ผลของสารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ในกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด

Crude mangosteen peel extracts inhibit *Staphylococcus aureus* in durian peel-based paper

พรลภัส บุญวิชัย[1], ณัฏฐกิตติ์ ศิริกาญจนโรจน์[1] และ อรวรรณ ปิยะบุญ[2*]
Pornlapas Boonwichai[1], Nattakit Sirikanjanaroat[1] and Orawan Piyaboon[2*]

Received: 21 October 2023 ; **Revised**: 28 December 2023 ; **Accepted**: 30 April 2024

บทคัดย่อ

ในบรรจุภัณฑ์กระดาษสำหรับอาหารพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ดังนั้นการใช้สารสกัดจากเปลือกผลมังคุดยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่มีความเป็นไปได้ นอกจากนี้เส้นใยเปลือกทุเรียนเป็นเศษเหลือทิ้งทางการเกษตรและสามารถผลิตเป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร งานวิจัยมีจุดประสงค์เพื่อสร้างกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดเพื่อยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยนำเปลือกมังคุดแห้งไปสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95 % จากนั้นสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดถูกทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี agar disc diffusion พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) คือ 0.24 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 0.98 มิลลิกรัม/ มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นเตรียมเส้นใยกระดาษจากเปลือกทุเรียนเพื่อทำกระดาษผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 65 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรด้วยการผสมและไม่ผสมแป้งมันสำปะหลังเพื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ผลการทดลองพบว่ากระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 65 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรด้วยการผสมและไม่ผสมแป้งมันสำปะหลังสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ และการทดสอบความหนา เปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำ และความต้านทานแรงดึงของกระดาษจากเปลือกทุเรียน พบว่ากระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 3 มีการดูดซึมน้ำและความต้านทานแรงดึงขาดแตกต่างจากกระดาษเปลือกทุเรียนสูตรอื่น ดังนั้นกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสามารถพัฒนาเป็นบรรจุภัณฑ์อาหารสำหรับยืดอายุของอาหารได้

คำสำคัญ: สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมังคุด, เปลือกทุเรียน, เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

Abstract

Paper packaging for food is contaminated with microorganisms, particularly *Staphylococcus aureus*. Therefore, the extracts from mangosteen peels are utilized for their antibacterial properties. Additionally, durian rind fibers, a form of agricultural waste, can be used to produce food packaging. This research aimed to develop a paper from durian rind fibers combined with mangosteen peel crude extract to inhibit *S. aureus*. Dried mangosteen peels were extracted using the maceration method with 95% ethanol. The antibacterial activity of the crude extract was tested against *S. aureus* using the agar disc diffusion method, which demonstrated its inhibitory properties. The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of the extract were 0.24 mg/ml and 0.98 mg/ml, respectively. Therefrom, durian rind fibers were then prepared and combined with 65 mg/ml of mangosteen peel crude extract, both with and without tapioca flour, to produce paper samples. The paper samples inhibited the growth of *S. aureus*. Furthermore, the physical properties, including thickness, water absorption, and tensile strength, were

[1] นักเรียน, มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ นครปฐม จังหวัดนครปฐม 73170
[2] ครู, มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ นครปฐม จังหวัดนครปฐม 73170
[1] Student, Department of Biology and Health Science, Mahidol Wittayanusorn School, Nakhon Pathom, 73170
[2] Teacher, Department of Biology and Health Science, Mahidol Wittayanusorn School, Nakhon Pathom, 73170
* Correspondent author: orawan.piy@mwit.ac.th

tested. Among all formulations, the third formula exhibited lower water absorption and tensile strength compared to the other samples. In conclusion, paper made from durian rind fibers combined with mangosteen peel crude extract demonstrated antibacterial properties and could be developed as food packaging material for prolong food shelf life and reduce spoilage.

