingolipid and oxidative stress pathway by myristic acid impeding biofilm and virulence in *Candida albicans. Journal of Proteomics*, *208*, 2-19.

Prasath K.G., Tharani H., MouKumar M.S. & Pandian S.K. (2020). Palmitic acid inhibits the virulence factors of *Candida tropicalis*: biofilms, cell surface hydrophobicity, ergosterol biosynthesis, and enzymatic activity. *Frontiers in Microbiology*, *11*(864), 1-21.

Ragasa C.Y., Ting J.U., Ramones M.V., Tan M.C.S., & Shen C. (2016). Chemical constituents of *Salacca wallichiana* Mart. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*, *7*(4), 186-189.

Ragasa C.Y., Ting J.U., Ramones M.V., Tan M.C.S., & Urban S. (2018). Chemical composition of *Salacca wallichiana*. *Chemistry of Natural Compounds*, *54*(4), 788–789.

Sangsa N., Putthanachote N. & Sarakarn P. (2018). The association between antibiotics-treated patients in roi-et hospital and their risk of infection with extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* (Esbl-*E. coli*). *Srinagarind Medical Journal*, *33*(6), 551-557.

Sinchaiyaphum V. (2020). Factors associated with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* blood stream infections at Chaiyaphum hospital. *Chaiyaphum Medical Journal*, *40*(1), 78-88.

Yodsai S., Watthanaphap N. & Phaisansuthichol S. (2019). Determination of antioxidant activity and phenolic compound in fruit wastes by spectroscopic and LC-MS/MS. *in Bangkok: Pure and Applied Chemistry International Conference*, Chiang Rai. 138-142.

Watcharakul S., Anomunee R. & Indoung S. (2024). Chemical compositions and bioactive compounds of lemongrass essential oils against microbial pathogen and drug-resistant extended spectrum ß-lactamase (ESBL) producing gram-negative. *Life Sciences and Environmental Journal*, *25*(1).

Zhao X., Chang H., Feng L., Jing Y., Teng W.L. & Qiu L.J. (2019). Genome-wide association mapping and candidate gene analysis for saturated fatty acid content in soybean seed. *Plant Breeding*, *138*(5), 588-598.