สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว (*Citrus grandis*)

นายพีรชา จารุพรชัย

นางสาววรนิษฐา หุ่นทอง

ปพ.
พ791ป
2549

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 72598
วัน,เดือน,ปี 20 มิ.ย. 2550

b 11769827
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Antioxidant and Antimicrobial Activities of Crude Extract from Pomelo Albedo (*Citrus grandis*)

Mr. Peeracha Jarupornchai

Miss Woranittha Hoonthog

A Special Project Submitted in Partial of the Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2006

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานเรื่อง	ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว (*Citrus grandis*)
นักศึกษา	นายพีรชา จารุพรชัย รหัสนักศึกษา 46050132
	นางสาววรนิษฐา หุ่นทอง รหัสนักศึกษา 46050160
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2549
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. ลินจง สุขลำภู
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.จิตติ ท่าไว

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ. สุขใจ ชูจันทร์	
กรรมการ	ผศ.ลินจง สุขลำภู	
กรรมการ	ดร. จิตติ ท่าไว	

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	ประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว (*Citrus grandis*)
นักศึกษา	นายพีรชา จารุพรชัย
	นางสาววรนิษฐา หุ่นทอง
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2549
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. ลินจง สุขลำภู
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. จิตติ ท่าไว

บทคัดย่อ

จากการเตรียมสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว 3 สายพันธุ์ในประเทศไทย (ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดี) โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าได้ผลผลิตทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากพันธุ์ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดีคิดเป็น 7.24 7.87 และ 7.99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้โดยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดหยาบจากพันธุ์ขาวน้ำผึ้งมีประสิทธิภาพสูงสุดในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50} = 0.04 ไมโครกรัมของสารสกัดหยาบต่อมิลลิลิตรของ DPPH) และรองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากพันธุ์ทองดี (IC_{50} = 3.75 ไมโครกรัมของสารสกัดหยาบต่อมิลลิลิตรของ DPPH) และขาวแตงกวา (IC_{50} = 200 ไมโครกรัมของสารสกัดหยาบต่อมิลลิลิตรของ DPPH) จากการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทางอาหาร 7 ชนิด และยีสต์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย 2 ชนิด ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบที่ได้โดยวิธี Ncutral red assay พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เยื่อบุลำไส้เล็กของหนู (IEC6) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Antioxidant and Antimicrobial Activities of Crude Extract from Pomelo Albedo (*Citrus grandis*)
Name	Mr. Peeracha Jarupornchai
	Miss Woranittha Hoonthog
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic year	2006
Special Project advisor	Assist. Prof. Linchong Suklampoo
Special Project co-advisor	Dr. Chitti Thawai

Abstract

The crude extracts from three pomelo albedo varieties (Khao Tang Kwa, Khao Nam Peung and Thong Dee) in Thailand were prepared by using 95% ethanol and the production yields of crude extracts from Khao Tang Kwa, Khao Nam Peung and Thong Dee were 7.24, 7.87 and 7.99%, respectively. The antioxidant activities of the crude extracts were determined according to DPPH radical scavenging assay. The results showed that the crude extracts from Khao Nam Peung showed the highest in antioxidant activity (IC_{50} = 0.04 µg/mL), followed by Thong Dee (IC_{50} = 3.75 µg/mL) and Khao Tang Kwa (IC_{50} = 200 µg/mL). Antimicrobial activities of the crude extracts were tested on seven food borne pathogenic bacteria and two spoilage yeast using agar disc diffusion method. It was found that crude extracts from three pomelo varieties were inactive against all the tested microbial strains. Cytotoxicity of crude extracts were evaluated by using Neutral red assay and the results indicated that the three samples of crude extracts from pomelo were non-cytotoxic to rat small intestine epithelial cell (IEC6) at concentration of 20 mg/mL.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาและคำแนะนำจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผ.ศ. ลินจง สุขลำภู ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้ามีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากอาจารย์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. สุขใจ ชูจันทร์ ประธานกรรมการสอบปริญญานิพนธ์ ผศ.ลินจง สุขลำภู และ ดร.จิตติ ท่าไว กรรมการสอบปริญญานิพนธ์ รวมทั้งให้คำแนะนำ ตรวจสอบข้อชี้แนะในการแก้ไขปริญญานิพนธ์ให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาคชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกในด้านการติดต่อประสานงาน และอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์และสารเคมี

