รายงานการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาผลการเสริมฤทธิ์ของมะเขือเทศราชินีด้วยวิตามินซี ต่อความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระและการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ

Effect of antioxidant and antimicrobial activities of *Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme* together with vitamin C

ดร.นิรมล ธรรมวิริยสติ

นางสาวปองรุ้ง จันทรเจริญ

มหาวิทยาลัยบูรพา

2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การศึกษาผลการเสริมฤทธิ์ของมะเขือเทศราชินีด้วยวิตามินซี ต่อความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระและการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ

Effect of antioxidant and antimicrobial activities of *Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme* together with vitamin C

ดร.นิรมล ธรรมวิริยสติ

(คณะสหเวชศาสตร์ สาขาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยบูรพา)

นางสาวปองรุ้ง จันทรเจริญ

(คณะสหเวชศาสตร์ สาขาชีวเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา)

มหาวิทยาลัยบูรพา

2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยบูรพา

(งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินด้านการวิจัยปีงบประมาณ 2556)

หัวข้อวิจัย การศึกษาผลการเสริมฤทธิ์ของมะเขือเทศราชินีด้วยวิตามินซี ต่อความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระและการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ

ผู้ดำเนินการวิจัย นิรมล ธรรมวิริยสติ
ปองรุ้ง จันทรเจริญ
ที่ปรึกษา -
หน่วยงาน คณะสหเวชศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา
ปี พ.ศ. 2557

มะเขือเทศราชินีเป็นพืชชนิดหนึ่งที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหาร นิยมใช้รับประทานสด และแปรรูปเป็นผลไม้แช่อิ่ม สามารถนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพรแต่ยังไม่มีการรายงานผลในการรักษาเป็นที่ชัดเจน การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของมะเขือเทศต่อความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระและการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ผลการสกัดโดยใช้น้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า เมื่อสกัดมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อที่ความเข้มข้นน้ำหนักสด 50 กรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นน้ำหนักสด 1.67 กรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินเอเท่ากับ 0.009 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดที่ได้นำมาศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albican* และ *Candida tropicalis* ด้วยวิธี broth dilution test พบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) ของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อ แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* เท่ากับ 25 กรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอลแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* และ *Ps. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 0.7 และ 0.6 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่วิตามินซีบริสุทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพได้ทั้ง 6 ชนิด โดยมี ค่า MIC ยับยั้งเชื้อ *S. aureus, S. pyogenes* และ *Ps. aeruginosa* เท่ากับ 3×10^{-5} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เชื้อ *E. coli* มีค่า MIC เท่ากับ 4.5×10^{-5} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, เชื้อ *C. albican* และ *C. tropicalis* มีค่า MIC เท่ากับ 5×10^{-5} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารละลาย β-carotene ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้ เมื่อทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (ferric reducing-antioxidant power) สารสกัดจากมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่า FRAP Value เท่ากับ 61.00±7.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อซึ่งมีค่า FRAP value เท่ากับ 40.09±3.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลของ DPPH (free radical scavenging) assay พบว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ค่า 0.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำที่มีความสามารถที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ค่า 2.33 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดมะเขือเทศด้วยเอทานอลสามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพและต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าเมื่อสกัดด้วยน้ำ ซึ่งความรู้เหล่านี้สามารถนำไปสู่การพัฒนา ปรับปรุง และแปรรูปอาหารเพื่อเพิ่มคุณค่าของผลิตภัณฑ์ต่อสุขภาพมากยิ่งขึ้น

Research Title	Effect of antioxidant and antimicrobial activities of *Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme* together with vitamin C
Researcher	Niramon Thamwiriyasati Pongrung Chancharoen
Research Consultants	-
Organization	Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University
Year	2014

Apart from using cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L. var. cerasiforme) to eat fresh or cook for health benefits, it is also used as herbal medicine. However, there is no report on application as medical control. The objective of this research was to study the effect of antioxidant and antimicrobial activities of cherry tomatoes. This research studied the inhibition of cherry tomato crude extract on pathogenic microbes. Fresh cherry tomato extracts by water with concentration 50 g/mL contain 0.32 mg/mL of vitamin C, and its extracts by absolute ethanol with concentration 1.67 g/mL contain 0.009 mg/mL of vitamin A. The crude exacts were used to test for inhibitory effect of six microbes including *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa, Candida albican* and *Candida tropicalis* by broth dilution methods. The result demonstrated that Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of cherry tomato extracts by using water to *S. pyogenes* was 25 g/mL. MIC of cherry tomato extracts by using absolute ethanol to *S. pyogenes and Ps. aeruginosa* were 0.7 and 0.6 g/mL, respectively. While vitamin C could inhibit the growth of six microbes, MIC of *S. aureus, S. pyogenes* and *Ps. aeruginosa* were 3×10^{-5} mg/mL, MIC of *E. coli* was 4.5×10^{-5} mg/mL, MIC of *C. albican* and *C. tropicalis* were 5×10^{-5} mg/mL, respectively. It was found that FRAP value of cherry tomato extracts by etanol was 61.00±7.19 mg/mL while FRAP value of cherry tomato extracts by water was 40.09±3.81 mg/mL. 50% DPPH inhibition of cherry tomato extracts by etanol was 0.55 μg/mL while that of extracts by water was 2.33 μg/mL. It has been showed that ethanol was better solvent for extract cherry tomatoes because of high inhibition of bactericidal activity and effect of antioxidant activities. Therefore, fresh crude tomato extracts have a significant potential benefit of health.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้ทุนสนับสนุนการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๖ มหาวิทยาลัยบูรพา (เลขที่สัญญา ๐๑๔/๒๕๕๖) และขอขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับอุปกรณ์ และสถานที่ทำการศึกษาวิจัยตลอดโครงการ

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณครอบครัว บุคคลอันเป็นที่รักทุกท่าน รวมถึงบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนามที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการทำโครงงานวิจัยครั้งนี้ สำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือต่างๆ ตลอดการทำโครงการวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย
2557

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	2
สมมติฐานการวิจัย	3
คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
รายละเอียดเกี่ยวกับเชื้อที่นำมาศึกษา	5
รายละเอียดเกี่ยวกับพืชและสารเคมีที่นำมาศึกษา	11
อนุมูลอิสระ	18
สารต้านอนุมูลอิสระ	21
บทความและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	23
กรอบแนวคิดในการวิจัย	25
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	26
ประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง	26
เครื่องมือในการวิจัยและการตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ	26
สารเคมี	26
การเก็บรวบรวมข้อมูล	27
การวิเคราะห์ข้อมูล	28

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัย 33
ผลการทดสอบความปลอดภัยของมะเขือเทศ 33
ผลการสกัดสารจากมะเขือเทศ 33
ผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในสารสกัดจากมะเขือเทศ 33
ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 36
ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพ
ด้วยวิธี Disc diffusion test 43
ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพ
ด้วยวิธี Broth dilution test 44
ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ฆ่าเชื้อจุลชีพ
ด้วยวิธี Broth dilution test 45

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 51
สรุปผลการวิจัย 51
อภิปรายผล 52
ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ 56
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป 56

บรรณานุกรม 57
บรรณานุกรมภาษาไทย 57
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ 59

ภาคผนวก 61
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 62
ภาคผนวก ข การตรวจยาฆ่าแมลงในมะเขือเทศ 63

ประวัติผู้วิจัย 65

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบของวิตามิน และสารประกอบทุติยภูมิในผลมะเขือเทศสด 100 กรัม	13
3.1	แสดงการเตรียมสารมาตรฐาน Fe^{2+}	29
4.1	ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay ของสารสกัดมะเขือเทศ	37
4.2	ผลการวัดค่าสารละลายมาตรฐาน Fe^{2+} standard ที่ละลายในน้ำ	37
4.3	ผลการวัดค่าสารละลายมาตรฐาน Fe^{2+} standard ที่ละลายในเอทานอล	37
4.4	ผลของค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำด้วยวิธี DPPH Assay	39
4.5	ผลของค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยเอทานอลด้วยวิธี DPPH Assay	41
4.6	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ ด้วยวิธี Disc diffusion test	46
4.7	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ต่อการยับยั้งการเจริญ-เติบโตของเชื้อจุลชีพ ด้วยวิธี Disc diffusion test	47
4.8	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารควบคุมและสารสกัดจากมะเขือเทศ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ	48

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	5
2.2	ลักษณะของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	7
2.3	ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	8
2.4	ลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	9
2.5	ลักษณะของเชื้อ *Candida albican* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	10
2.6	ลักษณะของมะเขือเทศราชินี	11
2.7	โครงสร้างของไลโคปีน	13
2.8	โครงสร้างของวิตามินซี (Vitamin C) หรือ กรดแอล-แอสคอร์บิก	14
2.9	สูตรโครงสร้างของเรตินอล	15
2.10	แผนภาพโดยรวมของการดำเนินการวิจัย	25
4.1	Scan spectrum curve ของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์	34
4.2	Scan spectrum curve ของสารละลาย β-carotene	35
4.3	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัดมะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ	40
4.4	กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสารสกัดมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำ	40
4.5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัดมะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล	42
4.6	กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสารสกัดมะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล	42
4.7	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ Ampicillin ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* ด้วยวิธี Broth dilution test	49
4.8	ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *Ps. aeruginosa* ด้วยวิธี Broth dilution test	49
4.9	แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. pyogenes* ด้วยวิธี Broth dilution test	50
4.10	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศสีดาด้วยเอทานอลที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. pyogenes* ได้	50

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

มะเขือเทศราชินี หรือที่เรียกกันว่ามะเขือเทศเชอร์รี่ เป็นมะเขือเทศผลเล็กที่มีรสชาติหวานอมเปรี้ยว เนื้อแน่นมีกลิ่นหอม และมีแหล่งสารอาหารที่สำคัญ ได้แก่ แร่ธาตุ วิตามินเอ และซี สารแคโรทีนอยด์ และโพลีฟีนอล มะเขือเทศราชินี มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme* วงศ์ Solanaceae การปลูกจะเก็บเกี่ยวได้ภายใน 90 วัน ผลผลิตเฉลี่ย 2,000 - 4,000 กิโลกรัม/ไร่ นิยมรับประทานสด และสามารถแปรรูปผลผลิต**ทางเกษตร**ให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาให้ยาวนานและเพิ่มมูลค่าให้สิน**ค้า**ในรูปของมะเขือเทศราชินีอบแห้งและแช่อิ่ม (วีณา จิรัจฉริยากูล, 2553) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบสำคัญที่พบได้ในผลมะเขือเทศราชินี พบว่า วิตามินเอ ซี และอี สารแคโรทีนอยด์และโพลีฟีนอล เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในกระบวนการต้านสารอนุมูลอิสระ ลดปริมาณไขมันไม่ดี (LDL-cholesterol) และลดอุบัติการณ์การเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและมะเร็งต่อมลูกหมาก (สุธาทิพ ภมรประวัติ, 2552)

ถึงแม้วิตามินซีนั้นสามารถพบได้ในมะเขือเทศราชินี แต่ปริมาณวิตามินซีที่พบยังมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีมากกว่า เช่น มะขามป้อม ฝรั่ง และส้ม อีกทั้งในกระบวนการอบแห้งและแช่อิ่มที่ใช้อุณหภูมิสูงสามารถทำลายวิตามินซีซึ่งสลายตัวได้ง่ายได้ อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการอบแห้งทั่วไปสามารถมีการเสริมวิตามินซีเข้าไปในการผลิต และมีการแช่ผลไม้ในสารละลายกรด เช่น 1% กรดแอสคอร์บิค ที่ช่วยยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้และทำให้สีของผลไม้แห้งคงตัวมากขึ้น และในการทำผลไม้แช่อิ่มโดยการเคี่ยวในน้ำเชื่อม สามารถเพิ่มรสชาติโดยการเติมน้ำมะนาวซึ่งมีปริมาณวิตามินซีอยู่มากเช่นกัน จึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่งที่จะศึกษาผลของการเสริมฤทธิ์ด้วยวิตามินซีต่อสารสกัดจากผลมะเขือเทศราชินีที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ (Ilahy *et al*, 2011) และความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านสารจุลชีพ โดยเฉพาะเชื้อราในช่องปาก ซึ่งงานวิจัยทางด้านนี้ยังไม่มีการศึกษาเป็นที่ทราบแน่ชัด

การทดลองนี้จึงตั้งอยู่สมมติฐานที่ว่า สารอาหารที่พบได้ในมะเขือเทศราชินีมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ โดยทำการทดสอบตามวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารประเภทพืชผัก/ผลไม้ อย่างน้อย 3 วิธี ได้แก่ วิธี TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) assay, FRAP (ferric reducing-antioxidant power) assay และ DPHH (DPPH free radical scavenging assay) และทดสอบฤทธิ์ต่อการต้านเชื้อจุลชีพต่างๆ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์และรา โดยเฉพาะเชื้อราในช่องปาก (*Candida albican*) โดยกำหนดหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพ หรือ MIC (Minimal inhibitory concentration) แบบวิธี Agar dilution method เปรียบเทียบกับความไว (Susceptibility test) ของเชื้อหนึ่งๆ ต่อยาต้านจุลชีพมาตรฐาน อีกทั้งเปรียบเทียบผลของการออกฤทธิ์เหล่านี้ต่อการต้านสารอนุมูลอิสระและเชื้อจุลชีพด้วยวิตามินซีที่มีบทบาทสำคัญในแง่ความสัมพันธ์กับการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ

ซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้สามารถทำการศึกษาวิจัยต่อยอดถึงผลประโยชน์ของมะเขือเทศ/ มะเขือเทศราชินี ต่อความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิปิดที่เป็นสาเหตุสำคัญของไขมันอุดตันในหลอดเลือดและโรคหัวใจ และเผยแพร่คุณสมบัติในการต้านสารจุลชีพ โดยเฉพาะเชื้อราในช่องปาก ซึ่งสามารถค้นพบได้ในสารสกัดจากมะเขือเทศ อีกทั้งการศึกษาผลของการเพิ่มวิตามินซี ซึ่งจำเป็นต่อร่างกายมากและเป็นสารอาหารที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง และมีความเกี่ยวข้องในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยตรง ซึ่งองค์ความรู้เหล่านี้สามารถนำไปสู่การพัฒนาปรับปรุง และแปรรูปอาหารเพื่อเพิ่มคุณค่าของผลิตภัณฑ์ต่อสุขภาพมากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) เพื่อวิเคราะห์หาสารองค์ประกอบสำคัญที่พบในสารสกัดมะเขือเทศราชินีด้วยตัวทำละลายสองชนิด ได้แก่ น้ำปราศจากเชื้อและเอทานอล
2) เพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากมะเขือเทศต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes, Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa, Candida albican* และ *Candida tropical*
3) เพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากมะเขือเทศในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ (DPPH assay) และการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay)

ขอบเขตการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ กลุ่มผู้วิจัยจะทำการศึกษาสารอาหารที่พบได้ในมะเขือเทศราชินีที่มีคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต่อการต้านเชื้อจุลชีพต่างๆ ทำการสกัดผลมะเขือเทศราชินีสุกด้วยน้ำและตัวทำละลายเมทานอล ในรูปแบบของ Hydrophilic และ Lipophilic extracts เพื่อให้ได้สารที่มีคุณสมบัติที่ละลายน้ำและละลายไขมันในการทดสอบ โดยทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต่อการต้านสารอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธีมาตรฐานที่ใช้ในอาหารประเภทพืชผัก/ผลไม้ อย่างน้อย 2 วิธี ได้แก่ วิธี FRAP (ferric reducing-antioxidant power) assay และ DPHH (DPPH free radical scavenging assay) และทดสอบฤทธิ์ต่อการต้านเชื้อจุลชีพ จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes, Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa, Candida albican* และ *Candida tropicalis* โดยกำหนดหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพ หรือ MIC (Minimal inhibitory concentration) แบบวิธี Agar dilution method และ Broth dilution test เปรียบเทียบกับความไว (Susceptibility test) ของเชื้อหนึ่งๆ ต่อยาต้านจุลชีพมาตรฐาน อีกทั้งยังศึกษาผลของวิตามินซีและวิตามินอีต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระและต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดจากผลมะเขือเทศราชินี เนื่องจากวิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่ละลายในน้ำ เช่นเดียวกับวิตามินอีที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่ละลายในไขมัน เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบคุณสมบัติและฤทธิ์ที่เกิดขึ้นของสารสกัดมะเขือเทศ

สมมติฐานการวิจัย

จากการศึกษาพบว่า มะเขือเทศราชินีจัดเป็นพืชผักผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญกับประเทศไทยทั้งในด้านเศรษฐกิจและสังคม ที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานสด หรือแปรรูปผลไม้แบบอบแห้ง และแช่อิ่ม นอกจากนี้ ยังให้ประโยชน์ทางอ้อมกับสุขภาพร่างกายด้านอื่นๆ ด้วย เช่น ช่วยเสริมสร้างสุขภาพร่างกาย ต้านอนุมูลอิสระ สารต้านเชื้อราในช่องปาก และป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจและมะเร็งต่อมลูกหมาก จากรายงานวิจัยต่างๆสนับสนุนว่า สารชนิดต่างๆ ที่เป็นส่วนประกอบที่อยู่ในมะเขือเทศ/มะเขือเทศราชินีเป็นแหล่งสำคัญในการนำมาใช้ต่อสู้กับความเจ็บป่วย รวมไปถึงโรคติดเชื้อได้เป็นอย่างดี

การทดลองนี้จึงตั้งอยู่สมมติฐานที่ว่า สารอาหารที่พบได้ในมะเขือเทศราชินีมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ โดยทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต่อการต้านสารอนุมูลอิสระโดยวิธี TEAC, FRAP และ DPHH assay และความสามารถในการต้านเชื้อจุลชีพแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา โดยการกำหนดหาค่า MIC ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยชิ้นนี้สามารถนำไปสู่การเพิ่มค่านิยมในการรับประทานมะเขือเทศราชินี และการหาแนวทางการพัฒนาแปรรูปผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพมากยิ่งขึ้น

คำจำกัดความที่ใช้ในงานวิจัย

การทดสอบ FRAP หมายถึง ferric reducing-antioxidant power

การทดสอบ DPHH หมายถึง free radical scavenging assay

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) บริการความรู้แก่ประชาชน

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เบื้องต้นที่ได้จากผลมะเขือเทศราชินีสุกต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และสารต้านจุลชีพ ที่อาจมีส่วนช่วยป้องกันการเกิดมะเร็ง โรคหลอดเลือดและหัวใจ จะเป็นมูลค่าเพิ่มของพืชสมุนไพรและผลไม้ไทยในการนำมาใช้เป็นยารักษาโรค และการใช้วิตามินซีเพิ่มลงในผลิตภัณฑ์จะเป็นการส่งเสริมการขายให้กลุ่มเกษตรกรและวิสาหกิจชุมชน ทำให้ผู้ซื้อมีความมั่นใจในผลิตภัณฑ์มากขึ้นและผู้ผลิตสามารถขยายตลาดออกไปสู่วงกว้างมากขึ้น เพราะเป็นทั้งการต่อยอดของภูมิปัญญาชาวบ้านในพื้นที่ และเป็นการเพิ่มผลผลิตทางด้านเกษตรกรรมในพื้นที่ชุมชน นอกจากนี้ยังสามารถให้ข้อมูลแก่ภาคธุรกิจได้แก่ องค์การเภสัชกรรม หรือ บริษัทยาต่างๆ เพื่อนำไปผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไปสามารถส่งเสริมการใช้พืช ผลไม้ ในการป้องกันและรักษาสุขภาพ

2) บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจ และนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์

จากผลการศึกษาที่ได้นี้สามารถนำมะเขือเทศ/มะเขือเทศราชินี เพื่อช่วยในการป้องกันการแก่ก่อนวัย (anti-aging) ความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านจุลชีพ และสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ และเมร็ง ซึ่งจะเป็นการเสริมสร้างความมั่นใจในผลิตภัณฑ์และ

ประสิทธิภาพของพืชผลไม้ไทยมากขึ้น สามารถนำข้อมูลที่ได้นี้บริการความรู้ ให้ข้อมูลแก่ภาคธุรกิจ ได้แก่ องค์การเภสัชกรรม หรือ บริษัทยาต่างๆ เพื่อนำไปผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไปเป็นการเพิ่มผลผลิตทางด้านธุรกิจและนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์