Keywords: Crude extracts from mangosteen peel, Durian peel, *Staphylococcus aureus*

บทนำ

บรรจุภัณฑ์อาหารมีบทบาทสำคัญต่อสิ่งแวดล้อม อายุการเก็บของอาหาร และสามารถรักษาคุณภาพของอาหารให้คงอยู่จนกระทั่งบริโภคหมดได้ การพัฒนาบรรจุภัณฑ์ต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายประการ ได้แก่ การลดต้นทุนการผลิตให้มากที่สุด การรักษาคุณภาพของอาหารให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (พงษ์ศักดิ์ จิตตบุตร และคณะ, 2563) โดยเฉพาะบรรจุภัณฑ์กระดาษนั้นใช้วัตถุดิบหลักในการผลิตคือกระดาษซึ่งผลิตจากวัสดุธรรมชาติสามารถย่อยสลายได้ง่าย มีคุณสมบัติแข็งแรง สามารถใช้ในการรักษาคุณภาพของอาหาร และนำกลับมาใช้โดยผ่านกระบวนการแปรรูป มีความปลอดภัยต่อสุขภาพของผู้บริโภค และไม่ก่อให้เกิดมลพิษ ตอบสนองความต้องการของสังคมและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (กรรณิการ์ ชนากานต์กร และคณะ, 2564)

ปัจจุบันการพัฒนาบรรจุภัณฑ์กระดาษสำหรับอาหารที่สามารถเก็บรักษาอาหารในอุณหภูมิไม่เหมาะสมและเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนการรับประทานมักพบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถก่อโรคในระบบทางเดินอาหารเนื่องจากสามารถสร้าง enterotoxin ทำให้ผู้รับประทานเกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้อง และอ่อนเพลียได้ (กิตติมา ไมตรีประดับศรี และคณะ, 2563) ในปัจจุบันการควบคุมหรือยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* สามารถใช้พืชสมุนไพรที่มีองค์ประกอบทางพฤกษเคมี (phytochemicals) และฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) เนื่องจากสาร เมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเปลือกผลมังคุดมีสารกลุ่มแซนโทน ได้แก่ alpha-mangostins (α-mangostin) มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเทียบเท่ายาปฏิชีวนะ (วรรณี สมัปปิโต และคณะ, 2560)

นอกจากนี้การใช้วัสดุธรรมชาติในการสร้างบรรจุภัณฑ์โดยเฉพาะบรรจุภัณฑ์ขึ้นรูปจากเยื่อบรรจุภัณฑ์อาหารย่อยสลายได้ทางชีวภาพและบรรจุภัณฑ์รักษ์สิ่งแวดล้อม เช่น งานวิจัยของประทุมทอง ไตรรัตน์ (2560) ได้ผลิตบรรจุภัณฑ์เยื่อกระดาษขึ้นรูปจากวัสดุเหลือทิ้งจากภาคการเกษตร (ต้นเฮลิโคเนีย ก้านกุหลาบ และต้นกระถิน) ดังนั้นการนำเปลือกทุเรียนซึ่งเป็นเปลือกผลไม้ที่เหลือทิ้งมาผ่านกระบวนการเพื่อขึ้นรูปบรรจุภัณฑ์กระดาษ จึงมีความเป็นไปได้เนื่องจากเปลือกทุเรียนมีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสม เส้นใยมีความแข็งแรง ความเหนียว และความยืดหยุ่น (วริศชนม์ นิลนนท์ และคณะ, 2564) นอกจากนี้เส้นใยของเปลือกทุเรียนยังคล้ายกับเส้นใยที่ได้จากไม้เนื้อแข็ง มีเจล และเพคติน ทำให้ต้านทานการซึมน้ำและไขมัน (คงศักดิ์ เลิศอนันตสุข และเบญจรัตน์ พจน์ศิริศิลป, 2548) จากการเปรียบเทียบคุณสมบัติและสภาพพิมพ์ด้วยระบบพ่นหมึกของกระดาษที่ผลิตจากเปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทองและพันธุ์ก้านยาวพบว่าเปลือกทุเรียนพันธุ์หมอนทองมีคุณภาพด้านความขาวและคุณภาพงานพิมพ์สีบนกระดาษที่ดีกว่าเปลือกทุเรียนพันธุ์ก้านยาว (นิทัศน์ พิมย์โสตนัยนา และสุชปา เนตรประดิษฐ์, 2550) และจากการทดสอบน้ำหนักมาตรฐาน ปริมาณความชื้น การดูดซึมน้ำ ความต้านแรงฉีกขาด ความต้านแรงดึงขาดและการยืดตัว ความต้านแรงดันทะลุของกระดาษจากเส้นใยเปลือกทุเรียนฟอกกับเส้นใยจากเปลือกทุเรียนไม่ฟอกพบว่ากระดาษจากเปลือกทุเรียนแบบไม่ฟอกมีคุณสมบัติดีกว่าแบบฟอก (วริศชนม์ นิลนนท์ และคณะ, 2564)