ขอขอบคุณเพื่อน พี่ และน้องทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

คณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	3
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน	5
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 อนุมูลอิสระ (Free Radical)	6
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	7
2.3 สารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds)	9
2.4 แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับอาหาร	21
2.5 ยีสต์ที่มีความสำคัญในอาหาร	36
2.7 ส้มโอ (*Citrus grandis*)	38
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 สารเคมี	42
3.2 วัตถุดิบและอุปกรณ์	42
3.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ	43
3.4 วิธีการทดลอง	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลผลิตและคุณลักษณะของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว (*Citrus grandis*) 47

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกส้มโอเบื้องต้น 47

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกส้มโอโดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay 48

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอ 3 สายพันธุ์ 52

4.5 ตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอในแต่ละพันธุ์ 53

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 55

เอกสารอ้างอิง 56

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก 60

ภาคผนวก ข 61

ภาคผนวก ค 62

ภาคผนวก ง 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของ อนุมูลอิสระ 6

ตารางที่ 2.2 การแบ่งกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและแหล่งที่พบ 11

ตารางที่ 2.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ในส่วนที่กินได้ของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ 14

ตารางที่ 2.4 พืชชนิดหลักที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ 19

ตารางที่ 2.5 อาหารที่พบว่าสามารถเป็นสาเหตุการเกิดโรคซัลโมแนลโลซิส ในสหรัฐอเมริการะหว่างปี ค.ศ. 1973 – 1987 25

ตารางที่ 2.6 ปริมาณ สารต้านอนุมูลอิสระและสารฟีนอลิกทั้งหมดที่พบใน ส่วนต่างๆ ของส้มโอ 41

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบ จากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ทองดี ขาวแตงกวา และขาวน้ำผึ้ง 49

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์จากสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว พันธุ์ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดี 50

ตารางที่ 4.3 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดี 51

ตารางที่ 4.4 ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เมื่อใช้สารสกัดหยาบ ที่ความเข้มข้น 8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ส่วนของเปลือกผลส้มโอ 38

รูปที่ 4.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นโดยวิธี TLC Screening Assay ของสารสกัดหยาบของส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา 47

รูปที่ 4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นโดยวิธี TLC Screening Assay ของสารสกัดหยาบของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง 48

รูปที่ 4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นโดยวิธี TLC Screening Assay ของสารสกัดหยาบของส้มโอพันธุ์ทองดี 48

รูปที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ของ quercetin และสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอ 3 สายพันธุ์ 51

รูปที่ 4.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ IEC6 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

อนุมูลอิสระ (Free Radical) คือ โมเลกุลที่มีธาตุไม่มั่นคงเนื่องจากขาดอิเล็กตรอนไป 1 ตัวปกติแร่ธาตุในร่างกายของเราจะมีอิเล็กตรอนอยู่วงรอบเป็นจำนวนคู่ ทำให้โมเลกุลนั้นคงตัว แต่ในกรณีที่มีการสูญเสียอิเล็กตรอน หรือรับอิเล็กตรอนมาอีกเพียง 1 ตัวมีผลทำให้โมเลกุลนั้นไม่มั่นคง เมื่อเจอโมเลกุลอื่นๆ ก็จะแย่ง อิเล็กตรอนมาจากโมเลกุลนั้น 1 ตัว ตัวที่ถูกแย่งอิเล็กตรอนก็จะกลายเป็นตัวที่ไม่มั่นคง ต้องไปแย่งเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงต่อๆ กันไป กลายเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ การเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระในร่างกาย จึงเป็นผลทำให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ของอวัยวะของร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผนังเซลล์ ส่งผลทำให้เซลล์ตายหรือทำงานไม่ได้ และอาจถึงขั้นเกิดมะเร็ง (http://www.thaiclinic.com/antioxidant.html)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารสูญเสียคุณลักษณะทางกายภาพและทางเคมีได้เร็วยิ่งขึ้น ลักษณะของการเสียเช่น คุณภาพของอาหารเสื่อม เกิดการเหม็นหืน อาหารมีสีผิดปกติ กลิ่น รสและลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป คุณค่าทางอาหารลดลง และบางครั้งอาจมีสารที่เป็นอันตรายต่อร่างกายเกิดขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระจะประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่ำๆ โดยสามารถชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสาร (substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา สาร (substrate) เหล่านี้รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต แต่อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบแอนตี้ออกซิแดนท์จะจัดการได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่างๆ ต่อผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนั้นการใช้สารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มเข้าไปในตัวผลิตภัณฑ์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยในการชะลอกิจกรรมของอนุมูลอิสระในการทำให้อาหารเน่าเสียและก่อให้เกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจ (http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) สามารถพบได้ทั่วไปในพืช สารเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในด้านประสาทสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการ และมีส่วนเกี่ยวข้องกับ สี กลิ่น และรส ของพืชชนิดต่าง ๆ เมื่อไม่นานมานี้สารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะสาร flavonoid ได้รับความสนใจอย่างแพร่หลาย เนื่องมาจากมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของคนในยุค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันเป็นอย่างมาก (Imeh และ Khokhar, 2002; Ross และ Kasum, 2002)