3) เป็นประโยชน์ต่อประชากรกลุ่มเป้าหมายและประชากร

ประชากรทั่วไปของประเทศไทยส่วนใหญ่ยังไม่ตระหนักถึงความสำคัญของการรับประทานผักผลไม้เท่าที่ควร ตัวอย่างที่เห็นเด่นชัดเช่น มะเขือเทศ/มะเขือเทศราชินี เนื่องจากการศึกษาผลประโยชน์และคุณค่าทางโภชนาการของผักผลไม้ไทยยังอยู่ในวงจำกัด และศึกษาผลไม่ชัดเจนแน่ชัดเมื่อเทียบกับพืชสมุนไพรชนิดอื่น เช่น ใบชะพลู ขมิ้นชัน การศึกษาองค์ความรู้เกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านจุลชีพในกลุ่มผลไม้ยังคงมีน้อย การเผยแพร่ข้อมูลยังไม่เพียงพอ ดังนั้นการวิจัยชิ้นนี้จะเป็นการส่งเสริมและเผยแพร่ความรู้ที่ได้แก่ประชาชนและชุมชนเป้าหมายที่มีอัตราเสี่ยงในการใช้ยาปฏิชีวนะ ผลข้างเคียงของการใช้ยาแผนปัจจุบัน ช่วยเสริมสร้างสุขภาพร่างกายให้แข็งแรง เพิ่มภูมิคุ้มกันโรค จากการใช้สารชนิดต่างๆที่เป็นส่วนประกอบที่อยู่ในพืชผลไม้อันเป็นแหล่งสำคัญในการนำมาใช้ต่อสู้และป้องกันความเจ็บป่วย ซึ่งจะเป็นการลดภาระค่าใช้จ่ายของรัฐในการดูแลรักษาผู้ป่วยและเศรษฐกิจโดยรวม

นอกจากนี้ในโครงการวิจัยนี้ เป็นโครงงานวิจัยย่อยแก่นิสิตระดับปริญญาตรี จำนวน 2 โครงงานสำหรับนิสิตวิทยาศาสตร์การแพทย์และนิสิตชีวเวชศาสตร์ เอกวิจัย คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

4) เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

ถึงแม้ว่า ความรู้เกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์ต่อสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านจุลชีพของกลุ่มผักผลไม้ และพืชสมุนไพร จะมีการศึกษาเพิ่มขึ้นอย่างมากมายในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา แต่รายละเอียดความรู้เชิงลึก วิธีการวิเคราะห์ ตลอดจนปริมาณของวิตามินและสารอนุพันธ์ทุติยภูมิจากสารสกัดทั้งที่ละลายน้ำและไขมันที่ได้ต่อผลการออกฤทธิ์นั้นยังมีไม่มากนัก โดยเฉพาะผลของการยับยั้งสารจุลินทรีย์ต่างๆของผลไม้ ซึ่งยังไม่มีการวิจัยศึกษามากพอ ดังนั้นเป้าหมายหลักของการศึกษานี้ จะมุ่งเน้นที่ความรู้ความเข้าใจในการสกัดสารจากผักผลไม้ การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิปิดอันนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคไขมันในเลือดสูง โรคหัวใจ เบาหวาน โรคมะเร็ง โรคไต รวมทั้งความแก่ชรา ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา คุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณที่เหมาะสมในการรับประทาน หรือการรับประทานควบคู่กับพืชผลไม้ไทยชนิดอื่นเพื่อประโยชน์ในการป้องกันรักษา ซึ่งสามารถวิจัยต่อยอดในสัตว์ทดลอง หรือในกลุ่มคนตัวอย่างต่อผลการใช้ผลไม้ชนิดนี้ที่ชัดเจนมากขึ้นในอนาคต

บทที่ 2

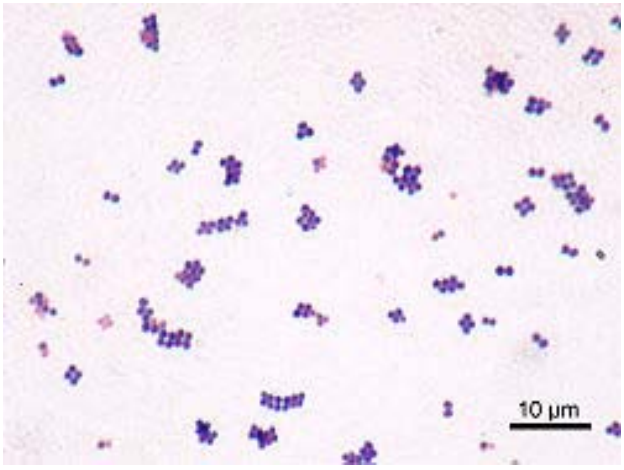
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 รายละเอียดเกี่ยวกับเชื้อที่นำมาศึกษา

2.1.1 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ (ภัทรชัย กีรติสิน, 2549)

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) เป็นจุลินทรีย์ใน Family *Staphylococcaceae* ย้อมติดสีแกรมบวกและมีลักษณะกลม (0.5 – 1.0 ไมครอน) เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น แต่อาจจะพบเป็นเซลล์เรียงเดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ โดยทั่วไปแล้วเชื้อ *S. aureus* ไม่เคลื่อนที่ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิแตกต่างกันตั้งแต่ 18 – 40 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถทนต่อความแห้งและทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้นาน 30 นาที



ภาพที่ 2.1 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ที่มา: http://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus

แหล่งที่พบเชื้อ (ภัทรชัย กีรติสิน, 2549)

เชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อที่พบก่อโรคในคนได้บ่อย โดยทั่วไปพบเชื้ออาศัยอยู่บนผิวหนัง และอาจลุกลามลงสู่ชั้นเนื้อเยื่อ เข้าสู่ร่างกายได้หากมีบาดแผล ผู้ป่วยอาจยังสามารถได้รับเชื้อจากบุคคลรอบข้างหรือบุคลากรทางการแพทย์ที่ติดเชื้อหรือเป็นพาหะของเชื้อ ในผู้ที่เป็นพาหะของเชื้อมักพบเชื้ออาศัยอยู่ในบริเวณโพรงจมูกส่วนหน้า ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจายได้ง่าย และรวดเร็ว

การก่อโรค (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ, 2551)

การติดเชื้อที่บริเวณผิวหนังและบาดแผล

ฝี เกิดจากการติดเชื้อที่บริเวณรูขุมขน ทำให้ผิวหนังมีการอักเสบและบวมแดง

ฝีฟักบัว มีการติดเชื้อที่รูขน ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ ทำให้เกิดการอุดตันบริเวณต่อมเหงื่อไขมัน เกิดเป็นฝีหลายอันมารวมกัน มองดูลักษณะคล้ายฝักบัว ผู้ป่วยจะมีอาการเจ็บปวดอย่างรุนแรงมากกว่าฝีธรรมดา

กุ้งยิง เป็นการติดเชื้อที่บริเวณหนังขอบตา ทำให้หนังขอบตามีการอักเสบบวมแดงและมีหนอง

การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด เป็นสาเหตุหนึ่งที่เกิดการติดเชื้อในโรงพยาบาล พบในผู้ป่วยที่รับการผ่าตัดแล้วมีการติดเชื้อ *S. aureus* ที่อาศัยอยู่บริเวณผิวหนังของผู้ป่วย หรืออาจจากบุคลากรทางการแพทย์ หรือจากสิ่งแวดล้อม ทำให้แผลบริเวณที่ผ่าตัดเกิดการอักเสบ บวมแดงและเป็นหนอง

โรคอาหารเป็นพิษ เกิดจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนสแตฟฟีโลค็อกคัล เอนเทอโรทอกซิน โดยเฉพาะไทป์เอ และอี เข้าไปในร่างกาย ทำให้มีอาการคลื่นไส้อาเจียน อาหารที่พบบ่อยว่าเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ อาหารสดที่ไม่ผ่านความร้อน อาหารที่มีการหยิบจับสัมผัสด้วยมือ เช่น กะทิ ขนมจีน เป็นต้น

โรคติดเชื้อของระบบไหลเวียนเลือด ส่วนใหญ่เกิดจากการลุกลามของเชื้อจากผิวหนังเข้าสู่กระแสเลือด พบการติดเชื้อในโรงพยาบาลได้จากการติดเชื้อทางบาดแผลผ่าตัด หรือการใส่สายเพื่อให้สารน้ำทางเส้นเลือด

Ritter's disease กลุ่มอาการผิวหนังกำพร้าหลุดลอกพบได้ในเด็กแรกเกิดและเด็กเล็ก

กลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ (Toxic Shock Syndrome)

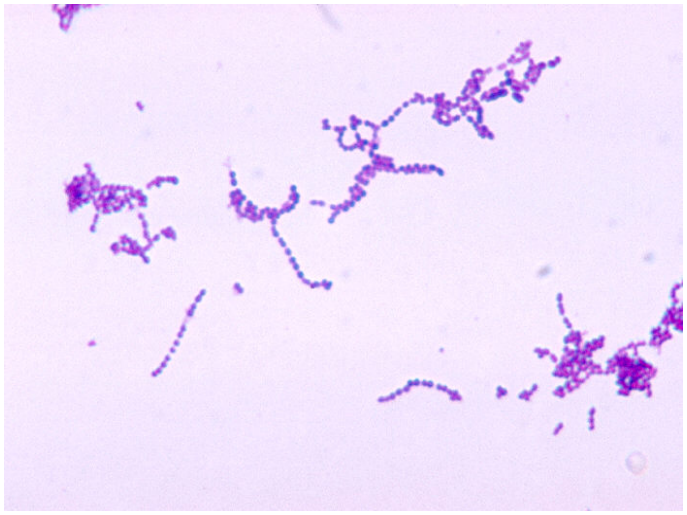
เกิดจากการที่ร่างกายมีการดูดซึมสารพิษ Toxic Shock Syndrome toxin-1 (TSST-1) เข้าไปในร่างกาย มักพบในผู้หญิง ที่ใช้ผ้าอนามัยแบบสอด ที่มีการดูดซับเลือดประจำเดือนสูง

โรคติดเชื้อทางระบบหายใจ ที่สำคัญได้แก่ โรคปอดบวม

2.1.2 เชื้อ *Streptococcus pyrogenes*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ (ภัทรชัย กีรติสิน, 2549)

Streptococcus pyrogenes (*S. pyogenes*) เป็นแบคทีเรียที่อยู่ใน Family *Streptococcaceae* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลมหรือรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ประมาณ 0.5-1 ไมครอน มักพบเรียงตัวเป็นสาย โดยความยาวของสายไม่แน่นอนขึ้นกับสภาพแวดล้อม เชื้อไม่เคลื่อนที่ไม่สร้างสปอร์



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ที่มา: http://microbiologyspring2010.wikispaces.com/Pharyngitis+and+Bronchitis

การก่อโรค (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ, 2551)

โรคคออักเสบ โดย *S. pyogenes* เป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญในการก่อให้เกิดคออักเสบเป็นอันดับหนึ่ง มักพบในเด็กอายุ 5-15 ปี ในคนปกติจะพบเชื้อนี้อาศัยอยู่ในลำคอประมาณร้อยละ 15-20 โดยไม่ก่อให้เกิดโรค โรคคออักเสบจะมีอาการเจ็บคอ ต่อมทอนซิลบวมโต มีสีแดง อาจมีหนอง เป็นไข้ ไอ ต่อมน้ำเหลืองใต้คางโต บางครั้งอาจลุกลามถึงหูได้

กลุ่มอาการติดเชื้อที่บริเวณผิวหนัง

ผิวหนังอักเสบ เป็นการติดเชื้อบริเวณผิวหนัง พบในเด็กอายุ 2-5 ปี การติดเชื้อมักมีตุ่มน้ำเล็กๆที่ผิวหนังแล้วจะแตกออกเป็นตุ่มหนอง

ไฟลามทุ่ง เป็นการติดเชื้อที่เกิดบริเวณชั้นผิวหนัง และเนื้อเยื่อชั้นใต้ผิวหนังมีอาการไข้ ปวดศีรษะ หนาวสั่น อาเจียน ที่บริเวณผิวหนังจะอักเสบ บวม แดง แล้วลุกลามอย่างรวดเร็ว มักพบภายหลังจากการเป็นโรคคออักเสบที่เกิดจากเชื้อ *S. pyogenes*

เซลล์และเนื้อเยื่ออักเสบ เป็นการติดเชื้อลึกลงใต้ชั้นผิวหนังเมื่อมีบาดแผล ผิวหนังบวมแดง และมีการลุกลามสู่ต่อมน้ำเหลืองอย่างรวดเร็ว

Streptococcal toxic shock syndrome ผู้ป่วยจะมีอาการช็อก มีอาการผื่นแดง ระบบหายใจล้มเหลว อุจจาระร่วง

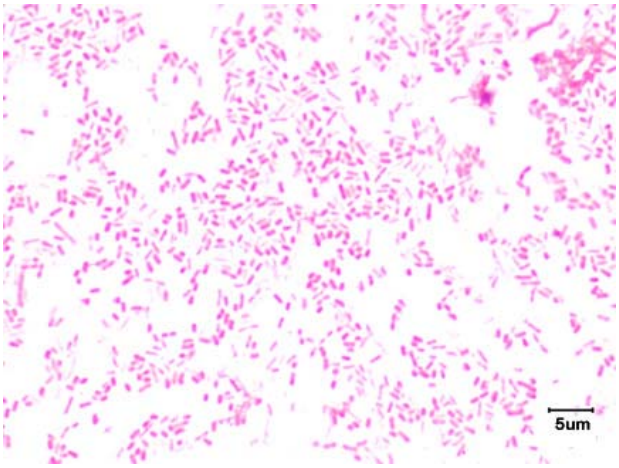
ไข้ดำแดง ผู้ป่วยจะมีอาการผื่นขึ้นเฉียบพลัน เป็นปื้นแดง บางรายอาจพบจุดเลือดออก รอบปากจะมีสีขาว เจ็บคอและคอแดงร่วมด้วย

ภาวะไข้หลังคลอด เกิดจากการติดเชื้อที่กล้ามเนื้อมดลูกในระหว่างคลอด

2.1.3 เชื้อ *Escherichia coli*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ, 2551)

Escherichia coli (*E. coli*) เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง อยู่ใน Family *Enterobacteriaceae* มีขนาดประมาณ 0.3-1.0 x 1-6 ไมโครเมตร ไม่มีสปอร์ ไม่ติดสีทนกรด และเชื้อสามารถเคลื่อนที่ได้ นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ดีในบรรยากาศที่มีและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่า 22-35 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2.3 ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ที่มา: http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab1/gnrod.html

แหล่งที่พบเชื้อ (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ, 2551)

E. coli พบอาศัยเป็นเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหาร โดยเฉพาะลำไส้ใหญ่ ซึ่งสามารถก่อโรคได้ทั้งในคนปกติและคนที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง และเป็นหนึ่งในเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบบ่อยที่สุด

การก่อโรค (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ, 2551)

โรคติดเชื้อ *E. coli* ที่สำคัญได้แก่ โรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคติดเชื้อในทางเดินหายใจ และการติดเชื้อในกระแสเลือด

2.1.4 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ, 2551)

Pseudomonas aeruginosa (*PS. aeruginosa*) จัดอยู่ในวงศ์ *Pseudomonadaceae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งที่ไม่หมักย่อยน้ำตาล มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 × 1.5-5.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยมีแฟลกเจลลา เชื้อสามารถมีชีวิตและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ ในสภาวะแวดล้อมที่มีสารอาหารเพียงเล็กน้อย ในช่วงอุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส และลักษณะที่สำคัญ คือ มีกลิ่นหอมคล้ายองุ่น และสามารถสร้างรงควัตถุเรืองแสงได้

ภาพที่ 2.4 ลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ที่มา: http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab12/Psaeruginosa.html

แหล่งที่พบเชื้อ (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ, 2551)

Ps. aeruginosa เป็นเชื้อก่อโรคแบบฉวยโอกาส เป็นสาเหตุสำคัญอันดับหนึ่งของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล แหล่งของเชื้ออาจมาจากสิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาล น้ำยาและอุปกรณ์ทางการแพทย์ โดยเฉพาะในบริเวณที่มีความชื้น หรือจากเชื้อภายในตัวผู้ป่วยเอง โดยผู้ที่มีสุขภาพดีร้อยละ 5 -10 สามารถตรวจพบเชื้อได้ในระบบทางเดินอาหารและระบบหายใจตอนบน

การก่อโรค (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และคณะ, 2551)

โรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบบ่อย เช่น การติดเชื้อบริเวณแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด ปอดบวม การติดเชื้อในกระแสโลหิต การติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ที่มีการเสียบสายสวน การติดเชื้อบริเวณแผลกดทับ ส่วนโรคที่พบบ่อยในคนปกติทั่วไป ได้แก่ หูชั้นนอกอักเสบ กระจกตาอักเสบในผู้ที่ใส่คอนแทกเลนส์ และการอักเสบบริเวณบาดแผล เป็นต้น

2.1.5 เชื้อ *Candida albican* และ *Candida tropicalis*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ (พรรณทิพย์ ฉายากุล, 2548)

Candida spp. จัดอยู่ใน Family *Saccharomycetaceae* เป็นยีสต์ฉวยโอกาส มีรูปร่างกลมรี ผนังบาง ไม่มีแคปซูล สืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ สามารถสร้างสายราเทียม ซึ่งมีลักษณะเป็นสายราที่มีผนังกว้างประมาณ 4-8 ไมโครเมตร โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสายราเทียม ได้แก่ สภาพแวดล้อมในเนื้อเยื่อที่อาศัยอยู่ ค่าpH และชนิดของสารอาหาร

ภาพที่ 2.5 ลักษณะของเชื้อ *Candida albican* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ที่มา: http://www.doctorfungus.org/thefungi/Candida_albicans.php

แหล่งที่พบเชื้อ (พรรณทิพย์ ฉายากุล, 2548)

C. albican และ *C. tropicalis* สามารถพบอาศัยเป็นเชื้อประจำถิ่นอยู่ตามผิวหนัง ช่องปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ ช่องคลอด ท่อปัสสาวะส่วนต้น นอกจากนี้ในสิ่งแวดล้อมสามารถแยกเชื้อได้จากผิววัสดุต่างๆที่มีความชื้น

การก่อโรค (นเรศ วโรภาสตระกูล, 2551)

Candidiasis บริเวณเยื่อเมือกในช่องปากและลำคอ เป็น candidiasis ที่พบได้บ่อย อาการโดยทั่วไปจะรู้สึกไม่สบายในช่องปากและลำคอร้อนการรับรสแปลกไป

Candidiasis บริเวณช่องคลอด เมื่อมีการติดเชื้อจะปรากฏอาการที่เรียกว่า ตกขาว โดยมีกลิ่น และ เมือกขาวออกมาก

Candidiasis ทำให้เกิดการติดเชื้อ บริเวณผิวหนัง, ขาหนีบ, รักแร้, ใต้ราวนม หรือตามรอยพับย่นของผิวหนัง ซึ่งจะปรากฏรอยผื่นแดงอย่าชัดเจน อาจจะมีลักษณะคล้ายรอยผุกร่อน

Candidiasis บริเวณหลอดอาหาร (esophagus) เป็นภาวการณ์ติดเชื้อที่รุนแรงกว่า และสามารถบ่งบอกถึงการติดเชื้อ AIDS ในผู้ป่วย

Systemic candidiasis เป็นการติดเชื้อ Candida ของอวัยวะภายในของร่างกาย เช่น Meningitis, encephalitis ที่ระบบประสาท หัวใจ ตาตับ ข้อต่อ การติดเชื้อเข้ามาถึงอวัยวะภายใน

2.2 รายละเอียดเกี่ยวกับพืชและสารเคมีที่นำมาศึกษา

2.2.1 มะเขือเทศราชินี

ชื่อวิทยาศาสตร์; *Solanum lycopersicum* L. Var. *cerasiforme*

วงศ์; SOLANACEAE

ชื่อพ้อง; *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme มะเขือเทศเชอร์รี่

ภาพที่ 2.6 แสดงลักษณะของมะเขือเทศราชินี
ที่มา: http://missveggie.igetweb.com/product/390879/มะเขือเทศราชินี.html

ลักษณะทางพฤษศาสตร์ (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

มะเขือเทศเป็นพืชล้มลุก สูงประมาณ 1-2 เมตร ลำต้นล้มง่าย มีขนอ่อนนุ่มปกคลุมใบ เป็นใบรวม ใบย่อยมีลักษณะยาวรี ขอบใบยักเว้าลึก ปลายใบแหลม ดอกออกเป็นช่อตามง่ามใบ ช่อละ 3-7 ดอก ดอกย่อยเป็นดอกเดี่ยวขนาดเล็กสีเหลือง ประกอบด้วยกลีบ 5-6 กลีบ โคนกลีบเชื่อมติดกันเป็นหลอดหรือจะออกเป็นดอกเดี่ยวก็มี ผลมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันได้ตามสายพันธุ์ อาจกลมหรือแบน ผลดิบมีสีเขียวเมื่อสุกมีสีแดงอมส้มหรือแดงสด เปลือกผลบาง ช้ำง่ายภายในมีเมล็ดสีขาวจำนวนมาก และมะเขือเทศเป็นพืชที่ชอบอากาศอบอุ่นและแสงแดดพอควร ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด

สรรพคุณในตำรายาไทย (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

ราก	สรรพคุณแก้ปวดฟัน ชะล้างบาดแผล
ใบ	มีสรรพคุณทาผิวหนังแก้แดดเผา
ผล	เป็นยาบำรุงกระเพาะอาหาร ลำไส้ ไต เป็นยาเจริญอาหาร ยาระบายอ่อนๆ ช่วยขับพิษและสิ่งคั่งค้างในร่างกาย แก้กระหายน้ำ

สารสำคัญที่พบในมะเขือเทศ (อิสริยา เตชะธนะวัฒน์, 2008)