ดังนั้น ผู้วิจัยได้สนใจศึกษาเกี่ยวกับการนำวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร คือ เปลือกทุเรียนและเปลือกมังคุดมาพัฒนาเป็นกระดาษที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ซึ่งอาจเป็นทางเลือกใหม่ของการผลิตกระดาษจากธรรมชาติที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังเป็นการพัฒนาและเพิ่มคุณค่าทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ในประเทศอีกด้วย

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมตัวอย่างและการสกัดสารจากเปลือกมังคุด (นุศวดี พจนานุกิจ และสมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม, 2553)

มังคุดสายพันธุ์พื้นเมือง อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 120 วัน ถูกเก็บจากสวนมังคุดแม่นา ตำบลถ้ำ อำเภอตะกั่วทุ่ง จังหวัดพังงา จำนวน 24 กิโลกรัม เปลือกมังคุดถูกนำมาล้างและตัดขั้วและคว้านเนื้อออก หลังจากนั้นนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง แล้วนำไปบดให้ละเอียดเป็นผงได้น้ำหนักแห้งจำนวน 6.60 กิโลกรัม จากนั้นนำมาสกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 18 ลิตร นาน 7 วัน แล้วนำสารสกัดมากรองด้วยกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แล้วนำสารละลายทั้งหมดมาระเหยตัว

ทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนได้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดจำนวน 0.41 กิโลกรัม คิดเป็นน้ำหนักสุทธิ (percent yield) 10.99% จากน้ำหนักแห้ง เก็บไว้ในภาชนะหุ้มอลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดทั้งหมด 3 วิธี

2.1 การทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibiting zone) ด้วยวิธี agar disc diffusion (Newberry *et al*., 2007)

เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้จากภาควิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ถูกนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* โดยการออกแบบการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ โดยแต่ละกรรมวิธีทำซ้ำ 5 ซ้ำ กรรมวิธีควบคุมเชิงลบ คือ น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ และกรรมวิธีควบคุมเชิงบวก คือ คลินดามัยซิน (clindamycin) ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนกรรมวิธีทดลอง คือ สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดความเข้มข้น 65 และ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการหยดสารดังกล่าวปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงบน sterile paper disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (ยี่ห้อ Whatman, England) หลังจากนั้นเชื้อแบคทีเรีย*S. aureus* ความเข้มข้น 1X10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ถูกเกลี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ทิ้งไว้ 5 นาทีเพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง หลังจากนั้นวาง paper disc ของสารต่างๆ ที่เตรียมได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibiting zone หรือ clear zone) โดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร บันทึกผลและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี One-way ANOVA หาความแตกต่างทางสถิติของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยกำหนดความเชื่อมั่นทางสถิติที่ P<0.01

2.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (minimal inhibitory concentration, MIC) ด้วยวิธี Colorimetric broth micro-dilution (Coelho *et al*., 2021)

ในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นพบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ต่อจากนั้นจึงทดสอบหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียใช้ 96-well microplate โดยให้แต่ละหลุมมีเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่มีความความเข้มข้น 1X10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยการทำการเจือจางสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (NB) แบบลำดับสอง (2-fold serial dilution) ในmicrotiter plate ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ โดยสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบอยู่ในช่วง 0.12-125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน microplate สำหรับกรรมวิธีควบคุมเชิงลบ คือ น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ โดยแต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วใส่สารละลายรีซาซูริน (resazurin) ปริมาตร 50 ไมโครลิลิตรจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลจากการเปลี่ยนแปลงสีของรีซาซูริน ถ้าเปลี่ยนจากสีน้ำเงินม่วงเป็นสีชมพู แปลผลได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียรอดชีวิต (bacterial viability)