ความสนใจของนักวิทยาศาสตร์ต่อการศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลจากพืชมีมานานแล้ว ดังจะเห็นได้จากการนำสารประกอบฟีนอลประเภทต่างๆ มาใช้ประโยชน์ในลักษณะของสารฟอกสี (tanning agents) ในกระบวนการผลิตกระดาษ สี และเครื่องสำอาง ตลอดจนการใช้ในลักษณะของสีธรรมชาติ (natural colorants) หรือสารป้องกันการเสื่อมเสีย (preservatives) ในอุตสาหกรรมอาหาร แต่ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่กำลังหันมาให้ความสนใจกับคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลมากเป็นพิเศษ

ได้มีรายงานวิจัยที่ศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งจุลินทรีย์ จากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น Shon และคณะ (2004) ได้มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของหัวหอมใหญ่ 3 สายพันธุ์ด้วยการวัดความยาวคลื่นแสงของตัวอย่างเมื่อผสมตัวอย่างที่ละลายในเอทานอลและสาร DPPH (2,2 - diphenyl-picrylhydrazyl) ลงไปในอัตราส่วน 5.5 : 1 และบ่มไว้ในที่มืด 15 นาที และวัดความยาวคลื่นแสงที่ 517 นาโนเมตร พบว่าที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดจากหัวหอมสามารถจับอนุมูลอิสระของ DPPH ได้สูงถึง 85 เปอร์เซ็นต์ และในงานวิจัยของ Chang และคณะ (2006) ได้รายงานคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในมะเขือเทศที่ผ่านวิธีการทำแห้ง 2 วิธีคือ การใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven) และการใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) พบว่าประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระของมะเขือเทศที่ใช้วิธีการทำแห้งแบบแช่แข็งให้ผลที่ดีกว่าอย่างเห็นได้ชัด

พืชตระกูลส้มเป็นผลิตผลที่มีกำลังในการผลิตทั่วโลก ประมาณ 80 ล้านตันต่อปี ส่วนใหญ่มักนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร รวมไปถึงน้ำผลไม้หรือเครื่องที่มีส่วนผสมของพืชตระกูลส้มเป็นหลัก (Spiegel-Roy และ Goldschmidt,1996) พืชตระกูลส้มมีส่วนที่เป็นของเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมอยู่มาก สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น อาหารสัตว์ เส้นใยอาหาร และนำไปผลิตเชื้อเพลิง (Bocco และคณะ, 1998) เมื่อไม่นานมานี้มีการศึกษาพบว่า ของเหลือทิ้งทางการเกษตรบางประเภทสามารถนำมาใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้ โดยเฉพาะพืชตระกูลส้มเมื่อนำมาศึกษาแล้วพบว่ามีสาร flavonoid อยู่เป็นจำนวนมาก (Bocco และคณะ, 1998; Manthey และ Grohmann, 2001; Llorach และคณะ, 2003; Wolfe และคณะ, 2003)