ผลมะเขือเทศมีสารที่สำคัญจำพวก carotenoid ที่ชื่อว่า lycopene ซึ่งเป็นสารสีแดงและ β-carotene และพบสารกลุ่ม glycol-alkaloid ที่ชื่อ tomatine และ salanine ในปริมาณต่ำที่ใบของมะเขือเทศ

*คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของมะเขือเทศ (*อิสริยา เตชะธนะวัฒน์, 2008)

Tomatoside เป็นสารที่พบในกลุ่ม Steroidal glycoside ในมะเขือเทศ แสดงคุณสมบัติของ interferon ซึ่งอาจใช้ป้องกันและรักษาการติดเชื้อไวรัสในมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้มีการศึกษาการใช้สารเล็คตินสกัดจากมะเขือเทศสีดา พิสูจน์เชื้อเบต้าฮีโมลัยติคสเตร็ปโตค็อคคัส กลุ่มบี

มะเขือเทศมีสารต้านอนุมูลอิสระ คือ ไลโคปีน ที่มีคุณสมบัติสามารถลดการเกิดมะเร็งลำไส้และมะเร็งต่อมลูกหมาก โดยทานมะเขือเทศ 10 ครั้ง/สัปดาห์ จะช่วยลดอัตราการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากในเพศชายได้ถึง 45%

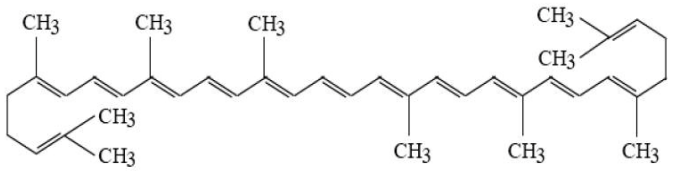
มะเขือเทศมีสรรพคุณทางยาค่อนข้างสูง เพราะมะเขือเทศมี วิตามินพี (citrin) ซึ่งจะช่วยป้องกันการแข็งตัวของหลอดเลือด มะเขือเทศยังมีฤทธิ์ขับปัสสาวะจึงสามารถแก้อาการความดันโลหิตสูง รักษาโรคตาจากอาการตาบอดกลางคืน (Night blindness) ที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือมีวิตามินซีมากทำให้สามารถป้องกันและรักษาโรคลักปิดลักเปิด

องค์ประกอบทางเคมี

แคโรทีนอยด์ เป็นสารสีธรรมชาติที่พบมากที่สุด พบในคลอโรพลาสต์ในรูป chromoproteins หากอยู่นอกคลอโรพลาสต์ จะพบเป็น acyclic carotenoids ซึ่งแคโรทีนอยด์ ที่เป็นสีของมะเขือเทศ คือ ไลโคปีน และพบว่าไลโคปีน มีโครงสร้างโมเลกุลที่ยาวกว่าแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ ทำให้มีประสิทธิภาพและมีฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ ซึ่งจะช่วยลดความผิดปกติ ลดความเสื่อมของเซลล์ที่เกิดจากการทำลายของอนุมูลอิสระ และคนที่รับประทานมะเขือเทศมากๆ จะลดอัตราเสี่ยงการเกิดมะเร็งบางชนิด โดยเฉพาะมะเร็งปอดและมะเร็งในช่องท้อง (วินัย ดะห์ลัน, 2550)

ไลโคปีน เป็นตัวช่วยป้องกันความเสียหายของไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ ที่เกิดจากกระบวนการ Oxidative stress โดยสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (จากปฏิกิริยา reactive ของออกซิเจน) แสดงให้เห็นได้ว่า ไลโคปีนอาจจะมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพกว่าแคโรทีนอยด์ตัวอื่นๆ ที่อยู่ในพลาสมา (Paolo et al., 1989) และมีงานวิจัยกล่าวว่า ไลโคปีนมีศักยภาพและมีความจำเพาะในการต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง ในกระบวนการ cell cycle ที่เซลล์มะเร็งจะมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วและไม่สามารถควบคุมได้ ซึ่งการทำงานของไลโคปีนนั้นจะเข้าไปลดกระบวนการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งบางชนิด (Levy et al., 1995) ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากได้ (William et al., 1999) ลดการเกิดมะเร็งเต้านมในผู้หญิง (Grant et al., 1999) ถ้าได้รับไลโคปีนในปริมาณสูงจะสามารถช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหารได้อีกด้วย (Tsubono et al., 1999)

มะเขือเทศมีสารฟลาโวนอยด์มากในรูปของกลุ่มฟลาโวนอล โดยพบมากที่สุดในผิวมะเขือเทศ สารที่พบคือเควอร์เซติน (Quercetin) และแคมป์ฟีรอล (kaempferol) ส่วนสารไลโคพีนนั้นพบในมะเขือเทศมากกว่าผักผลไม้อื่น มี 288 ไมโครกรัม/กรัม ในมะเขือเทศ, 45 ไมโครกรัม/กรัม ในแตงโม และ 14 ไมโครกรัม/กรัม ในส้มโอสีชมพู นักวิจัยเชื่อว่าสารประกอบทุติยภูมิเหล่านี้มีส่วนช่วยลดอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดหัวใจและมะเร็งต่อมลูกหมาก (สุธาทิพ ภมรประวัติ, 2552)



Lycopene ($C_{40}H_{56}$)

ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของไลโคปีน

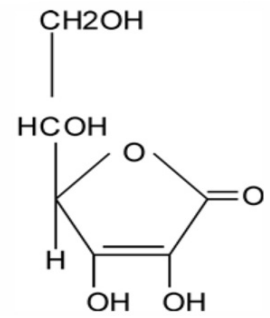
(ที่มา: วีระ วีระกุล และ วุฒิชัย ศรีวิกรานต์โยธิน, 2546)

ผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศเป็นแหล่งธาตุโพแทสเซียม สารโฟเลต วิตามินเอ ซี และอี ที่ดีมีปริมาณโพแทสเซียมและโฟเลตในปริมาณใกล้เคียงกับผักยอดนิยมหลายชนิด แต่มีวิตามินซีและอัลฟ่าโทโคฟีรอล มากกว่าผักอื่นๆ ดังแสดงตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบของวิตามิน และสารประกอบทุติยภูมิในผลมะเขือเทศสด 100 กรัม (ที่มา: https://sites.google.com/site/mymint3003/bthkhwam-4/bthkhwamwichakar-2)

	ผลมะเขือเทศสด
โพแทสเซียม (มก.)	๒๓๗
อัลฟ่าโทโคฟีรอล (มก.)	๐.๕๔
วิตามินเอ (IU)	๘๓๓
วิตามินซี (มก.)	๑๒.๗
โฟเลต (มคก.)	๑๕
บีตาแคโรทีน (มคก.)	๔๔๙
อัลฟ่าแคโรทีน (มคก.)	๑๐๑
ไลโคพีน (มคก.)	๒,๕๗๓
ลูทีนและซีอาแซนทิน (มคก.)	๑๒๓
ไฟโทอีน (มคก.)	๑,๘๖๐
ไฟโทฟลูอีน (มคก.)	๘๒๐

2.2.2 วิตามินซี



ชื่อสารเคมีในระบบ
IUPAC; 2-oxo-L-threo-hexono-1,4-lactone-2,3-endiol
ชื่อพ้อง ; L-ascorbic acid, สูตรเคมี; $C_6H_8O_6$
น้ำหนักโมเลกุล; 176.14 กรัมต่อโมล
จุดหลอมเหลว; 190-192 °C

รูปที่ 2.8 แสดงโครงสร้างของวิตามินซี (Vitamin C) หรือ กรดแอล-แอสคอร์บิก
(ที่มา; http://www.bloggang.com/mainblog.php?id=detective9&month=20-01-2013&group=2&gblog=4)

คุณสมบัติทางกายภาพ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์, 2550)

วิตามินซี (Ascorbic acid) เป็นผงสีขาวสามารถละลายน้ำได้ดี ละลายเล็กน้อยในอะซิโตน และแอลกอฮอล์ มีฤทธิ์เป็นกรดอย่างแรง ดูดความชื้นในอากาศได้สลายตัวได้ง่ายเมื่อโดนความร้อน แสงสว่าง ด่าง และสารออกซิไดส์ ดังนั้นมักเก็บวิตามินซีไว้ในขวดสีชา

คุณสมบัติทางชีวภาพ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์, 2550)

ช่วยในการดูดซึมธาตุเหล็กในทางเดินอาหาร ช่วยในการสลายตัวของโคเลสเตอรอล ช่วยในการสร้างสารสื่อประสาทและฮอร์โมน เป็น cofactor ในกระบวนการสร้าง collagen เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน

แหล่งของวิตามินซี (Carvilla et al., 2007)

อาหารที่จัดได้ว่ามีวิตามินซีสูงได้แก่ อาหารจำพวกผักและผลไม้ เช่น ส้ม ฝรั่ง มะละกอ มะนาว กีวี พริกหยวก ผักกาด มะเขือเทศ หน่อไม้ฝรั่งและบล็อกโคลี่ เป็นต้น วิตามินซีสามารถละลายน้ำได้ พบว่ามีบทบาทสำคัญในการต้าน Boron stress ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิด Reactive Oxygen Species (ROS)

คำแนะนำสำหรับการรับประทานวิตามินซี

Adult women	75 mg/day
Adult men	90 mg/day
Children 9-12 years	45 mg/day

ผลของการขาดวิตามินซี

การขาดวิตามินซีจะก่อให้เกิดโรคต่างๆ โดยมีลักษณะที่แสดงให้เห็น เช่น เลือดออกตามไรฟัน การซ่อมแซมบาดแผลช้า และเลือดจาง (Anemia) นอกจากนี้วิตามินซี ยังเป็น cofactor ที่สำคัญสำหรับปฏิกิริยาต่างๆ ประกอบด้วย การสังเคราะห์ collagen การสังเคราะห์ norepinephrine adrenal hormone รวมทั้งการสังเคราะห์ carnitine เป็นต้น (Phillips et al., 2010)

การขาดวิตามินซี ทำให้เกิดโรคลักปิดลักเปิด ซึ่งเกิดจากความบกพร่องของกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนคอลลาเจนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำให้เนื้อเยื่อเหล่านี้ไม่แข็งแรง จึงมีเลือดออกง่าย เหงือกบวมและฟันหลุดได้ง่าย ปวดข้อและข้อบวม ผิวหนังมีการสมานแผลได้ช้าและยังทำให้ร่างกายติดเชื้อได้ง่าย (นภา หลิมรัตน์, 2550)

*ผลเสียจากการที่ได้รับวิตามินซีมากเกิน (*สมทรง เลขะกุล, 2543)

วิตามินซี หากได้รับมากเกินไปจะเปลี่ยนไปเป็นออกซาเลต ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดนิ่วในไตจากการที่มีออกซาเลตตกผลึกตามส่วนต่างๆของทางเดินปัสสาวะและกระเพาะปัสสาวะได้

การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี (Ronald, 2008)

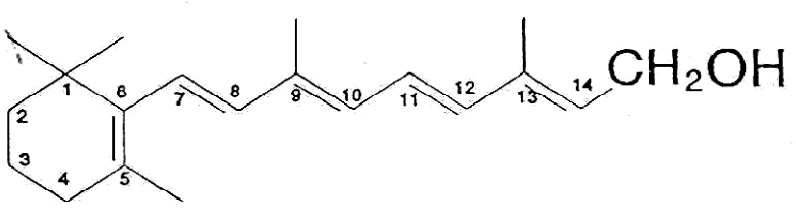
ค่าการดูดกลืนแสงของวิตามินซี จะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดหรือเบสของสาร แต่โดยส่วนมากจะมีค่าดูดกลืนแสงที่มากที่สุดในช่วง 245-265 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังสามารถหาปริมาณวิตามินซี โดยวิธีการไทเทรต แบบ back titration

2.2.3 วิตามินเอ

สูตรเคมีของวิตามินเอ

วิตามินเอเป็น Long chain primary alcohol ที่มีไอโซเมอร์ได้หลายรูป เป็นผลึกสีเหลืองอ่อนละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์และไขมัน วิตามินเอในธรรมชาติส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ trans form ของ retinol (ดังรูปที่ 2.9)

สูตรโครงสร้างของวิตามินเอ ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ (1) Beta-ionone ring ซึ่งเป็น hydrophobic head (2) conjugated isoprenoid side chain ตรงส่วนนี้จะสามารถมี polymerization ได้เมื่อถูกแสง และ (3) polar terminal group ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงได้เป็นสารเอสเพอร์ (Ronald, 2008)



รูปที่ 2.9 แสดงสูตรโครงสร้างของเรตินอล
(ที่มา; สมทรง เลขะกุล, 2543)

วิตามินเอ ทนต่อความร้อนได้ดีพอสมควร ดังนั้นในการประกอบอาหารหรือทำอาหารกระป๋องที่ใช้กรรมวิธี Pasteurization, Sterilization, หรือ Dehydration จึงทำให้สูญเสียวิตามินเอไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่จะเสียง่ายเมื่อถูกแสงอุลตราไวโอเล็ท หรือถูกออกซิไดส์ เนื่องจากวิตามินเอและโปรวิตามินเอ มีคาร์บอนคู่ในอณูหลายแห่ง ดังนั้นในการเก็บจึงควรเก็บในขวดสีน้ำตาล และใส่สารช่วยป้องกันการออกซิเดชั่น เช่น วิตามินอี ลงไปด้วย (สมทรง เลขะกุล, 2543)

วิตามินเอ เป็นวิตามินตัวแรกที่ค้นพบ มีชื่ออื่นๆเช่น Anti-interfective vitamin, fats-solubel A, biostoerol, ophathalmin ซึ่งหมายถึงกลุ่มของสารเหล่านี้

(1) วิตามิน เอ$_1$ (retinol หรือ azerophthol)

(2) วิตามิน เอ$_2$ (3, 4-dehydroretinol)

(3) อนุพันธ์ของวิตามินเอ เช่น กรดเรติโนอิก (retinoic acid, RA) และ retinol

แหล่งกำเนิดและแหล่งที่พบ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์, 2550)

วิตามินเอ พบได้ในอาหารและผลิตภัณฑ์จากพืชและจากสัตว์ทั่วไป ในพืชใบเขียวเข้ม วิตามินเอ จะอยู่ในรูปของ provitamin A ซึ่งมีเบต้าแคโรทีน (β-carotene) และมักรวมกับสารแคโรทีนอยด์อื่นๆ ซึ่งพบว่าแคโรทีนอยด์ พบมากในพืชทั่วไปที่มีสีเขียว และพบมากส่วนใหญ่ในพืชสีเหลือง สีส้ม และสีแดง ส่วนในผลิตภัณฑ์อาหารจากสัตว์ พบวิตามินเอในปริมาณสูงมาก เช่น นมสด เนื้อ ไข่ เนย เข็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเครื่องในสัตว์และน้ำมันตับปลา ในปลาและสัตว์ทั่วไปจะพบวิตามิน เอ$_1$ ส่วนวิตามินเอ$_2$ พบเฉพาะในปลาน้ำจืด

แคโรทีนอยด์ เป็น Isoprenoids pigment ที่ได้จากพืช พบมากในพืชทั่วไปที่มีสีเขียว และส่วนใหญ่ของพืชสีเหลือง สีส้ม สีแดง เช่น β-carotene พบในตำลึง มะละกอสุก ฟักทอง ฟักข้าว ส่วน lycopene พบในมะเขือเทศ แตงโมและฟักข้าว เป็นต้น ทุกส่วนของพืชจะมีแคโรทีนอยด์ส่วนมากจะมีปริมาณสูงในส่วนที่กำลังเจริญ เช่น

- ใบ มีแซนโตฟิลล์สูง และ 5-40% ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมด เป็น β-carotene ดอกโดยทั่วไปจะเป็นแคโรทีน
- ดอกบางชนิดจะมีแคโรทีนอยด์ชนิดพิเศษเฉพาะตัวดอกสีเหลืองจะมีแซนโธฟิลล์สูง ดอกสีส้มแคโรทีนอยด์ส่วนใหญ่จะเป็น Lycopene เกสรตัวผู้ และละอองเกสร (pollen) ในพืชบางชนิดมีแคโรทีนอยด์ เช่น กุหลาบ ผล พบว่าชนิดและปริมาณของแคโรทีนอยด์ในผลต่างๆ จะต่างกัน เช่น มะม่วงสุก มีเบต้า-แคโรทีนสูง มะเขือเทศสุกมี lycopene สูง และปริมาณของแคโรทีนอยด์จะสูงมากขึ้นในผลไม้สุก
- เมล็ด จะมีแคโรทีนอยด์ต่ำ ราก รากของพืชส่วนมากมีแคโรทีนอยด์ปริมาณต่ำ ยกเว้นแครอทและมันเทศ

คุณสมบัติทางกายภาพของวิตามินเอ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์, 2550)

วิตามินเอ ที่บริสุทธิ์มีลักษณะเป็นของเหลวคล้ายน้ำมันและทำให้เป็นผลึกได้รูปผลึกปริซึม มีสีเหลือง ผลึกของ neovitamin A เป็นรูปผลึกสีเหลืองอ่อน

Retinol ละลายได้ดีในน้ำมัน รวมทั้งตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งหลาย ทนต่อความร้อนในที่ไม่มีอากาศ ทนต่อกรดได้ดีกว่าด่าง แต่ละลายได้ง่ายด้วยแสงและขบวนการออกซิเดชัน

เบต้า-แคโรทีน เป็นผลึกปริซึมหกเหลี่ยมสีม่วงเข้ม (ถ้าตกผลึกจากเบนซีนและเมทานอล) หรือ Rhombic square leaflets มีผลึกสีแดง (ถ้าตกผลึกจากปิโตรเลียมอีเทอร์) มีจุดหลอมเหลวที่ 183°C

คุณสมบัติทางเคมี (ศิริวรรณ สุทธจิตต์, 2550)

วิตามินเอ$_1$ (retinol, $C_{20}H_{30}O$) มีการดูดกลืนแสงได้มากที่สุดในช่วงความยาวคลื่นที่ 325 นาโนเมตร ในสารละลายแอลกอฮอล์

วิตามินเอ$_2$ (Dyhydroretinol, $C_{20}H_{28}O$) มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับวิตามินเอ$_1$ เพียงแต่มีพันธะคู่ใน ionone ring เพิ่มที่ C_3, C_4 และดูดกลืนแสงที่ดีที่สุดที่ 2 ช่วง คือ ที่ความยาวคลื่น 620 และ 693 นาโนเมตร

แคโรทีนอยด์ เป็นสารพวก Tetraterpenoids แบ่งออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ carotenes และ xanthophylls ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของแอลกอฮอล์ α-carotene เป็นแคโรทีนที่สายไฮโดรคาร์บอนมี β-ionone ring และ α-ionone ring อย่างละ 1 วง ส่วน β-carotene มี β-ionone ring 2 วง และ γ-carotene มี β-ionone ring 1 วง

คุณสมบัติทางชีวภาพ (ศิริวรรณ สุทธจิตต์, 2550)

การมองเห็นของดวงตา

ในปี ค.ศ. 1967 Dr. George Wald ได้รับรางวัลโนเบลจากการพบว่า วิตามินเอ มีบทบาทต่อกลไกของการมองเห็น โดยเฉพาะการมองเห็นในที่มืด (scotopic vision) ต่อมามีการยืนยันว่าสารที่ทำหน้าที่สำคัญของวิตามินเอในตาคือ retinal ซึ่งเป็นส่วนสำคัญของจอประสาทตา

การเจริญเติบโตของกระดูกและเนื้อเยื่อบุผิว

กรดเรติโนอิกและ Retinol จำเป็นต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในครรภ์ กรดเรติโนอิกควบคุมการทำงานของเซลล์ osteoblast และ osteoclast ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงกระดูกและฟันในร่างกายที่กำลังเจริญเติบโต ส่วนสาร retinol ทำหน้าที่ควบคุมและรักษารูปร่างและความแข็งแรงของเนื้อเยื่อบุผิวให้เป็นปกติเสมอ

ระบบสืบพันธุ์

วิตามินเอ มีบทบาทต่อการผลิตอสุจิ โดยการเปลี่ยนแปลงสภาพ (differentiation) ของเซลล์เริ่มต้นในการสร้างอสุจิ รวมทั้งพัฒนาการและการเจริญของตัวอ่อน (embryo) และรก (placenta)

ผลของการขาดวิตามินเอ (นภา หลิมรัตน์, 2550)

อาการแรกเริ่มของการขาดวิตามินเอ คือ ตาบอดกลางคืน กล่าวคือ มองเห็นได้ไม่ดีในขณะที่มีแสงสลัว และหากยังขาดวิตามินเออีกต่อไประยะเวลานานอาจทำให้เปลือกตาอักเสบ การทำงานของต่อมสร้างน้ำตาเสีย ซึ่งจะทำให้ผิวของลูกตาโดยเฉพาะส่วนของกระจกตา แห้ง อักเสบ และบวม หากปล่อยไว้เป็นเวลานานอาจทำให้ตาบอดได้

ผลเสียจากการที่ได้รับวิตามินเอมากเกิน (กิจจา ฤดีขจร 2551)

