

ฤทธิ์นอกกายของสารสกัดผลมะเขือเทศสีดาและผลมะเขือเทศราชินีในการต้านจุลชีพก่อโรค

นิรมล ธรรมวิริยาสติ^{1*}, นันทา कुหมคคะ^{2,3}, พฤษภา อินนอ², จิราพร จรอนันต์¹

¹สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

²สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

³สาขาวิชาโภชนาการคลินิก ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

In Vitro Antimicrobial Activities of Natural Extracts of Sida Tomato and Cherry Tomato against Microbial Pathogens

Niramon Thamwiriyasati^{1*}, Nanta Khumkhana^{2,3}, Pruksa Innok², Chirapond Chonant¹

¹Division of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University

²Division of Medical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University

³Division of Nutrition, Department of Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

หลักการและวัตถุประสงค์: โภชนาการของผลมะเขือเทศอุดมไปด้วยคุณค่าต่อสุขภาพ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดต่อการต้านจุลชีพที่เด่นชัด ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดผลมะเขือเทศราชินีและผลมะเขือเทศสีดาที่สกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* และ *Candida tropicalis*

วิธีการศึกษา: ทดสอบความไวของเชื้อต่อสารสกัดผลมะเขือเทศด้วยวิธี Broth Tube Dilution โดยเจือจางสารสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เดิมเชื้อที่มีความเข้มข้นมาตรฐานลงในหลอดที่ความเข้มข้นของสารสกัดต่างๆ บ่มเชื้อข้ามคืน อ่านค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งความขุ่นในการเจริญของเชื้อ แสดงเป็นค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration)

ผลการศึกษา: สารสกัดผลมะเขือเทศราชินีและผลมะเขือเทศสีดาด้วยน้ำปราศจากเชื้อแสดงฤทธิ์ยับยั้ง *S. pyogenes* ได้ใกล้เคียงกัน มีค่า MIC เท่ากับ 25 และ 22.5 กรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ สารสกัดผลมะเขือเทศสีดาด้วยเอทานอลยับยั้ง

Background and Objective: The tomato fruits possess vital nutrients for health. However, there was no report about antimicrobial activity of their extracts. The objective of this research was to study the antimicrobial activities of sterilized water and ethanol extracts of Cherry tomato and Sida tomato on six microbes including *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Candida tropicalis*.

Material and Method: Antimicrobial susceptibility was examined by Broth Tube Dilution Method. Dilutions of the extracts were made in a liquid medium which was inoculated with a standardized number of microbes and incubated overnight. Read the lowest concentration of tube extract preventing appearance of turbidity is considered to be the minimal inhibitory concentration (MIC).

Results: The aqueous extract of Cherry tomatoes and Sida tomatoes could inhibit only *S. pyogenes*, with MIC of 25 and 22.5 g/mL, respectively. For the six pathogens studied, ethanolic extract of Sida tomato inhibited *S. pyogenes* best, followed by *P. aeruginosa*, *E. coli* and *C. tropicalis*, with MIC values of 0.3, 0.6, 0.7 and 0.83 g/mL,

*Corresponding Author: Niramon Thamwiriyasati, Division of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University Email: niramon@buu.ac.th

S. pyogenes ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 0.3 กรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *C. tropicalis* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.6, 0.7 และ 0.83 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดมะเขือเทศราชินีด้วยเอทานอลแสดงฤทธิ์ยับยั้ง *P. aeruginosa* และ *S. pyogenes* มีค่า MIC เท่ากับ 0.6 และ 0.7 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สรุป: ประสิทธิภาพในการสกัดผลมะเขือเทศสุกสดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งจุลชีพก่อโรคที่สำคัญบางชนิดได้ดี และหลากหลายกว่าการสกัดด้วยน้ำ

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านจุลชีพ, มะเขือเทศราชินี, มะเขือเทศสีดา, สารสกัดธรรมชาติ

ศรีนครินทร์เวชสาร 2560; 32(4): 359-65. • Srinagarind Med J 2017; 32(4): 359-65.