2.3 *การทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย S. aureus* (minimal bactericidal concentration, MBC) (Coelho *et al*., 2021)

นำสารละลายจากหลุมใน 96-well microplate ที่ใช้หาค่า MIC หลุมที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีรีซาซูริน (น้ำเงิน) มาหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยแต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองจากความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้และไม่พบการเจริญของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA จดบันทึกค่า MBC หรือความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้จากจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

3. การขึ้นรูปแผ่นกระดาษจากเส้นใยเปลือกทุเรียนผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

นำเปลือกทุเรียนแห้งจากสวนถ้ำสิงห์ ตำบลวิสัยเหนือ อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร มาต้มกับสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อเปลือกทุเรียนแห้ง 1 กรัม แล้วนำเปลือกทุเรียนแห้งมากรองและล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปต้มกับสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1 M อีกครั้ง แล้วกรองและล้างด้วยน้ำสะอาด เส้นใยจากเปลือกทุเรียนถูกนำมาปั่นและอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยเปลือกทุเรียนแห้ง 1.99 กิโลกรัม สามารถเตรียมเส้นใยกระดาษได้น้ำหนักแห้ง 0.71 กิโลกรัม คิดเป็นน้ำหนักสุทธิ 35.43% จากน้ำหนักแห้ง

นำเส้นใยกระดาษจากเปลือกทุเรียนจำนวน 1.81 กรัม มาแช่น้ำปริมาตร 364 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาขึ้นรูปแผ่นกระดาษจำนวน 4 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1: เส้นใย

กระดาษผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 65 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แต่ไม่ใส่แป้งมันสำปะหลัง สูตรที่ 2: เส้นใยกระดาษผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 65 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรและใส่แป้งมันสำปะหลัง สูตรที่ 3: เส้นใยกระดาษไม่ผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดและไม่ใส่แป้งมันสำปะหลัง และสูตรที่ 4: เส้นใยกระดาษไม่ผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดและใส่แป้งมันสำปะหลัง นำไปเทใส่แม่พิมพ์ขนาดความยาว 25 เซนติเมตร ความกว้าง 15 เซนติเมตร และอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4. การทดสอบประสิทธิภาพของกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยแต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีทดลอง 3 กรรมวิธี คือ กระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ส่วนกรรมวิธีควบคุม คือ กระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 4 โดยนำเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย *S. aureus* ความเข้มข้น $1X10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA แล้วนำกระดาษจากเปลือกทุเรียนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรแต่ละกรรมวิธีวางลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ในจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส บันทึกผลและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี One-way ANOVA หาความแตกต่างแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยกำหนดความเชื่อมั่นทางสถิติที่ P<0.01

5. การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษจากเปลือกทุเรียนที่ผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

วางการทดลองแบบ CRD โดยแต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ได้แก่ กระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 1 สูตรที่ 2 สูตรที่ 3 และสูตรที่ 4 โดยกระดาษจากเปลือกทุเรียนทั้ง 4 สูตรถูกนำมาทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้

5.1 วัดความหนาของกระดาษด้วยเวอร์เนียร์

คาลิปเปอร์ (vernier caliper) มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร ทำ 3 ซ้ำ และหาค่าเฉลี่ย

5.2 วัดเปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำ (ดัดแปลงวิธี

จากกฤติยา วงศ์เลน, 2555) โดยการอบชิ้นกระดาษอุณหภูมิ 50°C 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักชิ้นกระดาษก่อนแช่น้ำกลั่น แล้วนำชิ้นกระดาษมาแช่น้ำเป็นเวลา 8 นาที หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักของชิ้นกระดาษหลังแช่น้ำกลั่น หลังจากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำตามสมการ ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การดูดซึมน้ำ = PW-PD/PD