การได้รับวิตามินเอที่มากเกินจะทำให้ มีอาการอ่อนเพลียและอาเจียน แต่ถ้าหากได้รับเป็นระยะนานเกิน อาจทำให้เกิดโรคตับขั้นรุนแรง (โรคตับแข็ง) หากได้รับมากเกินไป จะทำให้ผิวหนังแห้ง ตกสะเก็ด เล็บเปราะ ผมร่าง

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของวิตามินเอ (สมทรง เลขะกุล, 2543)

การวิเคราะห์หาปริมาณของวิตามินเอ มีหลายวิธี เช่น วิธีการใช้ Colorimetry, Fluorometry และ High performance liquid chromatography (HPLC) โดยมี UV detector เป็นเครื่องตรวจวัด ในปัจจุบันนี้นิยมใช้วิธี HPLC เพราะจัดเป็นวิธีการที่มีความถูกต้องมากวิธีหนึ่ง

2.3 อนุมูลอิสระ (Free radicals)

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์ โดย เฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา (ดังสมการ 1 และ 2)

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet} \qquad \text{(สมการที่1)}$$

$$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet} \qquad \text{(สมการที่2)}$$

อนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดที่เกิดในเซลล์ที่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ oxygen radical, อนุพันธ์ของ oxygen radical (เช่น superoxide radical และ hydroxyl radical), hydrogen peroxide, transition metals (โลหะทรานซิชัน), carbonate radical ($CO_3^{\bullet-}$), nitrate radical($NO_3^{\bullet}$), methyl radical ($CH_3^{\bullet}$), superoxide radical ($O_2^{\bullet}$), peroxyl radical ($ROO^{\bullet}$), reactive oxygen species (ROS) เป็นต้น(27)นอกจากนี้อนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภท ทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิพิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) คอลลาเจน(collagen) ไมโตคอนเดรีย (mitochondria) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคชรา (aging) โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้(allergies) โรคความดันโลหิต โรคเหงือก โรคเกี่ยวกับสายตา ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับความผิดปกติของผิวหนัง และโรคลำไส้อักเสบเป็นต้น (Ames et al., 1993)

อนุมูลอิสระนอกจากจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้วอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากภายนอกสิ่งมีชีวิตหรือในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ การได้รับเชื้อโรคเช่น การติดเชื้อโรคไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (immune diseases) เช่น ข้ออักเสบรูมาตอยด์ เป็นต้น จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น ควันบุหรี่ แก๊สจากท่อไอเสีย เช่น ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่นจากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูง ๆ กลับมาใช้อีก การทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียม ไหม้ หรือเกิดจากการปิ้งย่าง จากยาบางชนิด เช่น โดโซรูบิซิน (doxorubicin) เพนนิซิลลามิน (penicillamine) พาราเซตามอล (paracetamol) (ไมตรี สุทธจิตต์, 2555)

แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical) (เจนจิรา จิรัมย์ และคณะ, 2554)

ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพ จะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจน เกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ มีสาเหตุมาจากปัจจัย ทั้งภายในและภายนอกร่างกายดังนี้

ปัจจัยภายในร่างกาย) (ไมตรี สุทธจิตต์, 2555)

ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีปฏิกิริยามากมายที่เกี่ยวข้องทั้งการสร้างและการสลายโมเลกุลของสารที่เรียกว่ากระบวนการเมทาบอลิซึมซึ่งถือป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ตัวอย่างปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้แก่

ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่เกิดขึ้นเอง (Auto-oxidation) เช่น การเกิดออกซิเดชั่นของไขมัน ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ

1) ระยะเหนี่ยวนำเริ่มต้น (initiation) เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระ โดยมีแสงหรืออุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

2) ระยะเพิ่มจำนวน (propagaton) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี่ (peroxy radical) แล้วทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydro peroxide) และอนุมูลอิสระ ซึ่งถ้ามีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งก็จะเกิดปฏิกิริยาต่อ ทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น แล้วอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นก็สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ได้ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ

3) ระยะสิ้นสุด (Termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นรวมตัวกันกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร

ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง การทำงานของเอ็นไซม์สำคัญ 2 ชนิดที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ได้แก่

1) เอ็นไซม์ แซนธีนออกซิเดส (xantine oxidase : XO) ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการสลายเบสพิวรีน (purine) โดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโปแซนธีน (hypoxantine)เป็นแซนธีน (xantine) และแซนธีน เป็น กรดยูริก (uric acid) พร้อมๆกับเคลื่อนย้ายอิเล็คตรอนให้ออกซิเจน เกิดเป็นอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-)

2) เอ็นไซม์ไลโพออกซีจีเนส (lipoxygenase :LOX) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) ภายในโมเลกุลของเอนไซม์นี้มีเหล็ก (Fe^{2+}) เป็นส่วนประกอบอยู่ทำหน้าที่ดึงอะตอมไฮโดรเจนจากกรดไขมันและเติมออกซิเจนให้กับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเพอรอกไซด์ ซึ่งจะสลายตัวเป็นอนุมูลของกรดไขมันต่อไป

โลหะทรานซิชั่น (transition metal) โลหะทรานซิชั่น 2 ชนิดคือ เหล็ก (Fe^{2+}) และทองแดง (Cu^{2+}) ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกายสามารถเร่งการสร้างอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจากซูปเปอร์ออกไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide, H_2O_2) ในปฏิกิริยา Fenton (Fenton's reaction)

ปัจจัยภายนอกร่างกาย (ไมตรี สุทธจิตต์, 2555)

ยารักษาโรค ยาบางชนิดที่รับประทานเข้าไป ในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin), แอนทราไซคลินส์ (antracyclines) และ เมโธทรี เสต (methotrexate) เนื่องจากมีฤทธิ์เสริมปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (pro-oxidation)

รังสี การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (X-ray), รังสีแกมมา (γ-ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิด อนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงาน ให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้วก่อให้เกิด ปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับ ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้อนุมูลอิสระ

ควันบุหรี่ ในควันบุหรี่มีส่วนประกอบของ ไน ตริกออกไซด์ (NO), ไนโตรเจนออกไซด์ (NO_2) และ เพ อรอกซีไนไตรท์ ($ONOO^-$) รวมทั้งสารมลพิษได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และ คาร์บอนเตรตตะคลอ ไรด์ (CCl_4) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอ็นไซม์ ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซีเจส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากใน เซลล์ตับและพบได้บ้างในเซลล์ ปอดและลำไส้เล็ก ทำให้เป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ภายในเซลล์ดังกล่าว

โอโซน โอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็น สารออกซิไดส์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ของอนุมูลอิสระได้ สารเหล่านี้มี กลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับโลหะ เพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารประกอบที่ทนต่อ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในเซลล์โดยทั่วไป สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลาย ชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลลิค (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (catotinoid) บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นใน ร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆของมนุษย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันที่เป็น สาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหารปัจจุบัน องค์กรที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยาได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ เช่น สาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูง (เจนจิรา จิรัมย์ และคณะ, 2554)

อย่างไรก็ตาม ในภาวะปกติร่างกายของคนเรา จะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุลและส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือ เบต้าแคโรทีน (β-carotinoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอลซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทาลายอนุมูล อิสระได้ดียิ่งขึ้น ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น เอนไซม์คะตะเลส (catalase), กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase)

และซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือ สารประกอบโปรตีนบางอย่าง เช่น อัลบูมิน(albumin), บิลิรูบิน (bilirubin), เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin), กลูตาไธโอน (glutathione), ทรานสเฟอริน (transferrin) , ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่าง ๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นใน ปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมดจะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้น ภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของรางก่าย ซึ่งถ้าสะสม มาก ๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง (ไมตรี สุทธจิตต์, 2555)

แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ (เจนจิรา จิรัมย์ และคณะ, 2554)

ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่าง ยิ่งที่ได้มาจากพืชผัก เครื่องเทศ องุ่น และสมุนไพร ได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากกระแสเรื่องความปลอดภัยของสารสกัดจาก ธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิดได้แก่

1) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) สารประกอบฟีนอลิคสังเคราะห์ ชนิดได้แก่ propyl gallate, 2- butylated hydroxyanisole, 3- butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน อันเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และ รสชาติที่เปลี่ยนไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติแต่มีข้อจากัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค

2) สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจาความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ พบได้ทั้งในจุลชีพสัตว์และพืช ซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิค โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซน โธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่ง ประกอบด้วยหมู่ ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชั่น (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสาคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ โดยการให้อนุมูล $H^{\bullet}$ แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล $OH^{\bullet}$ ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชั่น คือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} เป็นตัวเหนี่ยวนาได้โดยการเข้าจับกับโลหะ ดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complexสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาตินานาชนิดสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการ (in vitro) และในสิ่งมีชีวิต

กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ (เจนจิรา จิรัมย์ และคณะ, 2554)

จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีหลายกลไกดังนี้

ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) เป็นที่ทราบดีว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้นซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ

ยับยั้งการทำงานของซิงเกล็ทออกซิเจน (Singlet oxygen quenching, $^1O_2^*$) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกล็ทออกซิเจนโดยการเปลี่ยน ($^1O_2^*$) ให้อยู่ในรูปทริปเปร็ท (triplet oxygen ($^3O_2$)) และ ปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อนโดยที่แคโรทีนอยด์ (Car) จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกล็ทออกซิเจนได้ถึง 1,000 โมเลกุล

จับกับโลหะที่สามารถเร่งสารกลุ่มนี้ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชั่น(metal chelation) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)ฟอสฟอริกแอซิด (phosphoric acid) และ ซิตริกแอซิด (citric acid) เป็นต้น สำหรับกลไกการจับโลหะของสารประกอบฟลาโวนอยด์

หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) วิตามินอี (α-tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็คตรอน (electron-acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxyl ($ROO^{\bullet}$)

เสริมฤทธิ์ (Synergism) สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอนุมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่าง วิตามินอี (α-tocopherol) กับ วิตามินซี (ascorbic acid) โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในในสภาวะไม่มีขั้ว (hydrophobic condition) ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่ อนุมูลแอลฟ่า-โทโคฟีรอลเปอร์ออกซิล (α-tocopherol peroxyl) ที่เกิดจากการทาปฏิกิริยาระหว่างแอลฟ่า-โทโคฟีรอลกับอนุมูลเปอร์ออกซิล ($ROO^{\bullet}$) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็นแอลฟ่า-โทโคฟีรอลที่สามารถทำงานได้

ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (Enzyme inhibition) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และแกลเลต (gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลิโพออกซีจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอ็นไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้

สารต้านอนุมูลอิสระกับการป้องกันโรค

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอนุมูลอิสระส่งผลเสียต่อร่างกายและเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิดในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รูมาตอยด์ การศึกษาข้อมูลทางเภสัชวิทยาของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีส่วนส่งเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรคในมนุษย์

2.5 **บทความและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

Taveira et al., 2010 ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจากเมล็ดมะเขือเทศ 2 ชนิดคือ มะเขือเทศสายพันธุ์ bull heart และมะเขือเทศสายพันธุ์ cherry ด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ methanol, chloroform, ethyl acetate, hexane และ sulfuric acid ต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ ประกอบด้วย Gram positive bacteria (*staphylococcus aureus*, *staphylococcus epidermidis, micrococcus luteus, enterococcus faecalis* และ *bacillus cereus*), Gram negative bacteria (*Proteus mirabilis, Escherichia coli, pseudomonas aeruginosa และ Salmonella typhimurium*) Fungi (*Candida albican, Aspergillus fumigatus* และ *Trichophyton rubrum*) ด้วยการหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้ หรือ Minimal Inhibitory Concentration (MIC) จากผลการศึกษา พบว่า สารสกัดจากเมล็ดมะเขือเทศทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและเชื้อรา โดยค่า MIC ของสารสกัดต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก มีค่าประมาณ 5-20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า MIC ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและเชื้อรามีค่ามากกว่า 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการวิเคราะห์หาสารองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดจากเมล็ดมะเขือเทศทั้ง 2 ชนิด ด้วย High-performance liquid chromatography (HPLC) พบสารองค์ประกอบสำคัญ 3 กลุ่ม คือ

(1) Phenolic compound มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 350 นาโนเมตร (quercetin-3-O-sophoroside, kaempferol-3-O-(2-sophorosyl) glucoside, quercetin-3-O-(2-pentosyl) rutinoside, kaempferol-3-O-sophoroside, isorhamnetin-3-O-sophoroside, isorhamnetin-3-O-gentiobioside, quercetin-3-O-rutinoside, kaempferol-3-O-(2-pentosyl) glucoside.

(2) Organic acids มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 214 นาโนเมตร (*oxalic acid*, *aconitic acid*, *citric acid*, *pyruvic acid*, *malic acid*, *acetic acid*, *fumaric acid*)

(3) Fatty acid (pentadecanoic acid, cis-9-hexadecenoic acid, hexadecanoic acid, heptadecanoic acid, cis-9,12-octadecadienoic acid, cis-9octadecenoic acid, octadecanoic acid)

สาร Phenolic compound สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้ เนื่องจากสารเข้าไปรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ มีการ interact กับโปรตีน ทำให้มีการเสียรูปร่างและหน้าที่เกิดขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า ถ้าหากเพิ่มความเข้มข้นของสาร phenolic compound จะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้มากขึ้นด้วย amino acid สามารถทำลายเชื้อได้ขึ้นกับสภาวะความเป็นกรดหรือเบส ซึ่งจากการทดลอง amino acid ที่มี pH ที่ 2.2, 3.0 และ 4.0 สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพได้ แต่ถ้าค่า pH มากกว่า 4.0 จะไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ส่วน fatty acid นั้น ยังไม่มีการยืนยันกลไกที่แน่ชัด

Phillip et al., 2010 ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเสถียรภาพของวิตามินซีในผัก ผลไม้สดปั่นแช่แข็งเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 1 ปี โดยทำการเลือกผักผลไม้ มา 3 ชนิด ประกอบด้วย collard greens (*Brassica oleracea* var. viridis), clementines (*Citrus clementina* hort. ex Tanaka), and potatoes (*Solanum tuberosum*) มาหั่นให้เป็นชิ้นประมาณ ชิ้นละ 2×2 มิลลิเมตร จากนั้นแช่ใน liquid nitrogen ปั่นให้ละเอียด centrifuge เก็บส่วนของ supernatant ไว้ในขวดสีชา ที่ -60 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีด้วยเครื่อง HPLC โดยทำการวิเคราะห์ 7 ช่วงเวลา คือ 0.5, 1, 2, 3, 4, 6,และ 12 เดือน ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ พบว่าความเข้มข้นของตามินซีใน clementines ไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 ปี ส่วนความเข้มข้นของวิตามินซีใน collard greens และ potatoes มีปริมาณที่ลดลง ตามลำดับเวลา กล่าวคือเมื่อเก็บไว้ระยะเวลานานขึ้น จะทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลง ซึ่งสังเกตได้จากกราฟของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟของวิตามินซีมาตรฐาน

จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ, 2555 ได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิดด้วยน้ำ เมทานอล และ เอทานอล ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Streptococcus epidermidis, Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumonia* โดยทำการทดลองด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดสมุนไพรด้วยเมทานอล (สารสกัดฟักแม้วและสารสกัดชะพลูด้วยเมทานอล) มีประสิทธิผลในการยับยั้งเชื้อมากที่สุด จำนวน 20 ตัวอย่างจากทั้งหมด 28 ตัวอย่าง ในขณะเดียวกันสารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำ (สารสกัดสะระแหน่ด้วยน้ำ) มีประสิทธิผลในการยับยั้งเชื้อน้อยที่สุดเพียงจำนวน 9 ตัวอย่าง จากนั้นทำการทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Microdilution assay พบว่า สารสกัดสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอล มีประสิทธิผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ถึง 3 สายพันธุ์ ดีกว่าสารสกัดสมุนไพรด้วยน้ำที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เพียงสายพันธุ์เดียวคือ *K. pneumonia*

จากข้อมูลพื้นฐานทางโภชนาการและประโยชน์ที่พบในมะเขือเทศ รวมทั้งผลงานวิจัยที่ศึกษาก่อนหน้านี้ ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของคุณสมบัติองค์ประกอบต่างๆที่ดีต่อสุขภาพผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระและต้านเชื้อจุลชีพ ซึ่งยังคงไม่มีข้อมูลการศึกษาที่ออกมาแน่ชัด ทำให้มะเขือเทศสีดาและราชินีซึ่งเป็นผลไม้ที่นิยมรับประทานสด ถูกเลือกมาทำการสกัดธรรมชาติ (Natural extracts) ในรูปแบบละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ เพื่อศึกษาประสิทธิผลต่อความสามารถในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียที่ก่อโรคในคน

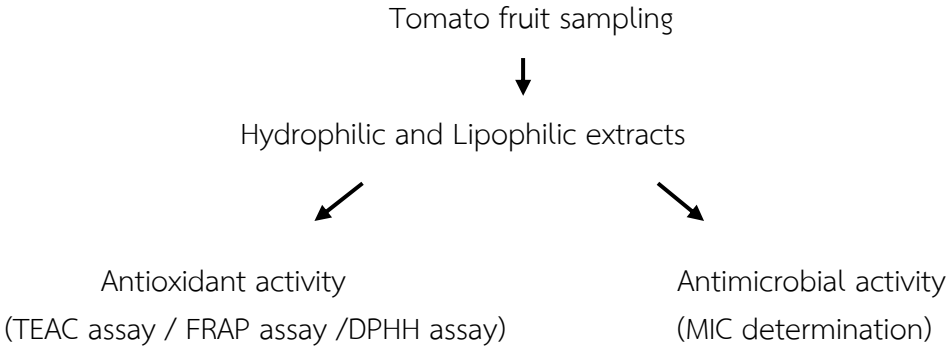
วีระ วีระกุล และวุฒิชัย ศรีวิกรานต์โยธิน, 2556 ได้ทำการศึกษาและรายงานว่า มะเขือเทศมีถิ่นกำเนิดในประเทศเปรูและเอกวาดอร์ มะเขือเทศจัดเป็นพืชผักที่มีความสำคัญในแง่อุตสาหกรรมและบริโภค เนื่องจากมีสารสำคัญที่มีคุณประโยชน์ต่อสุขภาพ เพราะในมะเขือเทศประกอบไปด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินซี และแร่ธาตุหลายชนิด ภายในมะเขือเทศยังประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีชื่อว่า ไลโคพีน ซึ่งช่วยลดอัตราการเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งหลายชนิด และยังช่วยให้สุขภาพผิวดีขึ้นอีกด้วย การทดลองเริ่มต้นจากการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอ วิตามินซีในมะเขือเทศ โดยในการหาปริมาณวิตามินเอ ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย และวิตามินซีใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย จากการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอ วิตามินซี โดยใช้เครื่องยูวีวิสสิเบิล สเปคโตรโฟโต

มิเตอร์พบว่าวิตามินเอ และวิตามินซีในมะเขือเทศ1 กิโลกรัมเท่ากับ 0.148 กรัมและ 19.22 กรัม ตามลำดับ ส่วนการศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารไลโคพีน โดยใช้ คลอโรฟอร์ม เบนซีน และอะซีโตนเป็นตัวทำละลาย จากการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC วิเคราะห์พบว่าตัวทำละลายที่สกัดไลโคพีนได้ดีที่สุดคือ อะซีโตน รองลงมาคือ คลอโรฟอร์ม และเบนซีน ตามลำดับ

จากข้อมูลพื้นฐานทางโภชนาการและประโยชน์ที่พบในมะเขือเทศ รวมทั้งผลงานวิจัยที่ศึกษาก่อนหน้านี้ ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของคุณสมบัติองค์ประกอบต่างๆที่ดีต่อสุขภาพผู้บริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ ซึ่งยังคงไม่มีข้อมูลการศึกษาที่ออกมาแน่ชัดทำให้มะเขือเทศสีดา มะเขือเทศราชินี และมะเขือเทศลูกใหญ่ซึ่งเป็นผลไม้ที่นิยมรับประทานสด ถูกเลือกมาทำการสกัดธรรมชาติ (Natural extracts) ในรูปแบบละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

กรอบแนวคิดในการวิจัย

จากการศึกษาพบว่า มะเขือเทศราชินีจัดเป็นพืชผักผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญกับประเทศไทยทั้งในด้านเศรษฐกิจและสังคม ที่ผู้บริโภคนิยมรับประทานสด หรือแปรรูปผลไม้แบบอบแห้ง และแช่อิ่ม นอกจากนี้ ยังให้ประโยชน์ทางอ้อมกับสุขภาพร่างกายด้านอื่นๆ ด้วย เช่น ช่วยเสริมสร้างสุขภาพร่างกาย ต้านอนุมูลอิสระ สารต้านเชื้อราในช่องปาก และป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจและมะเร็งต่อมลูกหมาก จากรายงานวิจัยต่างๆสนับสนุนว่า สารชนิดต่างๆ ที่เป็นส่วนประกอบที่อยู่ในมะเขือเทศ/มะเขือเทศราชินีเป็นแหล่งสำคัญในการนำมาใช้ต่อสู้กับความเจ็บป่วย รวมไปถึงโรคติดเชื้อได้เป็นอย่างดี การทดลองนี้จึงตั้งอยู่สมมติฐานที่ว่า สารอาหารที่พบได้ในมะเขือเทศราชินีมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ โดยทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต่อการต้านสารอนุมูลอิสระโดยวิธี TEAC, FRAP และ DPHH assay และความสามารถในการต้านเชื้อจุลชีพ แบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา โดยการกำหนดหาค่า MIC ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยชิ้นนี้สามารถนำไปสู่การเพิ่มค่านิยมในการรับประทานมะเขือเทศราชินี และการหาแนวทางการพัฒนาแปรรูปผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการต่อสุขภาพมากยิ่งขึ้น