ส้มโอ (Pomelo) เป็นไม้ผลที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีรสชาติดี มีรสหวานหรือหวานอมเปรี้ยวขึ้นอยู่กับพันธุ์และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ อีกทั้งส้มโอเป็นผลไม้ที่มีเปลือกหนา ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นานโดยไม่เสียคุณภาพทนทานต่อการกระทบกระเทือนระหว่างขนส่งได้ในระยะทางไกล โดยเฉพาะการส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจึงเป็นผลไม้อีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการส่งเสริมให้เกษตรกรผลิตเพื่อการส่งออก สารอาหารที่มีอยู่ในเปลือกของส้มโอนั้นประกอบไปด้วยวิตามินอี วิตามินซี สารประกอบฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ในปัจจุบันนี้ได้มีการใช้สารเหล่านี้ในวงการอุตสาหกรรมกันอย่างแพร่หลายเพื่อใช้ประโยชน์ในการเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารเอาไว้ เช่น วิตามินอีใช้ในอุตสาหกรรมนม วิตามินซีใช้ในอุตสาหกรรมแยม ทั้งนี้ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายเป็นเพราะว่าสารเหล่านี้เองไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายและไม่มีผลข้างเคียงจากการใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน (http://www.doa.go.th/pl_data/PUMMELO/1stat/st01.htm!)

พันธุ์ส้มโอที่ปลูกอยู่ในประเทศไทยมีหลายพันธุ์ บางพันธุ์ก็มีลักษณะใกล้เคียงกันแต่ปลูกคนละท้องที่ จึงเรียก ชื่อแตกต่างกันไป พันธุ์ส้มโอที่ปลูกเพื่อการค้าแบ่งออกเป็น พันธุ์การค้าหลัก ได้แก่ ขาวพวง ขาวทองดี ขาวน้ำผึ้ง เป็นต้น และพันธุ์การค้าเฉพาะแห่ง ได้แก่ ขาวแป้น ขาวหอม ขาวแตงกวา ท่าข่อย ขาวใหญ่ หอมหาดใหญ่ เจ้าเสวย กรุ่น ขาวแก้ว เป็นต้น

เนื่องจากข้อมูลงานวิจัยด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ในประเทศไทยให้ความสนใจในพืชสมุนไพร ผักพื้นบ้าน แต่งานวิจัยที่ใช้ส่วนเปลือกของส้มโอในประเทศไทยยังมีการศึกษาน้อยมาก นอกจากนี้เปลือกส้มโอยังเป็นของเหลือทิ้งที่มีการนำไปใช้ค่อนข้างน้อย ในการทดลองนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาเบื้องต้นถึงความเป็นไปได้ในการใช้เปลือกส้มโอส่วนสีขาว (albedo) ที่เหลือจากการบริโภคผลสดเป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอบางสายพันธุ์ แล้วนำสารสกัดแห้งที่ได้มาศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคและการเน่าเสียของอาหาร ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์จากเปลือกส้มโอได้อีกทางหนึ่ง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 เพื่อสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอ (*Citrus grandis*) ส่วนสีขาว (อัลบิโด) พันธุ์ทองดี ขาวแตงกวา และขาวน้ำผึ้ง

1.2.2 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์

1.2.3 ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและยีสต์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียในอาหารของสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์

1.2.4 ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมของสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอ (*Citrus grandis*) พันธุ์ทองดี ขาวแตงกวาและขาวน้ำผึ้ง จากนั้นนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สารสกัดแห้งที่ได้นำไปศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษรวมทั้งยีสต์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียในอาหารบางชนิด และตรวจสอบเป็นพิษของสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เป็นการเพิ่มการใช้ประโยชน์จากส่วนเหลือทิ้งจากการบริโภคส้มโอ

1.4.2 เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เปลือกส้มโอสายพันธุ์ในประเทศไทย เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารธรรมชาติ ที่อาจมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดออกซิเดชัน และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพิ่มอายุการเก็บรักษาของอาหาร