เมื่อ

PW = น้ำหนักชิ้นทดสอบหลังการทดลองดูดซึมน้ำ

PD = น้ำหนักชิ้นทดสอบก่อนการทดลองดูดซึมน้ำ

วัดความต้านทานแรงดึง (tensile strength) โดยเครื่อง Universal testing machine นำแผ่นกระดาษตัวอย่างขนาดกว้าง 1.5 เซนติเมตร ยาว 10 เซนติเมตร กำหนดระยะจับชิ้นงานไว้ที่ 50 มิลลิเมตร ที่ความเร็ว 50 มิลลิเมตรต่อนาที ทำการทดสอบ 3 ซ้ำแล้วนำมาคำนวณดังสมการดังนี้

$\sigma = F/A$

เมื่อ

σ คือความต้านทานแรงดึง

F คือแรงภายนอกที่มากระทำ

A คือพื้นที่ภาคตัดขวางที่แรงกระทำ

บันทึกผลคุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยวิธี One-way ANOVA และหาความแตกต่างของแต่ละกรรมวิธีด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยกำหนดความเชื่อมั่นทางสถิติที่ P<0.01

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด พบว่าความเข้มข้น 65 และ 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ และสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* แตกต่างกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 65 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) ใน Table 1 แสดงว่าบริเวณยับยั้งเชื้อแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ

สำหรับผลการหาค่าบริเวณยับยั้งเชื้อเป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นว่าสารสกัดหยาบมีความสามารถยับยั้งเชื้อได้หรือไม่ หลังจากมีการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ผลการทดลองพบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 0.24 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ*การทดสอบหาความ*

เข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสามารถฆ่าของเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ผลการทดลองพบว่าค่า MBC เท่ากับ 0.98 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เนื่องสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีสารส่วนใหญ่เป็นสาร xanthone ในกลุ่มแอลฟาแมงโกสติน (alpha-mangostin) รวมถึงสาร tannin, flavonoid เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) สารแอลฟาแมงโกสตินมีสมบัติในการต้านการอักเสบและต้านการเจริญของจุลินทรีย์ (antimicrobial) (สิรภพ นาคะวัจนะ และคณะ, 2563) โดยการศึกษาของ Torrungruang *et al*. (2007) พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus, S. epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella Typhimurium, Enterococcus* spp., *Mycobacterium tuberculosis* และ *Propionibacterium* เนื่องจากแอลฟาแมงโกสตินไปยับยั้งการสร้างโปรตีนในแบคทีเรียและทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียมีผลต่อการสูญเสียองค์ประกอบภายในเซลล์ (Koh *et al*., 2013)

2. ประสิทธิภาพของกระดาษจากเปลือกทุเรียนกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*

กระดาษจากเปลือกทุเรียนที่ผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในสูตรที่ 1 และ 2 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เนื่องจากส่วนประกอบของกระดาษมีสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ดัง Figure 1

จาก Table 2 พบว่ากระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เท่ากับ 3.5 มิลลิเมตร และ 4.0 มิลลิเมตร และกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* มากกว่ากระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 3 และ 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) และกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในสูตรที่ 1 และ 2 มีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.01) พร้อมทั้งกระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 3 และ 4 ค่าเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.01)

Table 1 Zone of inhibition observed for *S. aureus*

Compound	Mean diameter of zone of inibition (mm±SD)
Treatment 1: 2.5 mg/ml Clindamycin	41.5±0.34a[1]
Treatment 2: Sterilized water	0.00±0.00d
Treatment 3: 65 mg/ml mangosteen peel extracts	4.9±0.15c
Treatment 4: 125 mg/ml mangosteen peel extracts	7.1±0.09b

[1]Means±SD followed by the same letter do not significantly different at P<0.01

Figure 1 Anti-*Staphylococcus aureus* by paper made from durian peel mixed with mangosteen peel extracts

Table 2 The antimicrobial activities of paper packaging from durian peel and mangosteen peel extracts

Paper formula	Mean diameter of the zone of inhibition (mm±SD)
The first formula: durian rind fibers combined with 65 mg/ml of mangosteen peel crude extract, without tapioca flour	3.5±0.08a[1]
The secondary formula: durian rind fibers combined with 65 mg/ml of mangosteen peel crude extract, both with tapioca flour	4.0±0.07a
The third formula: durian rind fibers only	0.00±0.00b
The fourth formula: durian rind fibers with tapioca flour	0.00±0.00b