ภาพที่ 2.10 แสดงแผนภาพโดยรวมของการดำเนินการวิจัย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและการสุ่มกลุ่มตัวอย่าง

มะเขือเทศราชินี

ผลมะเขือเทศราชินีสดที่ใช้ในการทดลอง ซื้อจาก Top supermarket และจากรถขายผลไม้ของนางบังอร จ.ชลบุรี ในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึง มกราคม พ.ศ. 2556 ที่ผ่านการตรวจสอบสารกลุ่ม Organophosphate รับรองผลิตภัณฑ์ปราศจากยาฆ่าแมลงสารตกค้าง

ผลมะเขือเทศราชินีสดที่ใช้ในการทดลอง ซื้อจากร้าน รักผัก อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี ในช่วงเดือนตุลาคม ถึง พฤศจิกายน พ.ศ. 2557 ที่ผ่านการตรวจสอบสารกลุ่ม Organophosphate รับรองผลิตภัณฑ์ปราศจากยาฆ่าแมลงสารตกค้าง

เครื่องมือในการวิจัยและการตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

1) ชุดสกัดสาร
   - โกร่งบด (Motar w/spout และ pestle 'porcelain'dia.130mm)
   - บีกเกอร์
   - ฟอร์ย
   - เครื่อง magnetic sterling
2) ชุดกรองสาร
   - ผ้าขาวบาง
   - กรวยกรอง
   - กระดาษกรอง (Whatmam®เบอร์ 1 UK)
   - ชุดทดสอบยาฆ่าแมลง: ชุดน้ำยาตรวจสอบสารพิษตกค้าง GT KIT, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
3) หลอดทดลอง, Pyrex
4) เครื่องชั่ง, Satorius
5) Incubator
6) Shaker Incubator
7) UV / Vis Spectrophotometer (Genesys 10s UV-Vis)

สารเคมี

1) เอทานอล (Analytical grade, Carlo)
2) น้ำปราศจากเชื้อ
3) วิตามินซีบริสุทธิ์ (Sigma-Aldrich)
4) β-carotene (Sigma-Aldrich)
5) สารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) (Analytical grade, Carlo)

6) 0.85% Normal Saline Solution
7) สารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) (Analytical grade,Carlo)
8) DPPH
9) FRAP reagent
   - acetate buffer (Sodium acetate + acitic acid)
   - TPTZ (TPTZ + HCL) (Sigma-Aldrich)
   - $FeCl_3$ (Analytical grade, Carlo)
   - $FeSO_4$ (Analytical grade, Carlo)
   - Trolox (Sigma-Aldrich)
10) ยาปฏิชีวนะ
   - Ampicillin 10 µl
   - Gentamycin 10 µl
   - Penicillin G 10 Units
   - Chloramphenicol 30 µg
   - Kanamycin 30 µg
   - Tetracyclin 30 µg
11) เชื้อจุลชีพจำนวน 6 ชนิด
   - *Staphylococcus aureus*
   - *Streptococcus pyogenes*
   - *Escherichia coli*
   - *Pseudomonas aeruginosa*
   - *Candida albican*
   - *Candida tropicalis*
12) อาหารเลี้ยงเชื้อ
   - Mueller- Hinton broth
   - Mueller-Hinton agar
   - Nutrient agar
   - Blood agar
   - Sabouraud Dextrose Agar

การเก็บรวบรวมข้อมูล

การทดสอบตัวอย่างๆ ละ 3 ครั้งในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (± SD) และวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของข้อมูล โดยใช้ One-way Anova (Single factor)

การวิเคราะห์ข้อมูล

1) การสกัดสารจากมะเขือเทศ

ผลมะเขือเทศสุกที่จะทำการทดลองต้องผ่านการทดสอบความปลอดภัยจากยาฆ่าแมลง โดยใช้ชุดทดสอบหายาฆ่าแมลงในผักและผลไม้ TM kit ในการตรวจสอบและยืนยันผล (วิธีการทดลองดังในภาคผนวก การตรวจหายาฆ่าแมลงในมะเขือเทศ) ล้างด้วยน้ำด่างทับทิม เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยน้ำเปล่า เป็นเวลา 2 นาที ก่อนทำการสกัดด้วยวิธีต่างๆ

การสกัดสารจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อ

นำผลมะเขือเทศสุก สด มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆให้มีขนาดประมาณชิ้นละ 5 X 5 มิลลิเมตร ชั่งน้ำหนัก 20 กรัม ใส่ลงไปในบีกเกอร์ เติมน้ำปราศจากเชื้อ 0.4 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นของสารสกัด 50 กรัมน้ำหนักสดต่อมิลลิลิตร) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นบดมะเขือเทศด้วยโกร่งให้ละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอากากออก และกรองสารสกัดที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman ®เบอร์4 เก็บตัวอย่างที่จะทดสอบไว้ที่ –20 องศาเซลเซียส

การสกัดสารจากมะเขือเทศด้วยเอทานอล

นำผลมะเขือเทศสุก สด มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆให้มีขนาดประมาณชิ้นละ 5X5 มิลลิเมตร ชั่งน้ำหนัก 20 กรัม ใส่ลงไปในบีกเกอร์ เติมเอทานอล 12 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นของสารสกัด1.67กรัมน้ำหนักสดต่อมิลลิลิตร) คนสารให้เข้ากันด้วยเครื่อง magnetic sterling เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอากากออก และกรองสารสกัดที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman ® เบอร์4 เก็บตัวอย่างที่จะทดสอบไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

2) การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอล โดยใช้เครื่อง UV/Vis Spectrophotometer

2.1) การวัดสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์

นำสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์มาวัดความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดเท่ากับ 245 นาโนเมตร (ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร) ปิเปตสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองและปิเปตสารละลาย 3 M H_2S0_4 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองเดียวกัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร

2.2) การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอล

ปิเปตสารสกัดมะเขือเทศ 500 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง และปิเปตสารละลาย 3 M H_2S0_4 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองเดียวกัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องUV/Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ มาเทียบกับค่าสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีที่พบในสารสกัดมะเขือเทศ

3) การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอในสารสกัดจากมะเขือเทศด้วนเอทานอล โดยใช้เครื่อง UV/ Vis Spectrophotometer

3.1) การสร้างกราฟสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์

นำสารละลาย β-carotene มา Scan spectrum curve จะได้ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดเท่ากับ 450 นาโนเมตร จากนั้นเจือจางสารละลาย β-carotene ด้วยเอทานอล ให้ได้ความเข้มข้น 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV/ Vis Spectrophotometer ค่าดูดกลืนแสงที่อ่านได้นำไปสร้างกราฟมาตรฐานสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ที่ค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ 450 นาโนเมตร เมื่อกำหนดให้ ความเข้มข้นของสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ (คือ แกน X) ค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ 450 นาโนเมตร (คือ แกน Y)

3.2) การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอในสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอล

เจือจางสารสกัดมะเขือเทศด้วยเอทานอล โดยใช้น้ำปราศจากเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 1.67 และ 0.83 กรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV/ Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาเทียบกับกราฟสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอที่พบในสารสกัดมะเขือเทศ

4) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1) FRAP (ferric reducing-antioxidant power) assay

ทดสอบการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโลหะไอออน ได้แก่ Fe^{2+} โดยการเติมน้ำปราศจากเชื้อปริมาตร 90 ไมโครลิตรในหลอดทดลองจากนั้น เติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 900 ไมโครลิตร และนำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้น เติมสารสกัดมะเขือเทศปริมาตร 30 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง โดยนำค่าที่ได้ไปคำนวณ FRAP Value เปรียบเทียบสารมาตรฐาน $FeSO_4$ วิธีการเตรียมสารมาตรฐาน $FeSO_4$ (ดังตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 แสดงการเตรียมสารมาตรฐาน Fe^{2+}

Fe (II) standard (µg/ml)	$FeSO_4*7H_2O$ (µl)	H_2O / DW (µl)
5	50	950
10	100	900
20	200	800
40	400	600
60	600	400
70	700	300

3.2) DPPH free radical scavenging assay

ทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยชั่งสาร DPPH ปริมาณ 2.4 มิลลิกรัม นำไปละลายในสารละลายเอทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลาย DPPH ปริมาตร 500 ไมโครลิตรจากนั้นเติมสารสกัดมะเขือเทศปริมาตร 500 ไมโครลิตร ในหลอดทดลองเดียวกัน และนำสารละลาย DPPH ไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง หลังจากนั้นทำการคำนวณหา ร้อยละของฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดังนี้คือ

$$\% \text{ DPPH inhibition} = \frac{(A_C - A_S) \times 100}{A_C}$$

เมื่อ A_C คือ absorbance of control (DPPH)

A_S คือ absorbance of sample (DPPH + Sample)

4) การทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อจุลชีพ ด้วยวิธี Disc diffusion test

4.1) การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลชีพ

เพาะเลี้ยงเชื้อจุลชีพแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth (MHB) ที่ความเร็วรอบการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4.2) การทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

ดูดเชื้อจุลชีพที่เพาะเลี้ยงในข้อ 4.1 ลงใน 0.85% Normal Saline Solution ปรับเทียบความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 Standard McFarland (เชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml) แล้วนำมาเกลี่ยให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ด้วย sterile cotton swab จากนั้นวางดิสค์ยาปฏิชีวนะ Ampicillin (AMP)10 ไมโคกรัม, Gentamycin (CN)10 ไมโครกรัม, Penicillin G (P) 10 ยูนิต, Chloramphenicol (C) 30 ไมโครกรัม, Kanamycin (K) 30 ไมโครกรัม และ Tetracycline (TE) 30 ไมโครกรัม ลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (inhibition zone) หน่วยเป็นมิลลิเมตร

4.3) การทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

ทำการทดลองเหมือนข้อ 4.2 จากนั้นเติมสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดูดสารปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงบนดิสค์ วางดิสค์บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผล โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (inhibition zone) หน่วยเป็นมิลลิเมตร

4.4) การทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

ทำการทดลองเหมือนข้อ 4.2 จากนั้นเติมสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.16, 0.12 และ 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดูดสารปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงบนดิสค์ วางดิสค์บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผล โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (inhibition zone) หน่วยเป็นมิลลิเมตร

4.5) การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

ทำการทดลองเหมือนข้อ 4.2 จากนั้นเติมสารสกัดมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อที่ความเข้มข้น 50, 40, 30, 20 และ 10 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดูดสารปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงบนดิสค์ วางดิสค์บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผล โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (inhibition zone) มิลลิเมตร

4.6) การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

ทำการทดลองเหมือนข้อ 4.2 จากนั้นเติมสารสกัดมะเขือเทศด้วยเอทานอลความเข้มข้น 1.67, 0.9, 0.75, 0.5, 0.4, และ 0.3 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ลงบนดิสค์ วางดิสค์บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผล โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (inhibition zone) มิลลิเมตร

5) การทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อจุลชีพ ด้วยวิธี Broth dilution test

5.1) การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลชีพ

เพาะเลี้ยงเชื้อจุลชีพแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth (MHB) ที่ความเร็วรอบการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเขี่ยเชื้อลงใน MHB และปรับเทียบความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 Standard McFarland (เชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml)

5.2) การทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ Ampicillin ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

เติมสารละลายยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง หลอดที่ 1 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ส่วนหลอดที่ 2 -8 เติมน้ำปราศจากเชื้อลงไปหลอดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการ dilute แบบ 2-fold serial dilution ไปจนถึงหลอดที่ 7 จะได้ความเข้มข้นหลอดสุดท้ายเป็น 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กำหนดให้หลอดที่ 8 เป็น negative control (เติมน้ำปราศจากเชื้อใน MHB ที่มีเชื้อจุลชีพ) ส่วน positive control (ให้เติม MHB ที่ปราศจากเชื้อ) จากนั้นเติมเชื้อจุลชีพที่ปรับเทียบความขุ่นเท่ากับ 0.5 Standard McFarland ลงไปทุกหลอดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ยกเว้นในหลอดที่เป็น positive control แล้วนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง การอ่านผลจะอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ

ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ยับยั้งการเจริญโตของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ โดยดูความใสในหลอดทดลองด้วยตาเปล่า

5.3) การทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

เตรียมสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 0.09, 0.08, 0.07, และ 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยกำหนดให้ negative control (เติมน้ำปราศจากเชื้อใน MHB ที่มีเชื้อจุลชีพ), positive control (เติม MHB ที่ปราศจากเชื้อ) จากนั้นเติมเชื้อจุลชีพใน Mueller Hinton broth ที่ปรับเทียบความขุ่นเท่ากับ 0.5 Standard McFarland ลงในหลอดทดลองทุกหลอด ยกเว้นหลอดที่เป็น Positive control ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นต่างๆลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ยกเว้นหลอดที่เป็น negative control และ positive control จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของละลายวิตามินซีบริสุทธิ์เท่ากับ 0.05, 0.045, 0.04, 0.035, และ 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง การอ่านผล จะอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ที่ยับยั้งการเจริญโตของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ โดยดูความใสในหลอดทดลองด้วยตาเปล่า

5.4) การทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

เตรียมสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1.0, 0.8, 0.6 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยกำหนดให้ negative control (เติมน้ำปราศจากเชื้อใน MHB ที่มีเชื้อจุลชีพ), positive control (เติม MHB ที่ปราศจากเชื้อ) จากนั้นเติมเชื้อจุลชีพใน Mueller Hinton broth ที่ปรับเทียบความขุ่นเท่ากับ 0.5 Standard McFarland ลงในหลอดทดลองทุกหลอด ยกเว้นหลอดที่เป็น positive control ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นต่างๆลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ยกเว้นหลอดที่เป็น negative control และ positive control จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของละลายวิตามินเอบริสุทธิ์เท่ากับ 0.05, 0.04, 0.03 และ 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง การอ่านผล จะอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ที่ยับยั้งการเจริญโตของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ โดยดูความใสในหลอดทดลองด้วยตาเปล่า

5.5) การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

เจือจางสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อ ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 50, 45, 40, 35, 30, และ 25 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยกำหนดให้ negative control (เติมน้ำปราศจากเชื้อใน MHB ที่มีเชื้อ จุลชีพ), positive control (เติม Ampicillin ใน MHB ที่มีเชื้อจุลชีพ) จากนั้นเติมเชื้อจุลชีพที่ปรับเทียบความขุ่นเท่ากับ 0.5 Standard McFarland ลงในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตามด้วยการเติมสารสกัดที่ปรับความเข้มข้นแล้วลงในหลอดทดลองเดียวกันปริมาตร 1 มิลลิลิตร ยกเว้น หลอดที่เป็น negative control และ positive control จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดเท่ากับ 25, 22.5, 20, 17.5, 15 และ 12.5 กรัมต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ

37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง การอ่านผล จะอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญโตของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ โดยดูความใสในหลอดทดลองด้วยตาเปล่า

5.6) การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

นำสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลมาเจือจางด้วยน้ำปราศจากเชื้อให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1.67, 1.4, 1.2, 1.0, 0.8, และ 0.6 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยกำหนดให้ negative control (เอทานอลที่ระเหยแล้วใน MHB ที่มีเชื้อจุลชีพ), positive control (เอทานอลใน MHB ที่มีเชื้อจุลชีพ) จากนั้นเติมเชื้อจุลชีพที่ปรับเทียบความขุ่นเท่ากับ 0.5 Standard McFarland ลงในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตามด้วยการเติมสารสกัดที่ปรับความเข้มข้นแล้วลงในหลอดทดลองเดียวกันปริมาตร 1 มิลลิลิตร ยกเว้น หลอดที่เป็น negative control และ positive control จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดเท่ากับ 0.83, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, และ 0.3 กรัมต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา16-18 ชั่วโมง การอ่านผลจะอ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญโตของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ โดยดูความใสในหลอดทดลองด้วยตาเปล่า

5.7) การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศที่สามารถฆ่าเชื้อจุลชีพได้ (Minimal bactericidal concentration; MBC)

นำหลอดทดลองที่ให้ค่า MIC ขึ้นไป (หลอดทดลองที่อาหารเหลวใสเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า) มาเพาะเลี้ยงลงบน Mueller-Hinton agar ด้วยวิธีการ spread plate จากนั้นนำไปบ่มเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ไม่มีเชื้อขึ้นหรือเกือบไม่มีเชื้อขึ้น (99.9% ของเชื้อถูกฆ่า)

6) การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistic analysis)

การทดสอบตัวอย่างๆ ละ 3 ครั้งในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (± SD) และวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของข้อมูล โดยใช้ One-way Anova (Single factor)

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ผลการตรวจสอบความปลอดภัยของมะเขือเทศ

ผลการทดสอบยาฆ่าแมลงในมะเขือเทศ 3 ชนิด คือ มะเขือเทศราชินี, มะเขือเทศสีดา และมะเขือเทศลูกใหญ่ โดยใช้ชุดทดสอบหายาฆ่าแมลงในผักและผลไม้ในการยืนยันผลการตรวจสอบ พบว่ามะเขือเทศทั้ง 3 ชนิดที่นำมาทำการทดลองมีความปลอดภัยปราศจากยาฆ่าแมลงของสารกลุ่ม Organophosphate

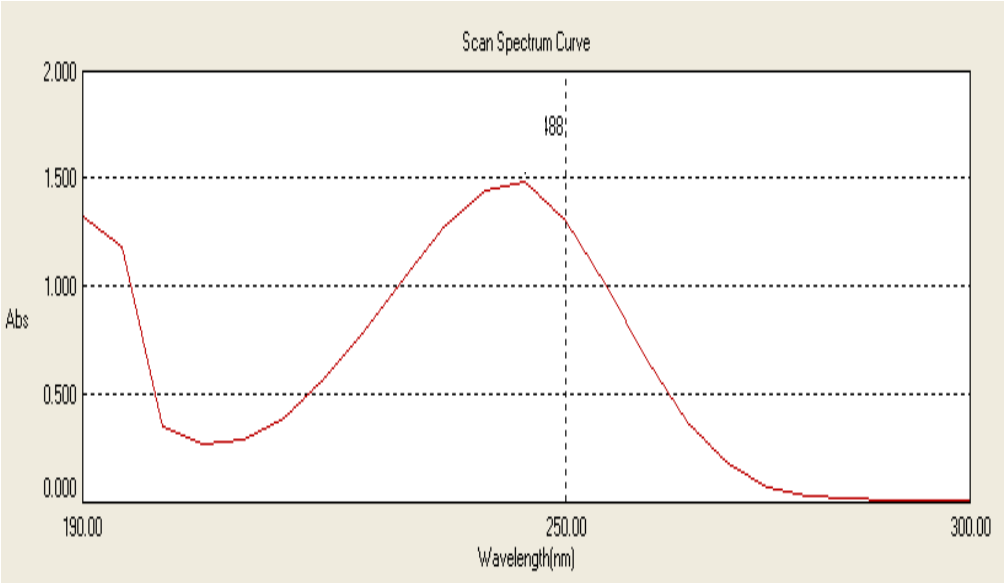
4.2 ผลการสกัดสารจากมะเขือเทศ

ผลมะเขือเทศสุก เมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลได้สารสกัดที่มีลักษณะเป็นของเหลวใสและมีสีเหลืองใส ตามลำดับ

4.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลโดยใช้เครื่อง UV/Vis Spectrophotometer

4.3.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี ด้วยเครื่อง UV/ Vis Spectrophotometer

สารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ เมื่อ Scan Spectrum Curve ให้ค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงที่สุด (λ_{max}) เท่ากับ 245 นาโนเมตร แสดงในภาพที่ 4.1 จากนั้นใช้ค่าความยาวคลื่นที่ 245 นาโนเมตร เป็นค่ามาตรฐานในการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นต่างๆเพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐานสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์



ภาพที่ 4.1 แสดง Scan spectrum curve ของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ โดยเครื่อง UV/ Vis Spectrophotometer

จากการวัดค่าสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ใช้ค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงที่สุด (λ_{max}) เท่ากับ 245 นาโนเมตร เป็นค่ามาตรฐานในการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ซึ่งค่าความเข้มข้นของวิตามินซีบริสุทธิ์คือ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

	ค่า λ_{max} ที่ 245 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
วิตามินซีบริสุทธิ์ (0.1g/ml)	2.040	2.118	1.786	1.981