บทนำ

ปัจจุบันยาด้านจุลชีพที่สังเคราะห์ขึ้นก่อให้เกิดอาการข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์แก่ผู้ป่วยที่ได้รับยา และพฤติกรรมการใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่เหมาะสมส่งผลให้เชื้อก่อโรคหลายชนิดมีแนวโน้มดื้อยาเพิ่มขึ้น ตัวอย่างเช่น แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* โรคติดต่อจากเชื้อดื้อยาหลายชนิดจึงเป็นปัญหาทางการแพทย์ในการพัฒนาตัวยาและแนวทางป้องกันการดื้อยาของเชื้อมากยิ่งขึ้น¹ ปัจจุบันจึงมีการศึกษาผลของการต้านจุลชีพของสารสกัดที่ได้จากผักผลไม้และพืชสมุนไพร ซึ่งพบได้จำนวนมากและหลากหลายชนิดในประเทศไทย เพื่อประยุกต์ใช้แทนยาปฏิชีวนะโดยเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่ง² โดยเฉพาะผักผลไม้ที่มีวิตามินซีสูงและนิยมรับประทานสดหรือคั้นเป็นน้ำผลไม้ เช่น ฝรั่ง ส้ม องุ่น และเลมอน ซึ่งพบว่าวิตามินซีและสารไฟโตเคมีคอล เช่น สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ สามารถออกฤทธิ์ต้านจุลชีพที่ก่อโรคได้³

มะเขือเทศเป็นพืชล้มลุก ผลมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ผลดิบมีสีเขียว เมื่อสุกมีสีแดงอมส้มหรือแดงสด เป็นผักผลไม้ยอดนิยมแพร่หลายไปยังทุกทวีปของโลก⁴ สำหรับประเทศไทย ผลมะเขือเทศที่นิยมรับประทานสดและแปรรูปเป็นผลไม้อบแห้งและแช่อิ่มคือ มะเขือเทศราชินี หรือที่เรียกกันว่า มะเขือเทศเชอร์รี่ เป็นมะเขือเทศผลเล็กที่มีรสชาติหวานอมเปรี้ยว เนื้อแน่นมีกลิ่นหอม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme* และมะเขือเทศที่นิยมใช้เป็นเครื่องเคียงของอาหารรสจัด โดยเฉพาะส้มตำ อาหารประเภทผัดและน้ำพริก คือมะเขือเทศ

respectively. The ethanol extracts of Cherry tomato inhibited *P. aeruginosa* and *S. pyogenes*, with MIC of 0.6 and 0.7 g/mL, respectively.

Conclusion: The ethanolic extracts of natural tomato fruits demonstrated better inhibition to the tested important microbial pathogens rather than their aqueous extracts.

Keywords: Antimicrobial activity, Cherry tomato, Sida tomato, Natural extract

สีดา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Lycopersicon esculentum* Mill. จัดอยู่ในวงศ์ *Solanaceae* เช่นเดียวกัน⁵

ผลมะเขือเทศอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ ประกอบด้วยวิตามินและสารประกอบพฤกษเคมีหลายชนิด โดยเฉพาะวิตามินซีพบปริมาณ 12.7 มิลลิกรัม ต่อผลมะเขือเทศสด 100 กรัม ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ (ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ)⁶ มีการรายงานพบว่าวิตามินซีที่พบในผักผลไม้หลายชนิดมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบและมีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้⁷ สารประกอบพฤกษเคมีที่สำคัญในมะเขือเทศคือกลุ่มของฟลาโวนอยด์ที่พบได้ที่ผิวของผลมะเขือเทศ โดยเฉพาะไลโคปีนมีปริมาณ 2,573 ไมโครกรัม ต่อผลมะเขือเทศสด 100 กรัม เป็นสารที่พบได้ในมะเขือเทศมากกว่าผักผลไม้ชนิดอื่น⁸ รายงานการศึกษาเกี่ยวกับไลโคปีน พบว่า ไลโคปีนเป็นสารประกอบในกลุ่มแคโรทีนอยด์ เป็นรงควัตถุสีแดงที่พบได้ในผักผลไม้ที่มีสีแดง เช่น มะเขือเทศ มะละกอ และแตงโม เป็นสารสำคัญที่ช่วยป้องกันการเกิดมะเร็ง ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันชนิด LDL (low density lipoprotein) ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด⁹ ถึงแม้วิตามินซีสามารถพบได้ในผลมะเขือเทศเช่นเดียวกับผลไม้ชนิดอื่น แต่ปริมาณวิตามินซีที่พบยังมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มผลไม้ที่มีปริมาณวิตามินซีมากกว่า เช่น มะขามป้อม ฝรั่ง และส้ม¹⁰ และเมื่อรับประทานอยู่ในรูปมะเขือเทศอบแห้งจะทำให้ได้รับปริมาณวิตามินซีน้อยลง เนื่องจากกระบวนการอบแห้งและแช่อิ่มที่ใช้อุณหภูมิสูงสามารถทำลายวิตามินซีซึ่งสลายตัวได้ง่ายได้ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่ไม่สลายตัวง่ายเมื่อถูกความร้อนเป็นอีกองค์ประกอบหนึ่งที่น่าสนใจในสาร