[1] Means±SD followed by the same letter do not significantly different at $P<0.01$

3. คุณสมบัติทางกายภาพของกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

เส้นใยจากเปลือกทุเรียนสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นกระดาษได้ เนื่องจากเปลือกทุเรียนมีส่วนประกอบของพอลิแซคคาไรด์และเซลลูโลสสูง ซึ่งเป็นกลุ่มของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสและโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (วริศชนม์ นิลนนท์ และคณะ, 2564) โดยกระดาษจากเปลือกทุเรียนจำนวน 4 สูตร มีความหนาของกระดาษไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.01) ดังแสดงใน Table 3 แสดงให้เห็นว่าการผสมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดและแป้งมันสำปะหลังไม่มีผลต่อความหนาของกระดาษจากเปลือกทุเรียน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Leulee Nortoualee (2564) ศึกษาแผ่นกระดาษฟางข้าวที่ปรับปรุงการใส่แป้งมันสำปะหลังและไม่ใส่แป้งมันสำปะหลังไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.01) และกระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์ในการดูดซึมน้ำแตกต่างจากกระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P*<0.01) ส่วนกระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 3 เป็นกระดาษจากเปลือกทุเรียนไม่ได้ผสมสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดและไม่ผสมแป้งมันสำปะหลังมีค่าความต้านทานแรงดึงน้อยกว่ากระดาษจากเปลือกทุเรียนสูตรที่ 4 เป็นกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดและไม่ผสมแป้งมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) แสดงว่าการผสมแป้งมันสำปะหลังในกระดาษจากเปลือกทุเรียนมีผลต่อค่าความต้านทานแรงดึง เพราะแป้งมันสำปะหลังมีส่วนช่วยความยืดหยุ่นมากขึ้นเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาการ Cross-link ระหว่างแป้งมันสำปะหลังและเส้นใยเซลลูโลส (Soykeabkaew *et al*., 2004)

Table 3 Physical properties of paper packaging from durian peel and mangosteen peel extracts

Paper formula	Physical properties		
	thickness (mm±SD)	percent of water absorption (%±SD)	tensile strength (lbf/in^2 ±SD)
The first formula	0.73±0.06a[1]	83.63±0.57b	4.17±0.95ab
The secondary formula	0.73±0.06a	86.87±1.34a	4.06±1.27ab
The third formula	0.70±0.10a	85.01±0.08ab	2.98±0.94b
The fourth formula	0.63±0.06a	81.28±0.60c	6.10±1.06a

Paper formula: the first formula: durian rind fibers combined with 65 mg/ml of mangosteen peel crude extract, without tapioca flour, the secondary formula: durian rind fibers combined with 65 mg/ml of mangosteen peel crude extract, both with tapioca flour, the third formula: durian rind fibers only and The fourth formula: durian rind fibers with tapioca flour

[1] Means±SD followed by the same letter do not significantly different at $P<0.01$

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* โดยกระดาษจากเปลือกทุเรียนผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 65 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรทั้งการผสมและไม่ผสมแป้งมันสำปะหลังสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ดังนั้นกระดาษที่ทำจากเปลือกทุเรียนผสมกับสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด จึงเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากเศษเหลือเปลือกทุเรียนและเปลือกมังคุดในการพัฒนาบรรจุภัณฑ์กระดาษ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยาและวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ได้ให้ทุนวิจัย และการสนับสนุนเครื่องมือและสารเคมีสำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

คงศักดิ์ เลิศอนันตสุข, และ เบญจรัตน์ พจน์ศิริศิลป. (2548). *การศึกษาสมบัติของกระดาษจากเยื่อผสมของเปลือกทุเรียนและปอสาเพื่อใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์*. โครงงานระดับปริญญาตรี, ภาควิชาเทคโนโลยีการพิมพ์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

กรรณิการ์ ชนากานต์กร, มนูญ โต๊ะยามา, และ วสุ สุวรรณวิหค. (2564). ปัจจัยที่มีผลต่อนวัตกรรมและผลิตภาพการผลิตรวมของอุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์กระดาษในประเทศไทย. *วารสารสุโขทัยธรรมาธิราช, 34*(1), 32-48.