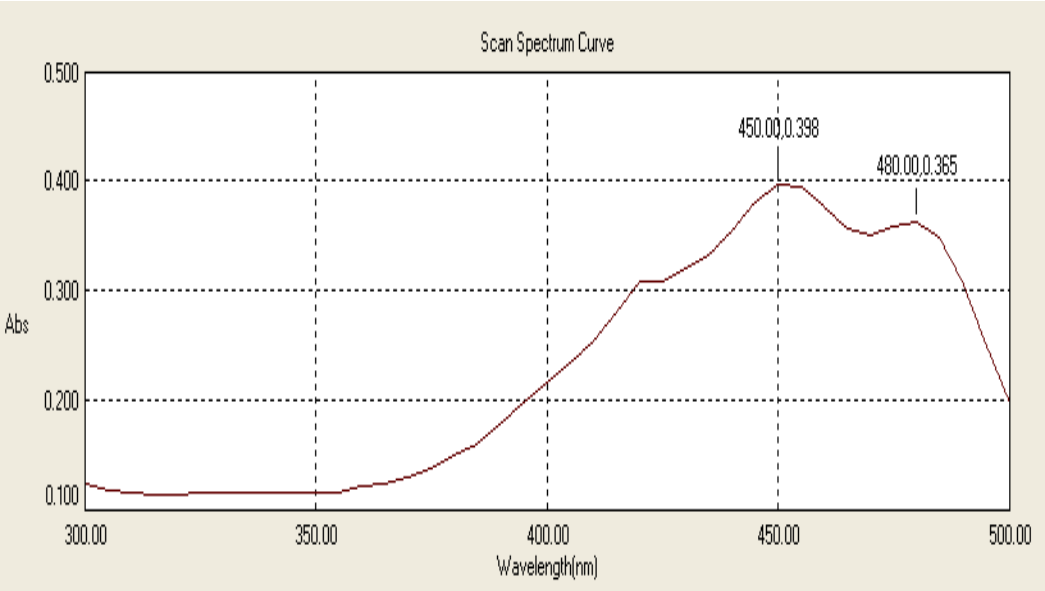
4.3.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในสารสกัดมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอล

จากการคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในสารสกัดมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำมีค่าความเข้มข้นที่ 316 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์มาตรฐาน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในสารสกัดมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่าความเข้มข้นที่ 396 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์มาตรฐาน

4.3.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินเอด้วยเครื่อง UV/ Vis Spectrophotometer

β-carotene เมื่อ Scan Spectrum Curve ให้ค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงที่สุดเท่ากับ 450 นาโนเมตร แสดงดังภาพที่ 4-3 จากนั้นใช้ความยาวคลื่นที่ 450 นาโนเมตร เป็นค่ามาตรฐานในการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย β-carotene ที่ความเข้มข้นต่างๆเพื่อใช้สร้างกราฟมาตรฐานสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ และใช้วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดมะเขือเทศด้วยเอทานอล จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากสารสกัดไปทำการพล็อตบนกราฟมาตรฐานสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ เพื่อหาปริมาณวิตามินเอที่พบในสารสกัดมะเขือเทศด้วยทานอล พบว่าสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 1.67 กรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินเอเท่ากับ 0.009 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 4.2 แสดง Scan spectrum curve ของสารละลาย β-carotene โดยเครื่อง UV/ Vis-Spectrophotometer

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.4.1 ผลการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay

จากผลการทดสอบการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโลหะไอออน ได้แก่ Fe^{2+} หรือการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดจากมะเขือเทศราชินี, มะเขือเทศสีดา และมะเขือเทศลูกใหญ่ที่สกัดด้วยน้ำมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกที่ความเข้มข้น 73.76,74.88 และ 74.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าความเข้มข้นดังกล่าวเมื่อเทียบกับค่า Fe^{2+}มาตรฐานของน้ำพบว่าสารสกัดมะเขือเทศทั้งสามชนิดมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 20 ถึง 40 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรของ Fe^{2+}มาตรฐานของน้ำ และสารสกัดจากมะเขือเทศราชินี,มะเขือเทศสีดา และมะเขือเทศลูกใหญ่ที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกที่ความเข้มข้น 77.12, 79.98 และ 79.18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่าความเข้มข้นดังกล่าวเมื่อเทียบกับค่า Fe^{2+}มาตรฐานของเอทานอล พบว่าสารสกัดมะเขือเทศทั้งสามชนิดมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 60 ถึง 70 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตรของFe^{2+}มาตรฐานของเอทานอล

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay ของสารสกัดมะเขือเทศ

ประเภทของการสกัด	ชนิดของสารสกัดมะเขือเทศ	ค่า λ_{max} ที่ 593 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย	ความเข้มข้น (mg /ml)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
	วิตามินซีบริสุทธิ์	1.069	1.165	0.980	1.071	100.0
สกัดด้วยน้ำ	มะเขือเทศราชินี	0.744	0.826	0.800	0.790	73.76
สกัดด้วยเอทานอล	มะเขือเทศราชินี	0.882	0.767	0.828	0.826	77.12

ตารางที่ 4.2 ผลการวัดค่าสารละลายมาตรฐาน Fe^{2+} standard ที่ละลายในน้ำ

Fe^{2+} standard (µg/ml)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
5	0.497	0.521	0.501	0.506
10	0.632	0.602	0.612	0.615
20	0.691	0.752	0.848	0.764
40	0.896	0.720	0.862	0.826
60	0.762	0.884	0.954	0.867
70	1.343	0.800	1.226	1.167

ตารางที่ 4.3 ผลการวัดค่าสารละลายมาตรฐาน Fe^{2+} standard ที่ละลายในเอทานอล

Fe^{2+} standard (µg/ml)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
5	0.467	0.430	0.437	0.445
10	0.560	0.571	0.557	0.563
20	0.691	0.684	0.686	0.687
40	0.838	0.727	0.753	0.773
60	0.909	0.697	0.826	0.811
70	0.868	0.835	0.842	0.848

4.4.2 ผลการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า สารสกัดมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 1.2 ถึง 3.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 42.61 ± 2.35 ถึง 69.20 ± 1.47 สารสกัดมะเขือเทศสีดาที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 1.2 ถึง 3.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 24.20 ± 21.05 ถึง 71.17 ± 2.00 และสารสกัดมะเขือเทศลูกใหญ่ที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 1.2 ถึง 3.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 27.14 ± 3.28 ถึง 70.04 ± 1.26 โดยความเข้มข้นของสารสกัดมะเขือเทศทั้งสามชนิดที่สกัดด้วยน้ำมีความสามารถที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในช่วงความเข้มข้นที่ 2.2 ถึง 2.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

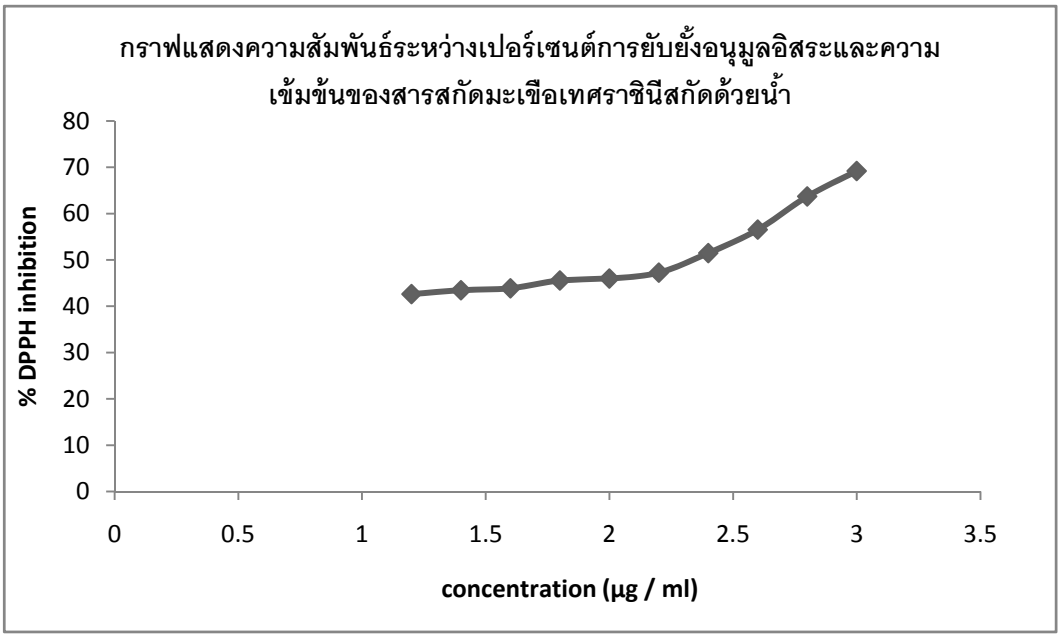
สารสกัดมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 42.34 ± 1.59 ถึง 66.38 ± 2.40 สารสกัดมะเขือเทศสีดาที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 28.69 ± 2.19 ถึง 62.87 ± 4.64 และสารสกัดมะเขือเทศลูกใหญ่ที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 30.66 ± 5.21 ถึง 60.48 ± 1.29 โดยความเข้มข้นของสารสกัดมะเขือเทศราชินีและมะเขือเทศลูกใหญ่ที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในช่วงความเข้มข้นที่ 0.4 ถึง 0.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นของสารสกัดมะเขือเทศสีดาที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในช่วงความเข้มข้นที่ 0.8 ถึง 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วิตามินซีบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 0.005 ถึง 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 44.58 ± 1.11 ถึง 64.98 ± 1.11 โดยความเข้มข้นของวิตามินซีบริสุทธิ์มีความสามารถที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในช่วงความเข้มข้นที่ 0.008 ถึง 0.009 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

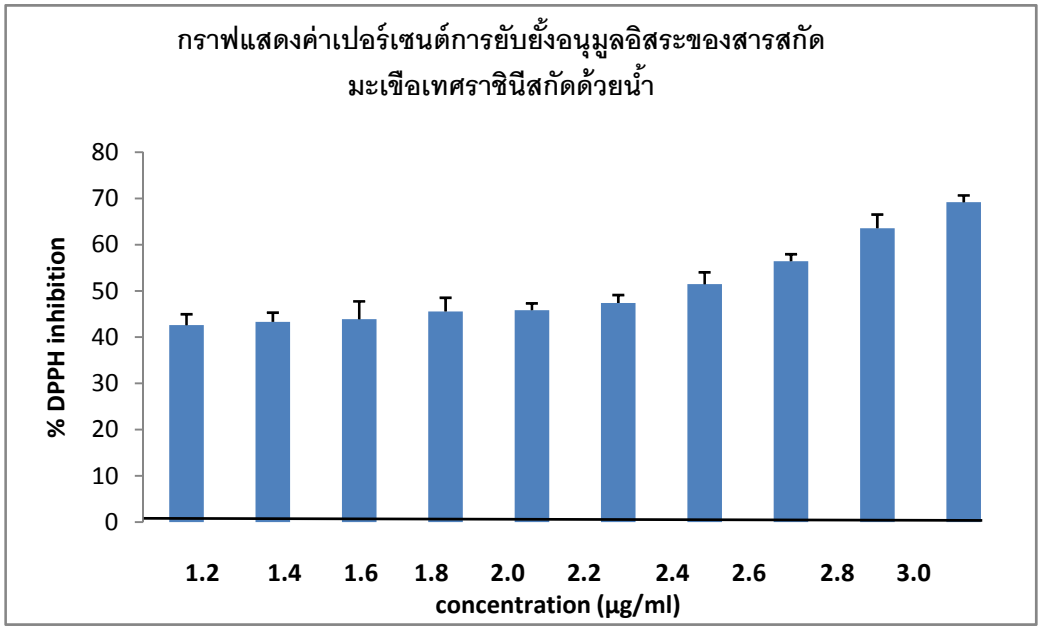
ตารางที่ 4.4 ผลของค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำด้วยวิธี DPPH Assay

ชนิดของสารสกัดมะเขือเทศ	**ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของตัวอย่าง + DPPH (A_A)**	**% DPPH inhibition $((A_B-A_A)/A_B) \times 100$**	**SD**
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 1.2 (µg / ml)	0.136	42.61 %	2.35
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 1.4 (µg / ml)	0.134	43.32 %	1.99
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 1.6 (µg / ml)	0.133	43.88 %	3.87
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 1.8 (µg / ml)	0.129	45.57 %	2.96
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 2.0 (µg / ml)	0.128	45.85 %	1.48
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 2.2 (µg / ml)	0.125	47.40 %	1.71
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 2.4 (µg / ml)	0.115	51.47 %	2.57
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 2.6 (µg / ml)	0.103	56.44 %	1.52
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 2.8 (µg / ml)	0.086	63.57 %	2.96
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ ความเข้มข้น 3.0 (µg / ml)	0.073	69.20 %	1.47

ค่าการดูดกลืนแสงของDPPH Control (A_B) = 0.237



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัดมะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ

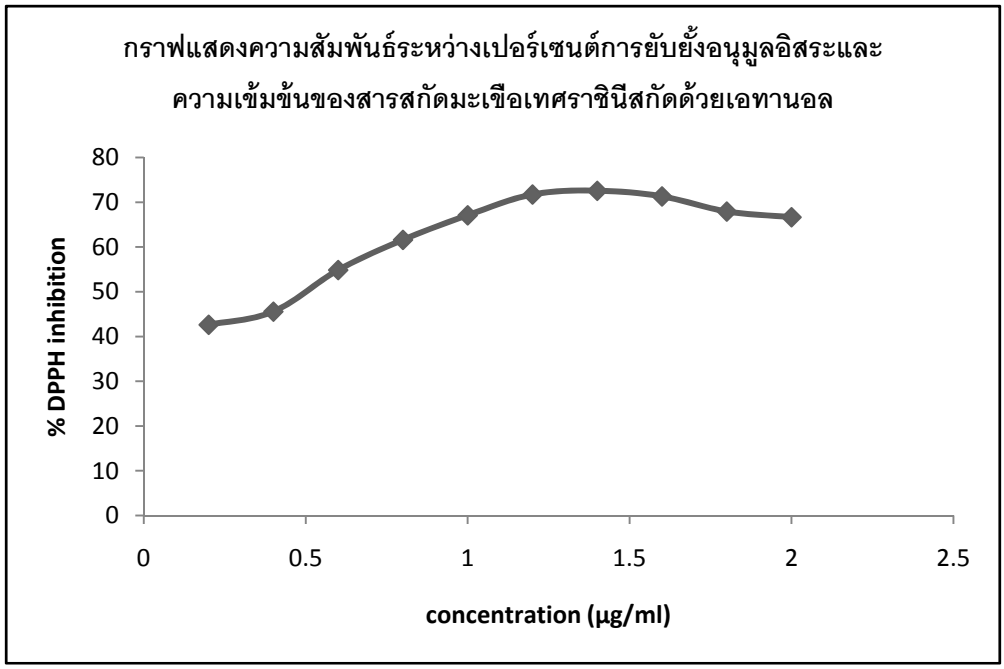


ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสารสกัดมะเขือเทศราชินีสกัดด้วยน้ำ

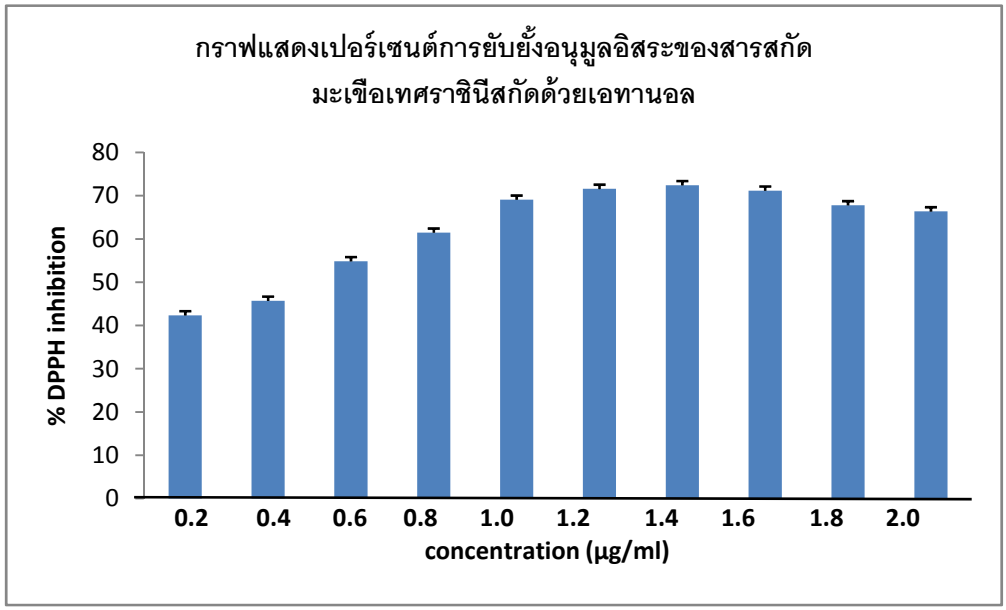
ตารางที่ 4.5 ผลของค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระจากสารสกัดมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยเอทานอลด้วยวิธี DPPH Assay

ชนิดของสารสกัดมะเขือเทศ	**ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของตัวอย่าง + DPPH (A_A)**	**% DPPH inhibition $((A_B-A_A)/A_B) \times 100$**	**SD**
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 0.2 (µg/ml)	0.136	42.34 %	1.59
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 0.4 (µg/ml)	0.129	45.71 %	7.33
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 0.6 (µg/ml)	0.107	54.85 %	2.19
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 0.8 (µg/ml)	0.091	61.46 %	1.29
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 1.0 (µg/ml)	0.078	67.09 %	4.03
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 1.2 (µg/ml)	0.067	71.59 %	3.68
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 1.4 (µg/ml)	0.065	72.43 %	1.06
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 1.6 (µg/ml)	0.068	71.17 %	5.07
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 1.8 (µg/ml)	0.076	67.79 %	2.08
มะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 2.0 (µg/ml)	0.079	66.38 %	2.40

ค่าการดูดกลืนแสงของDPPH Control (A_B) = 0.237



ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดมะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล



ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสารสกัดมะเขือเทศราชินีสกัดด้วยเอทานอล

4.4 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ ด้วยวิธี** Disc diffusion test

4.4.1 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยา Chloramphenicol (C), Kanamycin (K), Tetracyclin (TE) ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อดิสค์ ยา Ampicillin (AMP), Gentamycin (CN) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสค์ และยา Penicillin (P) 10 Units ต่อการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี Disc diffusion test พบว่า เชื้อ *S. aureus* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะทุกชนิด เชื้อ *S. pyogenes* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ Ampicillin, Gentamycin และ Kanamycin เชื้อ *E. coli* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ Chloramphenicol เชื้อ *Ps. aeruginosa* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ Gentamycin ส่วนเชื้อ *C. albican* และ *C. tropicalis* ไม่มีความไวต่อยาปฏิชีวนะทุกชนิด ดังตารางที่ 4.5

4.4.2 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี disc diffusion test พบว่า เชื้อแบคทีเรียทุกชนิด และเชื้อ *C. tropicalis* มีความไวต่อสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ยกเว้นเชื้อ *C. albican* ที่ไม่พบความไวต่อสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ในทุกความเข้มข้น ดังตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-5

4.4.3 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.16, 0.12 และ 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี Disc diffusion test พบว่าเชื้อจุลชีพทุกชนิดไม่มีความไวต่อสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์

4.4.4 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อ ที่ความเข้มข้น 50, 40, 30, 20, และ 10 กรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี Disc diffusion test พบว่า เชื้อจุลชีพทุกชนิดไม่มีความไวต่อสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อทั้งสองชนิด

4.4.5 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.67, 0.9, 0.75, 0.5, 0.4, และ 0.3 กรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี Disc diffusion test พบว่า เชื้อจุลชีพทุกชนิดไม่มีความไวต่อสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลทั้งสองชนิด

4.5 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ ด้วยวิธี Broth dilution test**

4.5.1 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ** Ampicillin **ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125 และ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อความสารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี broth dilution test พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* และ *S. pyogenes* มีค่า MIC เท่ากับ $1.25x10^{-3}$ กรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้ออื่นๆ ไม่พบค่า MIC ดังตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.7

4.5.2 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.045, 0.04, 0.035,และ 0.03 กรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี broth dilution test พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus, S. pyogenes, Ps. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ $3x10^{-5}$ กรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.8 เชื้อ *E. coli* มีค่า MIC เท่ากับ $4.5x10^{-5}$ กรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *C. albican* และ *C. tropicalis* ค่า MIC เท่ากับ $5x10^{-5}$ กรัมต่อมิลลิลิตร

4.5.3 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี Broth dilution test พบว่า สารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพได้

4.5.4 **ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ**

4.5.4.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อ ที่ความเข้มข้น 25, 22.5, 20, 17.5,15, และ 12.5 กรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี Broth dilution test ผลการทดสอบพบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *S. pyogenes* มีค่า MIC เท่ากับ 25 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้ออื่นไม่พบค่า MIC ดังตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.8

4.5.4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีดาด้วยเอทานอล

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.83, 0.70, 0.60, 0.50, 0.40, และ 0.30 กรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี Broth dilution test ผลการทดสอบพบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอลสามารถที่ยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *S. pyogenes* และ *Ps. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 0.70 และ 0.60 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนเชื้ออื่นไม่พบค่า MIC ดังตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.9