สกัดจากผลมะเขือเทศเพื่อนำมาใช้ด้านจุลชีพ แต่การสกัดสารเหล่านี้จะต้องเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการแยก¹¹ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ของกลุ่มสารที่ละลายในน้ำ เช่น วิตามินซี และฤทธิ์ของกลุ่มที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ของสารสกัดจากผลมะเขือเทศต่อการต้านจุลชีพอย่างชัดเจน แม้ว่าจะมีการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ แต่เป็นการใช้ผงมะเขือเทศบดที่ละลายในน้ำมาทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพแบบ Agar diffusion test ที่เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ ดูผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจาก inhibition zone ที่เกิดขึ้น¹² ทำให้ไม่สามารถบอกค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อจุลชีพได้ อีกทั้งการทดสอบนี้จะไม่เหมาะสมสำหรับองค์ประกอบของสารที่มีคุณสมบัติในการแพร่ผ่านผิวหนังอาหารเลี้ยงเชื้อได้ไม่เต็ม¹³ ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่จะศึกษาผลของสารสกัดมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพก่อโรคชนิดต่างๆ โดยวิธี Broth dilution เพื่อยืนยันฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดที่ได้จากผลมะเขือเทศสุกสดและเป็นพื้นฐานในการพัฒนาตัวยาปฏิชีวนะทดแทนยาต้านจุลชีพที่มีในปัจจุบัน อีกทั้งยังชี้ให้เห็นถึงคุณค่าการรับประทานผักผลไม้สดที่มีคุณค่าทางโภชนาการต่อร่างกายอีกด้วย

วิธีการศึกษา

1. การสกัดสารจากผลมะเขือเทศสด

นำผลมะเขือเทศสีดา (*Lycopersicon esculentum* Mill.) และผลมะเขือเทศราชินี (*Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme*) ที่สุกแล้ว ทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งสุ่มซื้อมาจากตลาดและห้างสรรพสินค้าในเขตอำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี มาล้างด้วยน้ำด่างทับทิมเป็นเวลา 10 นาที เพื่อล้างสารพิษตกค้างจากยาฆ่าแมลง จากนั้นล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาดอีกครั้ง แล้วนำไปสกัดดังนี้

การสกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อ นำผลมะเขือเทศสุกมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ซึ่งน้ำหนัก 500 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำปราศจากเชื้อให้มีปริมาตรถึง 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดเท่ากับ 50 กรัม น้ำหนักต่อมิลลิลิตร จากนั้นบดมะเขือเทศด้วยโกร่งให้ละเอียด กรองด้วยผ้าขาวบาง และกระดาษกรอง เก็บตัวอย่างที่จะทดสอบไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

การสกัดด้วยเอทานอล นำผลมะเขือเทศสุกมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ซึ่งน้ำหนัก 500 กรัม เติมน้ำเอทานอลให้มีปริมาตร

ถึง 300 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนสารละลาย กรองด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ได้ระเหยเอาเอทานอลออกให้หมด แล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตร 300 มิลลิลิตรเท่าเดิม ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดที่ได้คือ 1.67 กรัม น้ำหนักต่อมิลลิลิตร เก็บตัวอย่างที่จะทดสอบไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

2. จุลชีพที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียและยีสต์ จำนวน 6 ชนิด ได้รับความอนุเคราะห์มาจากคณะสหเวชศาสตร์ สาขาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยบูรพา ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* และ *Candida tropicalis* ทำการยืนยันชนิดของเชื้อที่ได้รับด้วยผลการทดสอบทางชีวเคมี ตามมาตรฐานการวินิจฉัยเชื้อทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา¹⁴