1.4.3 เพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้บริโภคโดยการใช้สารสกัดจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการยืดอายุการเก็บของอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

ขั้นตอนการดำเนินงาน	เดือนที่											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. เตรียมวัตถุดิบเพื่อสกัดสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอ	→											
2. สกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้งและทองดี		→										
3. ศึกษาประสิทธิภาพของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอ			→		→							
4. ศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหารบางชนิด					→		→		→			
5. ตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอในแต่ละพันธุ์									→	→		
6. รวบรวมข้อมูลและทำรายงาน											→	→

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 อนุมูลอิสระ (Free Radical)

อนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลที่มีธาตุไม่มั่นคงเนื่องจากขาดอิเล็กตรอนไป 1 ตัว ปกติแร่ธาตุในร่างกายของเราจะมีอิเล็กตรอนอยู่วงรอบเป็นจำนวนคู่ ทำให้โมเลกุลนั้นคงตัว แต่ในกรณีที่มีการสูญเสียอิเล็กตรอน หรือรับอิเล็กตรอนมาอีกเพียง 1 ตัวมีผลทำให้โมเลกุลนั้นไม่มั่นคง เมื่อเจอโมเลกุลอื่นๆ ก็จะแย่ง อิเล็กตรอนมาจากโมเลกุลนั้น 1 ตัว ตัวที่ถูกแย่งอิเล็กตรอนก็จะกลายเป็นตัวที่ไม่มั่นคงต้องไปแย่งเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงต่อๆ กันไปกลายเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งตัวอย่างชนิดของอนุมูลอิสระดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของ อนุมูลอิสระ (http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html)

อนุมูลอิสระ	สูตรโมเลกุล
Superoxide anion radical	$O^{\bullet}_2$
Hydroxyl radical	$HO^{\bullet}$
Peroxide radical	$ROO^{\bullet}$
Peroxyl radical	$LOO^{\bullet}$
Hydrogen peroxide	H_2O_2
Ozone	O_3
Singlet oxygen	$\Delta\bullet O_2$
Hydrogen radical	$H^{\bullet}$
Methyl radical	$CH^{\bullet}_3$

การเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระในร่างกายของเรา เป็นผลทำให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ของอวัยวะของร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผนังเซลล์ ส่งผลทำให้เซลล์ตายหรือทำงานไม่ได้ หรือถึงขั้นเกิดมะเร็ง (http://www.thaiclinic.com/antioxidant.html)

ถ้าอนุมูลอิสระดังกล่าวนี้ไปทำปฏิกิริยา กับไลโปโปรตีน (lipoprotein) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ก็จะส่ง ผลให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการฉีกขาดมีการไหลของสารต่าง ๆ ออกนอกเซลล์ เซลล์นั้นก็จะตาย หรือโดนทำลายไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวนี้ที่เซลล์บริเวณเดียวกันหลายๆ เซลล์ ก็จะส่งผลให้เกิดการเสื่อมของอวัยวะที่เซลล์เหล่านั้น นอกจากอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยาได้กับเยื่อหุ้มเซลล์แล้ว ถ้าหากไปทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของอาร์เอ็นเอ (RNA) ในนิวเคลียส (nucleus) ของเซลล์ก็อาจทำให้เกิดความผิดปกติในกระบวนการแบ่งตัวและเจริญเติบโตของเซลล์ ก่อให้เกิดภาวะมะเร็ง (cancer) ที่อวัยวะต่างๆ ได้เช่นกัน และถ้าหากอนุมูลอิสระดังกล่าวทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของไลปิดเปอร์ออกไซด์ (lipidperoxide) หรือไลโปฟุสซิน (lipofuchin) ซึ่งเป็นตัวที่ทำให้เกิดฝ้าหรือกระแก่ ดังนั้นเมื่อมนุษย์มีอายุมากขึ้นเรามักจะพบความผิดปกติของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายอันเป็นผลสืบเนื่องจากความเสื่อมของเซลล์และอวัยวะต่าง ๆ ดังกล่าวนั้นนั่นเอง

ชนิดของอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของร่างกายเอง
2. อนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย ซึ่งสาเหตุมาจาก
   2.1 การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส
   2.2 การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุ (autoimmune diseses) เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ โรคเก๊าท์
   2.3 รังสี
   2.4 สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง
   2.5 การออกกำลังกายอย่างหักโหม

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

จากที่กล่าวมาแล้วว่าอนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมา ทั้งจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง และในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกาย เกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกันการโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง คือ ระบบแอนตี้ออกซิแดนท์ (antioxidants) ซึ่งประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่ำๆ สามารถจะชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสาร (substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาโดยสาร (substrate) เหล่านี้รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตามมีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบแอนตี้ออกซิแดนท์จะจัดการได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่างๆ ต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S - H และเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์และการทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(aging) และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (autoimmune disease) โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆ มาก่อน (reoxyge-nation injury, reperfusion injury) รวมไปถึงโรคมะเร็ง เป็นต้น

นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระยังมีคุณประโยชน์อย่างมากต่อระบบที่สำคัญต่าง ๆ ในร่างกายทั้ง 5 ระบบได้แก่ ระบบหลอดเลือดและหัวใจ ระบบภูมิคุ้มกัน กลุ่มเซลล์ประสาทที่ทำงานเฉพาะในสมอง การต่อต้านการเกิดโรคมะเร็งต่างๆ และการชะลอความชรา รวมทั้งกระบวนการต่าง ๆ ที่โดดเด่นในการปกป้องชีวิต ระบบต่าง ๆ เหล่านี้เกี่ยวข้องโดยตรงกับสุขภาพร่างกายของเรา ตัวอย่างเช่น โรคหัวใจที่เกิดจากการอุดตันของเส้นเลือดที่อาจเกิดขึ้นอย่างฉับพลัน ซึ่งบางทีอาจจะเกิดจากการสะสมสารต่าง ๆ ที่บริเวณหลอดเลือดทำให้ผนังหลอดเลือดถูกทำลาย ในกรณีโรคอื่นๆ เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) ความเสียหายที่เกิดขึ้นไม่สามารถตรวจสอบได้อย่างแน่ชัดว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเมื่อใด ความเสียหายที่เกิดขึ้นกับเซลล์ประสาทในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ อาจจะเกิดขึ้นมาเป็นระยะเวลานานแล้วหรืออาจจะก่อนที่จะมีใครสักคนเริ่มที่ตระหนักถึงปัญหานี้ (http://www.stkc.go.th/)

การทำลายโมเลกุลที่เป็นต้นเหตุการเกิดของอนุมูลอิสระเป็นกลไกการทำงานของระบบแอนตี้ออกซิแดนท์ที่สำคัญกลไกหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่อาศัยเอนไซม์หรือไม่ก็ได้

สารแอนตี้ออกซิแดนท์ที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่

- Superoxide dismutase (SOD)
- Catalase (CAT)
- Glutathione peroxidase (GPX)
- Glutathione reductase (GR)
- Glutathione S-transferase (GST)

ส่วนสารแอนตี้ออกซิแดนท์ที่พบในร่างกาย แต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่

Glutathione	Lipoic acid
Ceruloplasmin	Albumin
Transferrin	Haptoglobin
Hemopexin	Uric acid
Bilirubin	Cysteine

ส่วนสารแอนตี้ออกซิแดนท์ที่พบในอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่

- Tocopherols
- Carotenoids

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ascorbic acid, Steroids, Ubiquinones, Thiols, Inosine, Taurine, Pyruvate

Gallic acid, Flavonoids

Trolox, BHT, BHA

สารแอนตี้ออกซิแดนท์เหล่านี้จะทำลายอนุมูลอิสระ โดยการจับกับอนุมูลอิสระลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่

แหล่งอาหารที่สำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

วิตามินซี - ฝรั่ง ส้ม มะขามป้อม มะละกอสุก พริกชี้ฟ้าเขียว บร็อกโคลี ผักคะน้า ยอดสะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว

วิตามินอี - น้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดอัลมอนด์ จมูกข้าวสาลี