4.6 **ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำของสารสกัดจากมะเขือเทศที่สามารถฆ่าเชื้อจุลชีพได้ (**Minimal bactericidal concentration; MBC**)**

ผลการทดสอบความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลชีพของสารสกัดจากมะเขือเทศ พบว่า สารสกัดจากมะเขือเทศสีดาด้วยเอทานอล มีค่า MBC ความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. pyogenes* และ *Ps. aeruginosa* (มีเชื้อเจริญน้อยกว่าร้อยละ 0.1 ของเชื้อเริ่มต้น) เท่ากับ 0.83 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้ออื่นไม่พบค่า MBC ดังภาพที่ 4.10

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ ด้วยวิธี Disc diffusion test

เชื้อที่ทดสอบ	AMP		CN		P		C		K		TE	
	Inhibition Zone (mm)		Inhibition Zone (mm)		Inhibition Zone (mm)		Inhibition Zone (mm)		Inhibition Zone (mm)		Inhibition Zone (mm)	
S. aureus	46	S	36	S	50	S	36	S	38	S	30	S
S. pyogenes	18	S	25	S	17	R	10	R	24	S	0	R
E. coli	0	R	8	R	0	R	26	S	11	R	0	R
Ps. aeruginosa	0	R	26	S	0	R	13	I	17	I	13	R
C. albican	0	R	0	R	0	R	0	R	0	R	0	R
C. tropicalis	0	R	0	R	0	R	0	R	0	R	0	R

*R = Resistance, ** I= Intermediate, S= sensitive

AMP= Ampicillin, CN= Gentamycin, P= Penicillin, C= Chloramphenicol, Kanamycin (K), Tetracyclin (TE)

จากตารางพบว่าเชื้อ *S. aureus* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะทุกชนิด เชื้อ *S. pyogenes* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ Ampicillin, Gentamycin และ Kanamycin, เชื้อ *E. coli* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ Chloramphenical เชื้อ *Ps. aeruginosa* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะ Gentamycin ส่วนเชื้อ *C. albican* และ *C. tropicalis* ไม่มีความไวต่อยาปฏิชีวนะทุกชนิด

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ต่อการยับยั้งการเจริญ-เติบโตของเชื้อจุลชีพ ด้วยวิธี Disc diffusion test

เชื้อที่ทดสอบ	**ความเข้มข้นของวิตามินซีบริสุทธิ์** (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)												Negative control	
	0.1		0.08		0.06		0.04		0.02		0.01			
	mm		mm		mm		mm		mm		mm		mm	
S. aureus	15	I	14	I	13	I	11	I	10	I	6	NI	6	NI
S. pyogenes	15	I	12	I	10	I	7	I	6	NI	6	NI	6	NI
E. coli	15	I	8	I	6	NI	6	NI	6	NI	6	NI	6	NI
Ps. aeruginosa	10	I	10	I	9	I	6	NI	6	NI	6	NI	6	NI
C. albican	6	NI	6	NI	6	NI	6	NI	6	NI	6	NI	6	NI
C. tropicalis	15	I	13	I	11	I	10	I	6	NI	6	NI	6	NI

* NI, no inhibition zone; เส้นผ่านศูนย์กลางดิสค์เท่ากับ 6 มิลลิเมตร

** I, Intermediate; เส้นผ่านศูนย์กลางดิสค์อยู่ในช่วง 7-15 มิลลิเมตร

Negative control (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร); น้ำปราศจากเชื้อใน MHB ที่มีเชื้อจุลชีพ 0.5 Mc.

จากตารางการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการเจริญของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด ด้วยวิธี disc diffusion test พบว่า เชื้อแบคทีเรียทุกชนิด และเชื้อ *C. tropicalis* มีความไวต่อสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ยกเว้นเชื้อ *C. albican* ที่ไม่พบความไวต่อสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ในทุกความเข้มข้น

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารควบคุมและสารสกัดจากมะเขือเทศ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ

ชนิดสารสกัด/ สารควบคุม	**ตัวทำละลาย ที่ใช้ในการสกัด**	**ค่า** MIC (กรัมต่อมิลลิลิตร)					
		S. aureus	*S. pyogenes*	*E. coli*	*Ps. aeruginosa*	*C. albican*	*C. tropicalis*
Ampicillin	น้ำปราศจากเชื้อ	$1.25x10^{-3}$	$1.25x10^{-3}$	nd	nd	nd	nd
วิตามินซีบริสุทธิ์	น้ำปราศจากเชื้อ	$3x10^{-5}$	$3x10^{-5}$	$4.5x10^{-5}$	$3x10^{-5}$	$5x10^{-5}$	$5x10^{-5}$
β-carotene	เอทานอล	nd	nd	nd	nd	nd	nd
มะเขือเทศราชินี	น้ำปราศจากเชื้อ	nd	25.0	nd	nd	nd	nd
	เอทานอล	nd	0.70	nd	0.60	nd	nd

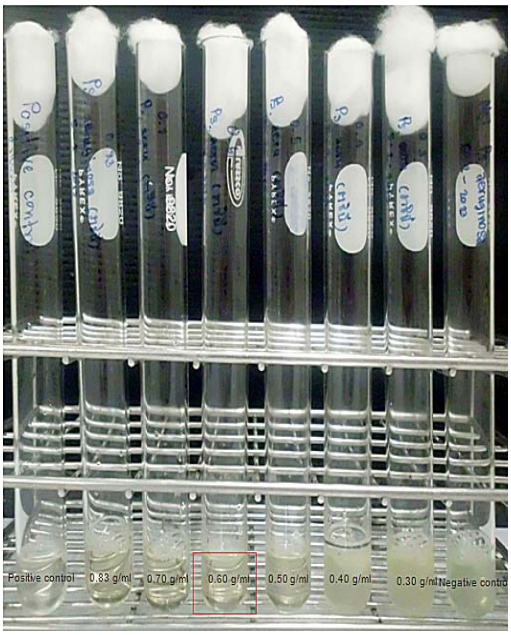
*nd = not determine

จากตารางพบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* และ *S. pyogenes* มีค่า MIC เท่ากับ $1.25x10^{-3}$ กรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้ออื่นๆ ไม่พบค่า MIC

ความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus, S. pyogenes, Ps. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 0.03 กรัมต่อมิลลิลิตร, เชื้อ *E. coli* มีค่า MIC เท่ากับ 0.045 กรัมต่อมิลลิลิตร, เชื้อ *C. albican* และ *C. tropicalis* มีค่า MIC เท่ากับ 0.05 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารละลายวิตามินเอบริสุทธิ์ทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพได้

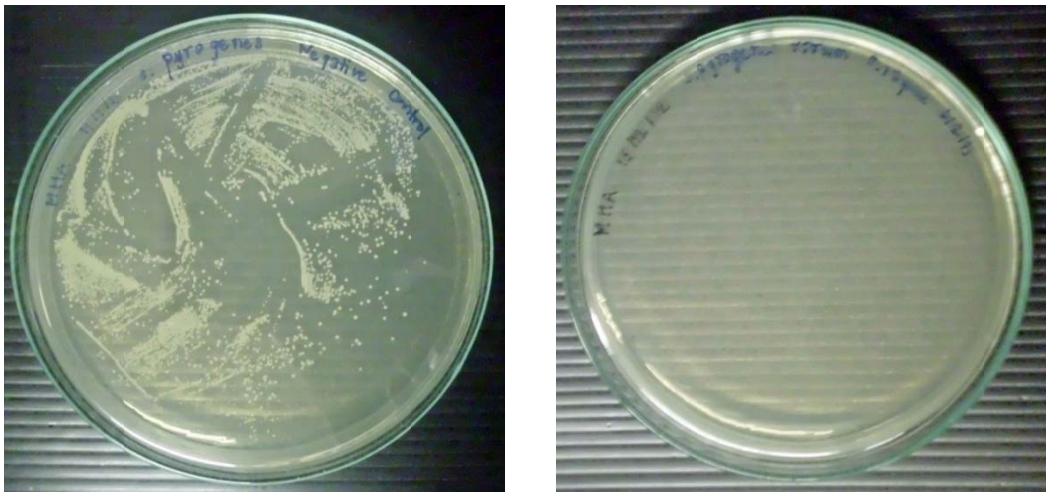
ประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อ พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *S. pyogenes* มีค่า MIC เท่ากับ 25 กรัมต่อมิลลิลิตร และประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอล พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *S. pyogenes* และ *Ps. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 0.70 และ 0.6 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนเชื้ออื่นไม่พบค่า MIC

ภาพที่ 4.7 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะ Ampicillin ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* ด้วยวิธี Broth dilution test



ภาพที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *Ps. aeruginosa* ด้วยวิธี Broth dilution test

ภาพที่ 4.9 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. pyogenes* ด้วยวิธี Broth dilution test



(ก.) **(ข.)**

ภาพที่ 4.10 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศสีดาด้วยเอทานอลที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. pyogenes* ได้

(ก) Negative control ของเชื้อ *S. pyogenes*

(ข) ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะเขือเทศสีดาด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.83 กรัมต่อมิลลิลิตร

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองหาสารองค์ประกอบสำคัญในสารสกัดจากมะเขือเทศที่ใช้น้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า สารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อมิลลิลิตร พบปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 1.67 กรัมต่อมิลลิลิตร พบปริมาณวิตามินเอเท่ากับ 0.009 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดจากมะเขือเทศที่ได้มาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ 6 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa , Candida albican* และ *Candida tropicalis* ด้วยวิธี Disc diffusion test พบว่า ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้ทุกชนิด แต่เมื่อทดสอบด้วยวิธี Broth dilution test สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ (MIC) ได้ โดยพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อต่อเชื้อ *S. pyogenes* มีค่า MIC เท่ากับ 25 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอลต่อเชื้อ *S. pyogenes* และ *Ps. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 0.70 และ 0.60 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำและเอทานอลต่อเชื้อ *S. pyogenes* มีฤทธิ์ในการยับยั้งน้อยกว่าสารมาตรฐาน Ampicillin ประมาณ 1,000 เท่า

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของมะเขือเทศ การวิจัยนี้ได้เลือกทดสอบที่มีหลักการแตกต่างกัน 2 วิธี คือ FRAP และ DPPH เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยหรือสารออกฤทธิ์สามารถทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP เป็นการทดสอบการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโลหะไอออน ส่วน DPPH เป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ในทำลายอนุมูลอิสระ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกอยู่ในช่วง 20 ถึง 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกอยู่ในช่วง 60 ถึง 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกของสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยน้ำ และจากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยน้ำ ผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากผลมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ อีกทั้งยังเป็นการยืนยันฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากมะเขือเทศในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดมะเร็งที่กระเพาะปัสสาวะและยังช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งที่ระบบทางเดินอาหารตามรายงานที่เคยศึกษามาก่อนหน้านี้อีกด้วย

อภิปรายผล

สารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอล ได้สารสกัดที่สีเหลืองคล้ายน้ำมันพืช ซึ่งอาจจะเป็นสีของวิตามินเอบริสุทธิ์ เพราะผลจากการสกัดที่ได้นั้นมีความสอดคล้องกับบทความในหนังสือเรื่อง วิตามิน ที่กล่าวว่า “วิตามินเอบริสุทธิ์จะมีลักษณะเป็นของเหลวคล้ายน้ำมัน” (ศิริวรรณ สุทธจิตต์, 2550) เมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV/ Vis spectrophotometer พบว่าสารสกัดจากมะเขือเทศที่ใช้น้ำปราศจากเชื้อเป็นตัวทำละลายมีค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดเท่ากับ 245 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของวิตามินซี จากค่าความยาวคลื่นดังกล่าว สอดคล้องกับบทความในหนังสือ เรื่อง Vitamin analysis for the health and food sciences ที่กล่าวว่า “Ascorbic acid มีค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดเท่ากับ 245 นาโนเมตร (Ronald, 2008) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อที่ได้มีวิตามินซีเป็นองค์ประกอบ ส่วนสารสกัดจากมะเขือเทศที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดเท่ากับ 450 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของ β-carotene จากค่าความยาวคลื่นดังกล่าวสอดคล้องกับบทความในหนังสือ เรื่อง Vitamin analysis for the health and food sciences ที่กล่าวว่า “β-carotene มีค่าความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงได้สูงสุดเท่ากับ 450 นาโนเมตร (Ronald, 2008) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลที่ได้มีวิตามินเอเป็นองค์ประกอบ

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณวิตามินซีที่ได้จากสารสกัดมะเขือเทศทั้ง 2 ชนิด กับ ตารางข้อมูลทางโภชนาการ (สุธาทิพ ภมรประวัติ, 2552) พบว่า ปริมาณวิตามินซีที่ได้มีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับตารางข้อมูลทางโภชนาการ (มะเขือเทศสด 100 กรัม) เนื่องจากในการสกัดเป็นการสกัดโดยวิธีทางธรรมชาติ จึงอาจส่งผลให้มีการสูญเสียวิตามินซีได้ ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Phillip K.M.และคณะ (Phillips et al., 2010) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเสถียรภาพของวิตามินซีในผัก ผลไม้สดปั่นแช่แข็งเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 1 ปี ที่กล่าวว่า “การสกัดสารจากผัก ผลไม้สด ควรทำภายใต้ตัวกรองรังสียูวี ทั้งนี้เพื่อเป็นการป้องกันสารองค์ประกอบสำคัญไม่ให้เสื่อมสลาย เช่น วิตามินซี เป็นต้น” ส่วนการเปรียบเทียบปริมาณวิตามินเอที่ได้จากสารสกัดมะเขือเทศทั้ง 2 ชนิด กับ ตารางข้อมูลทางโภชนาการ พบว่า วิตามินเอที่ได้มีปริมาณใกล้เคียงกับตารางข้อมูลทางโภชนาการ เนื่องจากตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอลมีประสิทธิภาพในการดึงวิตามินเอได้ดี ซึ่งตรงกับบทความในหนังสือเรื่อง วิตามินของ ศิริวรรณ สุทธจิตต์ ที่กล่าวว่า “วิตามินเอและอนุพันธ์จะลายได้ดีในไขมันและตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล, เมทานอล เป็นต้น” (สุธาทิพ ภมรประวัติ, 2552) นอกจากนี้ยังขึ้นกับระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดด้วย ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ วีระ วีระกุล และ วุฒิชัย ศรีวิกรานต์โยธิน ที่กล่าวว่า “เวลาเป็นส่วนสำคัญในการสกัด เพราะจะมีผลต่อการสกัดให้ได้วิตามินเอมากหรือน้อย ดังนั้นเมื่อสกัดสารจากมะเขือเทศจำเป็นต้องรอให้ตัวมะเขือเทศที่มีสีแดงให้มีสีจางลงมากที่สุด” (วีระ วีระกุล และ วุฒิชัย ศรีวิกรานต์โยธิน, 2546)

จากการเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อกับสารละลายมาตรฐานวิตามินซีบริสุทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพด้วยวิธี Disc diffusion และ วิธี Broth dilution test พบว่า สารละลายมาตรฐานวิตามินซีบริสุทธิ์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้มากกว่าสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำ

ปราศจากเชื้อ เนื่องจากสารละลายมาตรฐานวิตามินซีบริสุทธิ์มีฤทธิ์เป็นกรดอย่างแรง คือ มีค่า pH ประมาณ 2.4 จึงรบกวนการทำงานของเชื้อจุลชีพได้ดี ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Taveira M. และคณะ ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจากเมล็ดมะเขือเทศ 2 ชนิดคือ มะเขือเทศสายพันธุ์ bull heart และมะเขือเทศสายพันธุ์ cherry ต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ พบว่าสารสกัดจากมะเขือเทศทั้งสองชนิดมีสาร organic acid เป็นองค์ประกอบ และมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด เบสในด้านการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ โดยนักวิจัยทำการทดลองที่ค่า pH 2.2, 3.0 และ 4.0 พบว่า เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ แต่ค่า pH มากกว่า 4.0 พบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดี (กิจจา ฤดีขจร, 2551) จึงอาจเป็นไปได้ว่า วิตามินซีบริสุทธิ์มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้การใช้น้ำปราศจากเชื้อเป็นตัวทำละลาย นอกจากจะได้วิตามินซีแล้วยังอาจจะได้สารอื่นๆ เช่น วิตามินอี วิตามินบี 1 จึงทำให้สารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลชีพได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ (นภา หลิมรัตน์, 2550)

ส่วนการเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลกับสารละลายมาตรฐานวิตามินเอบริสุทธิ์ ต่อความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ พบว่า สารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลและสารละลายมาตรฐานวิตามินเอบริสุทธิ์ ไม่มีประสิทธิภาพในด้านการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ เมื่อทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion test แต่เมื่อทดสอบด้วยวิธี broth dilution test พบว่า สารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอล มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพดีกว่าสารมาตรฐานวิตามินเอบริสุทธิ์ เนื่องจากสารมาตรฐานวิตามินเอไม่สามารถรวมตัวกับ Mueller-Hinton broth ได้ ซึ่งตรงกับบทความในหนังสือเรื่อง วิตามินของ ศิริวรรณ สุทธจิตต์ ที่กล่าวว่า” วิตามินเอและอนุพันธุ์ จะละลายได้ดีในน้ำมัน และตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล หรือ เมทานอล” (ศิริวรรณ สุทธจิตต์, 2550) หรืออาจเป็นไปได้ว่า เอทานอล สามารถดึงสารอื่นๆ นอกจากวิตามินเอ เช่น phenolic compound (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2556)

จากการเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลกับยาปฏิชีวนะ Ampicillin ในด้านการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพด้วยวิธี Disc diffusion test และ วิธี Broth dilution test พบว่า ยาปฏิชีวนะ Ampicillin มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้มากกว่าสารสกัดจากมะเขือเทศ ซึ่งเป็นไปตามบทความในหนังสือ เรื่อง เภสัชวิทยา: เนื้อหาสำคัญและแบบฝึกหัด ของ ณัฐวุฒิ สิบหมู่ ที่กล่าวว่า “ยาปฏิชีวนะ Ampicillin เป็นยาในกลุ่ม Broad- spectrum antibiotics มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Staphylococci, Streptococci* โดยยาจะไปออกฤทธิ์ในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถขยายและแพร่พันธุ์ได้ แต่ในขณะเดียวกันนั้นก็มีผลข้างเคียงมาก เช่น หายใจถี่ มีเสียงวี้ด” (ณัฐวุฒิ สิบหมู่, 2552)

จากการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพด้วยวิธี Disc diffusion test กับวิธี Broth dilution test พบว่า วิธี Broth dilution test มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้มากกว่า วิธี Disc diffusion test ซึ่งเป็นไปตามบทความในหนังสือ เรื่อง การวินิจฉัยโรคติดเชื้อแบคทีเรียทางการแพทย์ ของ วัชรินทร์ รังสีภานุรัตน์ ที่กล่าวว่า"การทดสอบแบบ Disc diffusion test เป็นการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพที่รายงานผลเป็นเชิงคุณภาพเท่านั้น คือ บอกได้เฉพาะ Sensitivity, Intermediate และ Resistance ไม่สามารถบอกปริมาณที่แน่นอนได้ นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัด ในด้านอัตราการแพร่ของสารจากดิสค์ยาด้วย ซึ่งต่างจากการทดสอบด้วยวิธี Broth dilution test จะเป็นการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพที่รายงานผลเป็นเชิงปริมาณ คือ สามารถหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ และความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลชีพได้ ที่สำคัญคือ เป็นวิธีมาตรฐานที่ให้ผลถูกต้อง และมีความเหมาะสมกับงานวิจัย (วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์, 2553)

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อกับสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ พบว่า สารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้มากกว่าสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ สถาบันการแพทย์แผนไทย ที่ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของชุมเห็ดเทศ โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า เอทานอลสามารถดึงสารประกอบ phenolic compound เช่น *kaempferol 3-O-sophoroside* เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและแบคทีเรียบางชนิด(Giovannucci et al., 1995) ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าการสกัดสารจากมะเขือเทศด้วยเอทานอล อาจได้สารประกอบจำพวก phenolic compound เช่น เควอร์เซติน (Quercetin) และแคมป์ฟีรอล (kaempferol) (สุธาทิพ ภมรประวัติ , 2552) ออกมาด้วย จึงส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพได้ดีกว่าการสกัดสารจากมะเขือด้วยน้ำปราศจากเชื้อ

จากผลการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลมีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ นั่นอาจเกิดจากโครงสร้างที่แตกต่างกันของเชื้อแบคทีเรีย กล่าวคือ เชื้อแบคทีเรียแกรมลบจะมี lipopolysaccharide เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างภายนอก จึงยากต่อการโดนทำลายด้วยยาหรือสารเคมี (อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และ วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์., 2551) แต่เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอลมีความเข้มข้นมากขึ้น พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ อาจเกิดจากสารประกอบ phenolic compound มีบทบาทรบกวนการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ และจับกับโปรตีนภายในเซลล์ ทำให้เชื้อแบคทีเรียมีการสูญเสียหน้าที่ และการทำงาน (จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ., 2555)

ผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากผลมะเขือเทศสีดาและราชินีด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพก่อโรคได้ อีกทั้งยังเป็นการยืนยันฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากมะเขือเทศในด้านการต้านเชื้อราและแบคทีเรียตามรายงานที่เคยศึกษามาก่อนหน้านี้อีกด้วย

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของมะเขือเทศ การวิจัยนี้ได้เลือกทดสอบที่มีหลักการแตกต่างกัน 2 วิธี คือ FRAP และ DPPH เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยหรือสารออกฤทธิ์สามารถทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP เป็นการทดสอบการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโลหะไอออน ส่วน DPPH เป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ในทำลายอนุมูลอิสระ ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกอยู่ในช่วง 20 ถึง 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกอยู่ในช่วง 60 ถึง 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกของสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยน้ำ สอดคล้องกับการศึกษาของ ชลดา จัดประกอบ และคณะ ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าที่สกัดด้วยเอทานอล น้ำ และแอลคาลอยด์ พบว่า การสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าด้วยวิธีแอลคาลอยด์ได้ % yield สูงสุด รองลงมาคือ การสกัดด้วยเอทานอล และการสกัดด้วยน้ำ ตามลำดับ ซึ่งการสกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดีมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ Ascorbic acid ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยเอทานอล มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้ดีกว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อ (ชลดา จัดประกอบ และคณะ 2013)

จากผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ สมหมาย ปะติตังโข ที่ได้ศึกษาการต้านอนุมูลอิสระและการต้านการเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัดพญาวานร พบว่า การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบของใบพญาวานรแต่ละชนิด โดยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ได้ดีที่สุดและมีค่า IC_{50} เท่ากับ 656.270 ppm ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า สารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดมะเขือเทศที่สกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อ (สมหมาย ปะติตังโข, 2553)

จากการเปรียบเทียบผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากมะเขือเทศทั้งสามชนิดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งไม่สัมพันธ์กับปริมาณวิตามินซีที่พบในสารสกัดมะเขือเทศราชินีมากกว่ามะเขือเทศชนิดอื่น อาจเป็นผลมาจากสารประกอบชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลมะเขือเทศ เช่น สารฟีนอล ซึ่งผลการศึกษาของ Luengthanaphol *et al*. 2004 และ Sudjaroen *et al*., 2005 พบว่า สารประกอบฟีนอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่เป็น free radical terminators (Abdel-Hameed, 2009) ที่โครงสร้างหลักประกอบด้วย aromatic ring แทนที่ด้วย hydroxyl group ที่สามารถใช้จับกับอนุมูลอิสระได้

ผลการทดลองในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากผลมะเขือเทศราชินีที่สกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ อีกทั้งยังเป็นการยืนยันฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากมะเขือเทศในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดมะเร็งที่กระเพาะปัสสาวะและยังช่วยลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งที่ระบบทางเดินอาหารตามรายงานที่เคยศึกษามาก่อนหน้านี้อีกด้วย

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

อุณหภูมิมีผลทำให้สารบางตัวสลายไป โดยเฉพาะวิตามินซีที่สลายตัวได้ง่ายเมื่อโดนความร้อน ดังนั้นในการสกัดสารจากมะเขือเทศจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิ โดยใช้อุณหภูมิห้องเป็นมาตรฐาน

สารองค์ประกอบบางตัวในสารสกัดจากมะเขือเทศอาจสลายไป เนื่องจากรังสียูวี ดังนั้นในขั้นตอนการสกัดควรทำภายใต้ตัวกรองรังสียูวีเพื่อเป็นการช่วยลดการสูญเสียสารองค์ประกอบที่สำคัญในมะเขือเทศ

การเก็บสารสกัดจากมะเขือเทศไว้เป็นระยะเวลานานๆ จะทำให้สารที่เป็นองค์ประกอบมีปริมาณเปลี่ยนแปลง ดังนั้นก่อนการศึกษาควรที่จะทดลองเก็บสารสกัดไว้เป็นระยะเวลาต่างๆเพื่อที่จะวิเคราะห์ว่า สารที่เก็บนั้นมีปริมาณเปลี่ยนแปลงมากน้อยเพียงใด และเพื่อเป็นแนวทางที่จะคงสภาพสารองค์ประกอบให้คงที่

สารสกัดจากมะเขือเทศมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นด้วยวิธี FRAP และร้อยละการยับยั้งสาร DPPH ไม่แตกต่างกัน ซึ่งปริมาณวิตามินซีที่พบในสารสกัดมะเขือเทศไม่สัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ อาจเป็นเพราะสารสกัดที่ได้มีองค์ประกอบอื่นหรือปริมาณสารฟีนอลที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกเหนือจากวิตามินซี

ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

สารองค์ประกอบที่ได้จากสารสกัดเมื่อนำไปวิเคราะห์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงนั้น อาจให้ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบสารที่ไม่ครบถ้วนเพียงพอ ดังนั้นเพื่อความแม่นยำ ควรนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC)

ควรมีการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอล หรือสารประกอบชนิดอื่น นอกจากวิตามินซี ที่สามารถพบได้ในผลมะเขือเทศ เพื่อหาสารที่เป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด

บรรณานุกรม

บรรณานุกรมภาษาไทย

กิจจา ฤดีขจร. (2551). *คู่มือฉลาดใช้ วิตามิน แร่ธาตุและสมุนไพร*. พิมพ์ครั้งที่ 3. รีดเดอร์ส ไดเจสท์: กรุงเทพมหานคร.

จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ. (2555). *ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial Activities of Indigenous Vegetables.* [Online].แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://thaicamdb.info/Downloads/PDF/ ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทย. สืบค้นเมื่อ 15 มกราคม 2556.

เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไก การเกิดปฏิกิริยา. [Online]: แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://www.journal.ksu.ac.th/managefiles/ สืบค้นเมื่อ 28 พฤศจิกายน 2557.

ชลดา จัดประกอบ และพรพนนผร เหล่าวชิระสุวรรณ. (2013). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้าน การก่อกลายพันธ์ของสารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้า. [Online]: แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://pharm.kku.ac.th/isan-journal/journal/volumn9 -no1 / 0 0 2 - Proceeding/Page175- 179.pdf สืบค้นเมื่อ 28 พฤศจิกายน 2557.

ณัฐวุฒิ สิบหมู่. (2552). *เภสัชวิทยา: เนื้อหาสำคัญและแบบฝึกหัด*.โฮลิสติกพับลิสชิ่ง: กรุงเทพมหานคร.

วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์. (2553). *การวินิจฉัยโรคติดเชื้อแบคทีเรียทางการแพทย์.* (พิมพ์ครั้งที่ 3). สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพมหานคร.

นภา หลิมรัตน์. (2550). *ตำราชีวเคมี.* พิมพ์ครั้งที่ 5.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา: กรุงเทพมหานคร.

นเรศ วโรภาสตระกูล. (2551). *Candidiasis* [Online]. แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://microbio.md.kku.ac.th/site_data/mykku_microbio/3/Lecture/Candidiasis/hai.pdf. สืบค้นเมื่อ 12 กุมภาพันธ์ 2556.

บังอร วงศ์รักษ์ และ ศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์. (2549). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพืชบ้าน. [Online]: แหล่ง เข้าถึงข้อมูล http://www.pharmacy.mahidol.ac.th. สืบค้นเมื่ 25 พฤศจิกายน 2557.

ไมตรี สุทธจิตต์. (2555). ความรู้พื้นฐานของออกซิเดชัน, น. 1-14, ใน วรพล เองวานิช (บรรณาธิการ), อนุมูล อิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ, คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยาร่วมกับสมาคมเพื่อการวิจัย อนุมูลอิสระไทย, สำนักพิมพ์ นวัตกรรมสุขภาพ, เชียงใหม่.

พรรณทิพย์ ฉายากุล. (2548). *ตำราโรคติดเชื้อ 2*. โฮลิสติก พับลิชชิ่ง จำกัด: กรุงเทพมหานคร.

ภัทรชัย กีรติสิน. (2549). *ตำราวิทยาแบคทีเรียทางการแพทย์*. ห้างหุ้นส่วนจำกัด วี.เจ.พริ้นติ้ง: กรุงเทพมหานคร.

วีณา จิรัจฉริยากูล. (2543). มะเขือเทศ. *จุลสารข้อมูลสมุนไพร.* คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ฉบับที่ 17 (3). หน้า 3-11.

วินัย ดะห์ลัน. (2550). *โภชนาการพื้นฐานเพื่อการมีสุขภาพสมบูรณ์สูงสุด*. เอกสารประกอบคำบรรยาย [Online]. แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://anti-aging.in.th/thread-9-1-1.html. สืบค้นเมื่อ 21 มีนาคม 2556

ศิริวรรณ สุทธจิตต์. (2550). *วิตามิน*. The Knowledge Center: กรุงเทพมหานคร.

ศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพแห่งชาติ. (2541). *ปัญหาและสถานการณ์การดื้อยา* [Online]: แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/Secretary/Homepage/news48/August/6.htm สืบค้นเมื่อ 19 กุมภาพันธ์ 2556.

สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. (2542). *สมุนไพรกับวัฒนธรรมไทย ตอนที่ 2 ไม้ริมรั้ว*. พิมพ์ครั้งที่ 2. องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก: กรุงเทพมหานคร.

สถาบันวิจัยสมุนไพร. (2554). *ผลิตภัณฑ์สมุนไพร* [Online]: แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/plant/mpri/Product.shtm สืบค้นเมื่อ 19 กุมภาพันธ์ 2556.

สมทรง เลขะกุล. (2543). *ชีวเคมีของวิตามิน*. พิมพ์ครั้งที่ 2.ศุภวนิชการพิมพ์: กรุงเทพมหานคร.

สมหมาย ปะติตัง. (2553). การต้านอนุมูลอิสระและการต้านการเติบโตของแบคทีเรียของสาร สกัดพญาวานร. [Online]: แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://journal.hcu.ac.th/pdffile/jn-27.pdf สืบค้นเมื่อ 28 พฤศจิกายน 2557.

สุธาทิพ ภมรประวัติ. (2552). มะเขือเทศราชินี. *นิตยสารหมอชาวบ้าน.* เล่มที่ 359. [Online]: แหล่งเข้าถึงข้อมูล http://www.doctor.or.th/article/detail/5888 สืบค้นเมื่อ 19 กุมภาพันธ์ 2556.

อิสยา จันทร์วิทยานุชิต และ วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์. (2551). *แบคทีเรียทางการแพทย์*. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพมหานคร.

บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ

Abdel-Hameed, E.S. (2009). Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. *Food Chemistry*, 114, 1271–1277.

Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1993; 90(17): 7915-7922.

Boileau TW, Liao Z, Kim S, et al. (2003). Prostate carcinogenesis in N-methyl-N-nitrosourea (NMU)-testosterone-treated rats fed tomato powder, lycopene, or energy-restricted diets. *J Natl Cancer Inst*, 95(21): 1578-1586.

Carvilla LM, Blasco B, Rios JJ, et al. (2007) Oxidative stress and antioxidants in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants subjected to boron toxicity. *Ann Bot* 100(4): 747-756.

Di Mascio P, Kaiser S, Sies H, et al. *(*1989). Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys*, 274(2): 532-538.

Fuhrman B, Ben-Yaish L, Attias J, et al. (1997). Tomato lycopene and beta-carotene inhibit low density lipoprotein oxidation and this effect depends on lipoprotein vitamin E content. *Nutr Metab Cardiovasc Dis,* 7: 433-443.

Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, et al. (1995). Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J Natl Canc Inst,* 87: 1767-1776.

Grant WB, et al. (1999). An ecologic study of dietary links to prostate cancer. *Altern Med Rev,* 4(3): 162-169.

Hulten K, Van Kappel AL, Winkvist A, et al. (2001). Carotenoids, alpha-tocopherols, and retinol in plasma and breast cancer risk in northern Sweden. *Cancer Causes Control,* 12(6): 529-537.

Ilahya R, Hdiderb C, Lenucci MS, et al. (2011) Phytochemical composition and antioxidant activity of high-lycopene tomato (*Solanum lycopersicum L.*) Cultivars grown in Southern Italy Giuseppe Dalessandroc Scented Horticulturae.127: 255–261.

Levy J, Bosin E, Feldman B, et al. (1995). Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell proliferation than either a-carotene or b-carotene. *Nutr Cancer*, 24: 257-267.

Luengthanaphol, S., Mongkholkhajornsilp, D., Douglas, S., Douglas, P.L., Pengsopa, L., & Pongamphai, S., (2004). Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat–preliminary experiments. *Journal of Food Engineering*, 63, 247–252.

Nahum A, Hirsch K, Danilenko M, et al. (2001). Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27(Kip1) in the cyclin E-cdk2 complexes. *Oncogene*, 20(26): 3428-3436.

Odriozola-Serrano I, Aguilo-Aguayo I, Soliva-Fortury R, et al. (2007) Lycopene, vitamin C, and antioxidant capacity of tomato juice as affected by high-intensity pulsed electric fields critical parameters. *J Agric Food Chem* 55(22): 9036-9042.

Phillips KM, Tarrgo-Trani MT, Gebhardt SE, et al. (2010) Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates. *J. Food Comp.* Anal 23, 253– 259.

Ribaya Mercado JD, Garmyn M, Gilchrest BA, et al. (1995). Skin lycopene is destroyed preferentially over beta-carotene during ultraviolet irradiation in humans. *J Nutr,* 125(7): 1854-1859.

Riso P, Visioli F, Grande S, et al. (2006). Effect of a tomato-based drink on markers of inflammation, immunomodulation, and oxidative stress. *J Agric Food Chem*. 54(7): 2563-2566.

Ronco A, De Stefani E, Boffetta P, et al. (1999). Vegetables, fruits, and related nutrients and risk of breast cancer: a case-control study in Uruguay. *Nutr Cancer,* 35(2): 111-119.

Ronald R.E. (2008). *Vitamin analysis for the health and food sciences.* United States of American on acid-free paper.

Sherr CJ, et al. (1995). D-type cyclins. *Trends Biochem Sci,* 20(5): 187-190.

Sesso HD, Buring JE, Norkus EP, et al. (2004). Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. *Am J Clin Nutr,* 79(1): 47-53.

Sudjaroen,Y., Haubner, R.,W¨urtele, G., Hull,W.E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Changbumrung, S., Bartsch, H., & Owen, R.W. (2005). Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (Tamarindus indica L.) seeds and pericarp. *Food and Chemical Toxicology*, 43,1673–1682.

Stahl W, Sies H, et al. (1992). Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *J Nutr,* 122(11): 2161-2166.

Taveira M, Silva LR, Vale-silva LA, et al. (2010) Lycopersicon esculentum Seeds: An Industrial Byproduct as an Antimicrobial Agent. *J. Agric. Food Chem,* 58: 9529-9536.

Tsubono Y, Tsugane S, Gey KF, et al. (1999). Plasma antioxidant vitamins and carotenoids in five Japanese populations with varied mortality from gastric cancer. *Nutr Cancer,* 34(1): 56-61.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี

1. Nutrient agar (NA)

ประกอบด้วย

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
วุ้น	8	กรัม
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร

ชั่ง Nutrient agar จำนวน 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร **500** มิลลิลิตร นำไป **autoclaved** ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา **15** นาที จากนั้นรอให้อุ่น เทลง **plate** ที่ปราศจากเชื้อ **plate** ละ **25** มิลลิลิตร

2. Blood agar (BA)

ประกอบด้วย

Beef heart infusion	**500**	กรัม
Tryptone	**10**	กรัม
NaCl	**5**	กรัม
Agar	**20**	กรัม

ละลายส่วนประกอบต่างๆ ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร **1000** มิลลิลิตร นำไป **autoclaved** ที่ อุณหภูมิ **121** องศาเซลเซียส เป็นเวลา **15** นาที จากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิประมาณ **50** องศาเซลเซียส เติมเลือด **5 %** เขย่าให้เข้ากัน เทลง **plate** ที่ปราศจากเชื้อ **plate** ละ **25** มิลลิลิตร

3. Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

ประกอบด้วย

Peptone	**10**	กรัม
Glucose	**40**	กรัม
Agar	**15**	กรัม
น้ำกลั่น	**1000**	มิลลิลิตร

ชั่ง **SDA** จำนวน **65** กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร **1000** มิลลิลิตร นำไป **autoclaved** ที่อุณหภูมิ **121** องศาเซลเซียส เป็นเวลา **15** นาที จากนั้นรอให้อุ่น เทลง **plate** ที่ปราศจากเชื้อ **plate** ละ **25** มิลลิลิตร

4. **Mueller Hinton Agar (MHA)**

ประกอบด้วย

Mueller Hinton Agar	**38**	กรัม
น้ำกลั่น	**1000**	มิลลิลิตร

ชั่ง **MHA** จำนวน **38** กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร **1000** มิลลิลิตร นำไป **autoclaved** ที่อุณหภูมิ **121** องศาเซลเซียส เป็นเวลา **15** นาที จากนั้นรอให้อุ่น เทลง **plate** ที่ปราศจากเชื้อ **plate** ละ **25** มิลลิลิตร

5. **Mueller Hinton Broth**

ประกอบด้วย

Beef extract powder	**2**	กรัม
Acid digest of casein	**17.5**	กรัม
Solution starch	**1.5**	กรัม

ชั่ง **Mueller Hinton Broth** จำนวน **21** กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร **10** มิลลิลิตร นำไป **autoclaved** ที่อุณหภูมิ **121** องศาเซลเซียส เป็นเวลา **15** นาที

6. **0.85 % Normal Saline Solution**

ประกอบด้วย

NaCl	**0.85**	กรัม
น้ำกลั่น	**100**	มิลลิลิตร

ชั่ง **NaCl** จำนวน **0.85** กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร **100** มิลลิลิตร จากนั้นนำไป **autoclaved** ที่อุณหภูมิ **121** องศาเซลเซียส เป็นเวลา **15** นาที

7. **0.1 g/mL Vitamin C**

ประกอบด้วย

Vitamin C	**1**	กรัม
น้ำกลั่น	**10**	มิลลิลิตร

ชั่ง **Vitamin C** จำนวน **1** กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร **10** มิลลิลิตร

8. 3M H_2SO_4

ประกอบด้วย

H_2SO_4	**11.20**	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	**88.80**	มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายกรดซัลฟิวริก **11.20** มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น **88.80** มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข
การตรวจหายาฆ่าแมลงในมะเขือเทศ

วัสดุ-อุปกรณ์

1.	ขวดพลาสติก (สำหรับสกัด)	1	ขวด
2.	หลอดทดสอบชนิดแก้ว	1	ขวด
3.	หลอดทดสอบชนิดพลาสติก	2	ขวด
4.	หลอดหยดขนาด 3 cc.	3	อัน
5.	บีกเกอร์	1	อัน

สารเคมี

1.	น้ำยาสกัด	1	ขวด
2.	น้ำกลั่น	1	ขวด
3.	น้ำยาทดสอบ 1	1	ขวด
4.	น้ำยาทดสอบ 2	1	ขวด
5.	น้ำยาทดสอบ 3	1	ขวด

วิธีการทดสอบ

1. หั่นผักหรือผลไม้ที่จะทดสอบให้เป็นชิ้นเล็กๆใส่ลงในขวดตัวอย่างให้ได้ 3 ขีดของขวด
2. เติมน้ำยาสกัด 6 ซีซี.ปิดผาขวดให้แน่น เขย่าแรงๆประมาณ 2 นาที
3. ค่อยๆเปิดฝาขวด รินน้ำยาสกัดลงในหลอดแก้วจนหมด
4. จุ่มหลอดแก้วลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำอุ่นอยู่ประมาณครึ่งแก้ว เพื่อระเหยน้ำยาสกัดออก
5. ขณะรอน้ำยาสกัดระเหย เติมน้ำกลั่น 1 ซีซี.ลงในขวดน้ำยาทดสอบ 1ตั้งทิ้งไว้
6. แกว่งหลอดที่จุ่มอยู่ในบีกเกอร์น้ำอุ่นจนน้ำยาสกัดเหลือประมาณ 1 หยด ยกออกหมุนจนหลอดแห้ง
7. เติมน้ำยาทดสอบ 2 ลงในหลอดแก้วข้อ 6 และหลอดควบคุม หลอดละ 3 ซีซี.
8. เติมน้ำยาทดสอบ 1 ที่เตรียมไว้ลงในหลอดแก้วและหลอดควบคุม หลอดละ 2 หยด เขย่าและตั้งทิ้งไว้
9. รินน้ำยาออกจากหลอดแก้วลงในขวดพลาสติก (หลอดตัวอย่าง)
10. เติมน้ำยาทดสอบ 3 ลงในหลอดตัวอย่างและหลอดควบคุม หลอดละ 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน จับเวลา สังเกตสีที่เกิดขึ้นที่เวลา 5 นาทีพอดี

การอ่านผล

อ่านผลการทดสอบสีสารละลายที่เกิดขึ้นในหลอดตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับสีของหลอดควบคุม

หลอดควบคุม	สีส้มเข้ม	แปลผล ปลอดภัย

การแปลผล

สีส้มเข้มเหมือนหลอดควบคุม	ปลอดภัย
สีส้ม ปน ชมพู	ไม่ปลอดภัย
สีชมพู	ไม่ปลอดภัยมาก