3. การทดสอบฤทธิ์ด้านจุลชีพ

ทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งจุลชีพ (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) ด้วยวิธี Broth macrodilution ตามข้อกำหนดของ Clinical and Laboratory Standards Institute¹⁵ และ National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)¹⁶ โดยเชื้อจางสารละลายวิตามินซีให้มีความเข้มข้นในช่วง 0.06-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อให้มีความเข้มข้นในช่วง 25-50 กรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดมะเขือเทศด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้นในช่วง 0.6-1.67 กรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับจุลชีพที่ปรับเทียบความขุ่นลงในแต่ละหลอด บ่มเลี้ยงเชื้อข้ามคืน อ่านค่า MIC ของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์โดยดูความใสของหลอดที่ไม่มีเชื้อเจริญเทียบกับหลอดควบคุม

ทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากมะเขือเทศที่สามารถฆ่าจุลชีพได้ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC) โดยนำหลอดทดลองที่ให้ค่า MIC ขึ้นไป (หลอดทดลองที่อาหารเหลวใสเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า) มาเพาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ด้วยวิธีการ spread plate จากนั้นนำไปบ่มเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญหรือเกือบไม่พบการเจริญ (99.9% ของเชื้อถูกฆ่า หรือมีเชื้อเจริญน้อยกว่า 0.1% ของเชื้อเริ่มต้น) ทำการวิเคราะห์ซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษา

1. สารสกัดจากผลมะเขือเทศ

ผลมะเขือเทศสดที่สุกแล้ว เมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอล ได้สารสกัดที่มีลักษณะเป็นของเหลวใสและมีสีเหลืองใส ตามลำดับ (รูปที่ 1)

2. ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดผลมะเขือเทศและสารควบคุม (ตารางที่ 1)

ผลมะเขือเทศสุกสดทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศสีแดงและมะเขือเทศราชินี ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 แบบ คือน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอล รวมทั้งสารควบคุม (สารละลายวิตามินซี) ได้ถูกนำมาศึกษาการยับยั้งจุลชีพ 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* และ *Candida tropicalis* ผลการทดลองตามตารางที่ 1 พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลายวิตามินซีบริสุทธิ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* เท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *E. coli* มีค่า MIC เท่ากับ 0.045 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *C. albicans*

และ *C. tropicalis* มีค่า MIC เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เนื่องจากสารละลายมาตรฐานวิตามินซีมีฤทธิ์เป็นกรดอย่างแรง pH ประมาณ 2.4 สามารถรบกวนการทำงานของเชื้อ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ครอบคลุมทั้งแบคทีเรียยีสต์ และไวรัส⁷

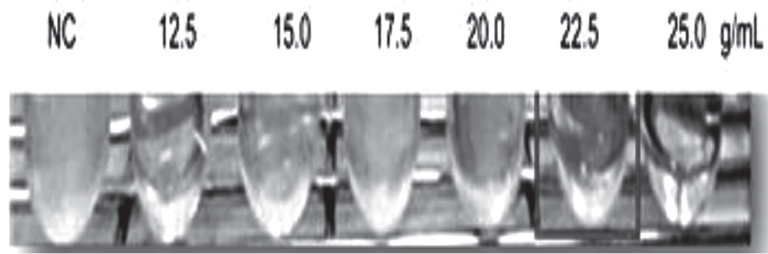
ผลของสารสกัดผลมะเขือเทศสุกในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพด้วยวิธี Broth Tube Dilution สามารถหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยั้งการเจริญของจุลชีพ (MIC) ได้ โดยพบว่าสารสกัดจากมะเขือเทศราชินีและมะเขือเทศสีแดงด้วยน้ำสามารถยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีค่า MIC เท่ากับ 25 และ 22.5 กรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ (รูปที่ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดมะเขือเทศด้วยน้ำสามารถฆ่าแบคทีเรียแกรมบวก *S. pyogenes* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคคออักเสบได้ MIC ในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. pyogenes* ของสารสกัดผลมะเขือเทศราชินีและมะเขือเทศสีแดงด้วยน้ำปราศจากเชื้อให้ผลใกล้เคียงกัน



รูปที่ 1 ลักษณะสีของสารสกัดที่ได้จากผลมะเขือเทศสุกสด ด้วยน้ำกลั่น (ซ้าย) และเอทานอล (ขวา)

ตารางที่ 1 ค่า MIC (กรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารสกัดผลมะเขือเทศและวิตามินซี (สารควบคุม)