นิทัศน์ พิมย์โสตนัยนา, และ สุชปา เนตรประดิษฐ์. (2550). การพัฒนากระดาษเปลือกทุเรียนสองพันธุ์สำหรับการพิมพ์ระบบพ่นหมึก. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 38*(6), 15-18.

นุศวดี พจนานุกิจ, และ สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. (2553). เปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชัน และใบบัวบก. *วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 18*(1), 1-9.

ประทุมทอง ไตรรัตน์. (2560). การพัฒนาบรรจุภัณฑ์จากวัสดุเหลือจากภาคการเกษตรและวัชพืชแบบเยื่อกระดาษขึ้นรูปสำหรับผลไม้. *วารสารวิชาการศิลปะสถาปัตยกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัย, 8*(2), 186-199.

พงษ์ศักดิ์ จิตตบุตร, ศิริพร ปิยะศรี, และ สุชาดา เปียสันเทียะ. (2563). แผ่นวัสดุเพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารโดยใช้เศษเหลือทิ้งทางการเกษตร. *วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา, 5*(1), 43-52.

วริศชนม์ นิลนนท์, กุลพร พุทธมี, จิรพร สวัสดิการ, คมสัน มุ่ยสี, และ ประมวล ศรีกาหลง. (2564). การพัฒนาบรรจุภัณฑ์จากเส้นใยเปลือกทุเรียนแบบฟอกขาวและไม่ฟอกขาว. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 40*(6), 422-429.

วรรณี สมัปปิโต, ศุภชัย สมัปปิโต, และ ลือชัย บุตคุป. (2560). ผลของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ไพล และน้ำมันไพลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 36*(1), 53-60.

สิรภพ นาคะวัจนะ, สิตานันท์ ศรีสุภาสิตานนท์, อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ, ประกิต สุขใย, และ อรวรรณ ปิยะบุญ. (2563). ฤทธิ์ต้านเชื้อก่อสิว *Staphylococcus epidermidis* ด้วยแผ่นปิดสิวเซลลูโลสชีวภาพจากสารสกัดเปลือกมังคุด. *วารสารวิชาการสาธารณสุข, 29*(4), 711-718.

Leulee Nortoualee. (2564). *การเพิ่มมูลค่าฟางข้าวโดยการผลิตเป็นกระดาษบรรจุภัณฑ์* [วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยแม่โจ้].

Coelho, V. C., Neves, S. D. P., Giudice, M. C., Benard, G., Lopes, M. H., & Sato, P. K. (2021). Evaluation of antimicrobial susceptibility testing of *Nocardia* spp. isolates by broth microdilution with resazurin and spectrophotometry. *BMC Microbiology, 21*, 331. https://doi.org/10.1186/s12866-021-02393-9

Koh, J. J., Qiu, S., Zou, H., Lakshminarayanan, R., Li, J., Zhou, X., Tang, C., Saraswathi, P., Verma, C., Tan, D. T., Tan, A. L., Liu, S., & Beuerman, R. W. (2013). Rapid bactericidal action of alpha-mangostin against MRSA as an outcome of membrane targeting. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1828*(2), 834-844. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.11.015

Newberry, B. M., Shabahang, S., Johnson, N., Aprecio, R. M., & Torabinejad, M. (2007). The antimicrobial effect of biopure MTAD on eight strains of *Enterococcus faecalis*: An in vitro investigation. *Journal of Endodontics, 33*(11), 1352-1354. https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.07.021

Soykeabkaew, N., Supaphol, P., & Rujiravanit, R. (2004). Preparation and characterization of jute- and flax-reinforced starch-based composite foams. *Carbohydrate Polymers, 58*(1), 53-63. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.06.037

Torrungruang, K., Vichienroj, P., & Chutimaworapan, S. (2007). Antibacterial activity of mangosteen pericarp extract against cariogenic *Streptococcus mutans*. *Chulalongkorn University Dental Journal, 30*, 1-10.