ชนิดสารสกัด/ สารควบคุม	ตัวทำละลาย ที่ใช้ในการสกัด	ค่า MIC (กรัมต่อมิลลิลิตร)					
		<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
วิตามินซี	น้ำ	3×10^{-5}	3×10^{-5}	4.5×10^{-5}	3×10^{-5}	5×10^{-5}	5×10^{-5}
มะเขือเทศราชินี	น้ำ	> 50	25.0	> 50	> 50	> 50	> 50
	เอทานอล	> 1.67	0.70	> 1.67	0.60	> 1.67	> 1.67
มะเขือเทศสีแดง	น้ำ	> 50	22.5	> 50	> 50	> 50	> 50
	เอทานอล	> 1.67	0.30	0.70	0.60	> 1.67	0.83



รูปที่ 2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดมะเขือเทศสดด้วยน้ำต่อการยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus pyogenes* ด้วยวิธี Broth macrodilution

ผลของสารสกัดมะเขือเทศสดด้วยเอทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *C. tropicalis* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.3, 0.6, 0.7 และ 0.83 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดมะเขือเทศราชินี้ด้วยเอทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* และ *P. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 0.7 และ 0.6 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และพบความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลชีพ (MBC) ของสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยเอทานอล โดยสารสกัดจากมะเขือเทศสดด้วยเอทานอล มีค่า MBC ต่อเชื้อ *S. pyogenes* และ *P. aeruginosa* เท่ากับ 0.83 กรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดนี้สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *C. tropicalis* ได้เพียงแค่ชั่วคราว จึงไม่สามารถหาค่า MBC ต่อเชื้อได้เมื่อครบ 24 ชั่วโมง

วิจารณ์

จากการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพได้มากกว่าการสกัดด้วยน้ำ เนื่องจากตัวทำละลายเอทานอลประกอบด้วยไฮโดรคาร์บอน (CH_3CH_2) และหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ที่สามารถดึงและละลายสารประกอบฟีนอลในกลุ่มฟลาโวนอลที่บริเวณผิวของผลมะเขือเทศออกมาและละลายอยู่ในน้ำได้¹⁷ ทำให้การสกัดด้วยเอทานอลจะได้สารประกอบฟีนอลร่วมกับวิตามินซีซึ่งสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลชีพได้ดียิ่งขึ้น¹⁸ โดยสารเข้าไปรบกวนการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำปฏิกิริยากับโปรตีนทำให้เสียรูปร่างและหน้าที่ จึงออกฤทธิ์ได้กว้างขึ้นสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวก แกรมลบและยีสต์ได้¹⁹ อย่างไรก็ตาม พบความสามารถของสารสกัดที่ได้ในการยับยั้งจุลชีพได้ 4 สายพันธุ์ โดยเฉพาะความไวและการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคในช่องปาก เช่น *Streptococcus pyogenes* และ *Candida tropicalis* สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า ผลของโลโคป็นที่พบได้ในมะเขือเทศสามารถยับยั้งการอักเสบของเหงือกและ

การเกิดแผ่นคราบจุลินทรีย์หรือคราบพลัคซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคปริทันต์ได้²⁰ สารสกัดมะเขือเทศด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli* ซึ่งปนเปื้อนมากับอาหารทำให้อาหารเน่าเสีย สาเหตุของการก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและระบบทางเดินปัสสาวะ และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นเชื้อดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดในกลุ่ม multidrug resistant เช่น ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน²¹ และเป็นสาเหตุของการก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล เช่น การติดเชื้อบริเวณแผลไฟไหม้และน้ำร้อนลวก ความสามารถของสารสกัดมะเขือเทศในการยับยั้งเชื้อกลุ่มเหล่านี้อาจเป็นเพราะโครงสร้างของผนังเซลล์และโปรตีนที่ทำงานอยู่ภายในเซลล์จุลินทรีย์แตกต่างกัน¹⁴

ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพในการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดธรรมชาติที่ได้จากผลมะเขือเทศสุกสด โดยการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม และเมื่อระเหยตัวทำละลายออก สารสกัดที่ได้จะไม่ถูกความร้อน ทำให้สามารถลดการสลายตัวขององค์ประกอบที่ได้จากสารสกัด และการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารสกัดโดยวิธี Broth dilution ทำให้สามารถทราบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) และฆ่าจุลชีพ (MBC) ได้ชัดเจน ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้านี้ไม่สามารถกำหนดค่าเหล่านี้ได้เนื่องจากใช้การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธี Agar disk diffusion²² ซึ่งเป็นเพียงการประเมินฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อเบื้องต้น

MIC ในการยับยั้งแบคทีเรีย *S. pyogenes* ของสารสกัดผลมะเขือเทศราชินี้และมะเขือเทศสดด้วยน้ำปราศจากเชื้อและเอทานอลให้ผลใกล้เคียงกัน อาจเป็นเพราะมะเขือเทศทั้ง 2 สายพันธุ์มีปริมาณของวิตามินซีที่แตกต่างกันไม่มากนัก โดยมะเขือเทศสดมีรสชาติอมเปรี้ยวจากปริมาณของวิตามินซีที่มากกว่ามะเขือเทศราชินี้ นอกจากนี้ยังมีการรายงานถึงความเข้มข้นของวิตามินซีที่สกัดได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิว จำนวนและขนาดของลูก รวมทั้งกรรมวิธีในการสกัด ทำให้ได้ปริมาณของวิตามินและสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพแตกต่างกัน

ในแต่ละครั้งของการสกัด¹⁰ แต่พบประสิทธิภาพจากการสกัดผลมะเขือเทศสีดาที่ดีกว่ามะเขือเทศราชินีในการยับยั้งฆ่าเชื้อบางชนิดได้มากกว่า อาจเป็นเพราะปริมาณขององค์ประกอบของสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อโดยเฉพาะกลุ่ม oxidizing enzyme วิตามินซี และไลโคปีน มีปริมาณไม่เท่ากันในมะเขือเทศแต่ละสายพันธุ์²³ จึงควรทำการวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบที่สำคัญในการต้านจุลชีพของผลมะเขือเทศแต่ละสายพันธุ์เพิ่มเติม และมีการรายงานถึงปริมาณสูงสุดของสารเหล่านี้ในแต่ละตำแหน่งที่แตกต่างกันทั้งบริเวณผิวเปลือก เนื้อ และน้ำ ตามอัตราส่วนพื้นที่ของขนาดผลแต่ละลูก รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของ pH ของสารที่สกัด ล้วนส่งผลต่อการออกฤทธิ์ของสารในการฆ่าเชื้อทั้งสิ้น²⁴ ทำให้ผลในการยับยั้งเชื้อแตกต่างกันได้ จึงควรควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อฤทธิ์ต้านจุลชีพในการทดสอบ เช่น จำนวน ขนาดของผล น้ำหนัก และ pH ของสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ เพื่อให้ทราบถึงกลไกในการยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลชีพที่แน่ชัด รวมทั้งการสกัดโดยวิธีทางธรรมชาติอาจส่งผลให้มีการสูญเสียวิตามินซีได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Phillip และคณะ²⁴ ที่พบว่าเสถียรภาพของวิตามินซีจะลดลงในผัก ผลไม้สดปั่นแช่แข็งและการสกัดสารจากผักผลไม้สด ควรทำภายใต้ตัวกรองรังสียูวี ทั้งนี้เพื่อเป็นการป้องกันวิตามินซีไม่ให้เสื่อมสลาย

สรุป

ผลมะเขือเทศสดที่สุกแล้วทั้งชนิดสีดาและราชินีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลชีพได้ดี โดยสารสกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพได้ดีกว่าสารสกัดจากมะเขือเทศด้วยน้ำปราศจากเชื้อ สามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Streptococcus pyogenes* แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* และยีสต์ ได้แก่ *Candida tropicalis* ได้ ผลที่ได้เป็นการยืนยันฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากมะเขือเทศในด้านการต้านเชื้อราและแบคทีเรีย และแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของมะเขือเทศที่สามารถยับยั้งจุลชีพที่ก่อโรคได้ ซึ่งสารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้บางชนิดขึ้นอยู่กับปริมาณสารออกฤทธิ์ของสารที่สกัด จึงควรพัฒนาประสิทธิภาพในการสกัดเพื่อให้ได้องค์ประกอบของสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้สูงสุด หรือศึกษาทดสอบร่วมกับสารต้านจุลชีพอื่นที่สามารถเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งจุลชีพได้ดียิ่งขึ้น ประโยชน์ในการศึกษาของงานวิจัยชิ้นนี้สามารถนำไปพัฒนาคุณภาพของสารสกัดมะเขือเทศและประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ เช่น การถนอมอาหาร การแพทย์และสาธารณสุข

ด้านการรักษาและป้องกันโรคติดเชื้อ เป็นต้น เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเลือกใช้สารสกัดธรรมชาติแทนการใช้ยาปฏิชีวนะหรือสารเคมี ลดผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นต่อผู้บริโภค และส่งเสริมการบริโภคผักผลไม้สดเพื่อสุขภาพ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยบูรพา และขอขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับอุปกรณ์ และสถานที่ทำการศึกษาวิจัยตลอดโครงการ

เอกสารอ้างอิง

- Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1-12.
- Selvamohan T, Ramadas VS, Kishore SS. Antimicrobial activity of selected medicinal plants against some selected human pathogenic bacteria. *J Adv Appl Sci Res* 2012; 3: 3374-81.
- Oikeh EI, Omoregie ES, Oviasogie FE, Oriakhi K. Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates. *Food Sci Nutr* 2016; 4: 103-9.
- Sarah CD, Sandra K, Iris EP. Taxonomy of tomatoes in the Galápagos Islands: Native and introduced species of *Solanum* section *Lycopersicon* (*Solanaceae*). *J Syst Biodivers* 2003; 1: 29-53.
- D'Arcy WG. The classification of the Solanaceae. In: Hawkes JG, Lester RN, Skelding AD, editors. *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. London: Academic Press; 1979; 3-47.
- Dilis B, Trichopoulou A. Antioxidant intakes and food sources in Greek adults. *J Nutr* 2010; 140: 1274-79.
- Ericsson Y, Lundbeck H. Antimicrobial effect *in vitro* of the ascorbic acid oxidation. I. Effect on bacteria, fungi and viruses in pure cultures. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 1955; 37: 493-506.
- Alda LM, Gogoasa I, Bordean D, Gergen I, Alda S, Moldovan C, et al. Lycopene content of tomatoes and tomato products. *J Agroalimentary Process and Technologies*, 2009; 15: 540-2.
- Kong K, Khoo H, Prasad KN, Ismail A, Tan C, Rajab N F. Revealing the power of the natural red pigment lycopene. *Molecules* 2010; 15: 959-87.
- Wokes F, Organ JG, Duncan J, Jacoby FC. Apparent vitamin C in foods. *Biochem J* 1943; 37: 695-02.

11. Takeoka GR, Dao L, Flessa S, Gillespie DM, Jewell WT, Huebner B, et al. Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 3713-7.
12. AL-Oqailli RM, Istabreq BM, Salman MA. *In vitro* antibacterial activity of *Solanum lycopersicum* extract against some pathogenic bacteria. *Food Sci Qual Manage* 2014; 27: 12-7.
13. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda S K. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review *J Pharm Anal* 2016; 6: 71-9.
14. Janwithayanuchit I, Rangsipanurat W. Medical bacteriology. Bangkok: Chulalongkorn University; 2008.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard—ninth edition. CLSI M07-A9; 2012.
16. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. NCCLS document M27-A. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1997.
17. Naczek M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal* 2006; 41: 1523-42.
18. Redfern J, Kinninmonth M, Burdass D, Verran J. Using soxhlet ethanol extraction to produce and test plant material (essential oils) for their antimicrobial properties. *J Microbiol Bio Educ* 2014; 15: 45-6.
19. Sung WS, Lee IS, Lee DG. Damage to the cytoplasmic membrane and cell death caused by lycopene in *Candida albicans*. *J Microbiol Biotechnol* 2007; 17: 1797-804.
20. Chandra RV, Prabhuji ML, Roopa DA, Ravirajan S, Kishore HC. Efficacy of lycopene in the treatment of gingivitis: a randomised, placebo-controlled clinical trial. *J Nutr* 2008; 138: 49-53.
21. Anderson KN, Kennedy RP, Plorde JJ, Shulman JA, Petersdorf RG. Effectiveness of ampicillin against gram-negative bacteria. *In vitro* and *in vivo* studies of a new antibiotic. *JAMA* 1964; 187: 555-61.
22. Omodamiro OD, Amechi U. The phytochemical content, antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities of *Lycopersicon esculentum* (tomato). *Asian J Plant Sci Res* 2013; 3: 70-81.
23. Wokes F, Organ JG. Oxidizing enzymes and vitamin C in tomatoes. *Biochem J* 1943; 37: 259-65.
24. Phillips KM, Tarrgo-Trani MT, Gebhardt SE, Exler J, Patterson KY, Haytowitz DB, et al. Stability of vitamin C in frozen raw fruit and vegetable homogenates. *J Food Compost Anal* 2010; 23: 253-9.