ซีลีเนียม - อาหารทะเล* ปลาทูน่า เนื้อสัตว์และตับ บะหมี่ ไก่ ปลา ขนมปังโฮลวีต

วิตามินเอ - ตับหมู ตับไก่ ไข่โดยเฉพาะไข่แดง น้ำนม พืชผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ

แคโรทีนอยด์ (บีตาแคโรทีน ลูทีน และไลโคฟีน) - ผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ

โดยอาหารทะเล ไข่แดง และเครื่องในสัตว์เป็นอาหารที่มีโคเลสเตอรอลสูง ไม่ควรกินเป็นประจำสำหรับผู้ที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง

2.3 สารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอล ประกอบด้วยสารที่มีโครงสร้างและหน้าที่แตกต่างกันเป็นจำนวนมากมาย จัดเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่ได้จากกระบวนการ Shikimate pathway และ Phenylpropanoid metabolism โดยทั่วไปโครงสร้างจะประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก อาจมีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่หรือมากกว่า พบในผักและผลไม้เป็นส่วนใหญ่ คนบางกลุ่มจัดสารประกอบเหล่านี้ว่าเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลแต่ก็ไม่ถูกต้องนัก เนื่องจากไม่ใช่ทั้งหมดที่เป็น polyhydroxy derivatives เช่น กรดซินนะมิก (cinnamic acid) อีลีโนลิ (elenolic) กรดชิคิมิก (shikimic acid) และกรดควินิก (quinic acid) ดังนั้นหากพิจารณาในแง่ของกระบวนการเมตาบอลิก สารดังกล่าวจึงควรจัดว่าเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิกแม้ว่าจะไม่มีหมู่ฟีนอลิก (phenolic group) หรือวงแหวนอะโรมาติกเป็นองค์ประกอบก็ตาม (Middleton Jr. และ Kandaswami, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสนใจของนักวิทยาศาสตร์ต่อการศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลจากพืชมีมานานแล้ว ดังจะเห็นได้จากการนำสารประกอบฟีนอลประเภทต่างๆ มาใช้ประโยชน์ในลักษณะของสารฟอกสี (tanning agents) ในกระบวนการผลิตกระดาษ สี และเครื่องสำอาง ตลอดจนการใช้ในลักษณะของสีธรรมชาติ (natural colorants) หรือสารป้องกันการเสื่อมเสีย (preservatives) ในอุตสาหกรรมอาหาร แต่ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ส่วนใหญ่กำลังหันมาให้ความสนใจกับคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลมากเป็นพิเศษ

โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลจะเกิดจาก การรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH group) โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) หรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharides) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) ก็ได้ แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลคือ กลูโคส (glucose) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นที่พบได้แก่ กาแลกโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ไซโรส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucoronic acid) กรดกาแลกทูโรนิก (galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้จังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกออื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acids) กรดอินทรีย์ (organic acids) อะมีน(amines) และไขมันอีกด้วย

2.3.1 ประเภทของสารประกอบฟีนอลิก

การแบ่งกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก สามารถแบ่งออกได้เป็นหลายกลุ่ม (class) ตามจำนวนคาร์บอนอะตอมและโครงสร้างหลัก (basic skeleton) ซึ่งในแต่ละกลุ่มยังสามารถแบ่งออกได้เป็นกลุ่มย่อย (subclass) ดังตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การแบ่งกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและแหล่งที่พบ (Robard และคณะ, 1999)

Basic skeleton	Class	Common fruit source	Examples
C_6	Simple phenols		Catechol, hydroquinone, resorcinol
	Benzoquinones		
C_6-C_1	Phenolic acids	Widely distribute	p-Hydroxybenzoic acid, Salicylic acid
C_6-C_2	Phenylacetic acids		p-Hydroxyphenylacetic acid
C_6-C_3	Cinnamic acids	Widely distributed	Caffeic acid, Ferulic acid
	Phenylpropenes		Eugenol, myristicin
	Coumarins	Citrus	Umbelliferone, aesculetin, scopolin
	Chromones		Eugenin
C_6-C_4	Naphtoquinones	Walnut	Juglone
C_6-C_1-C_6	Xanthones	Mango, Mangostin	mangiferin
C_6-C_2-C_6	Stilbenes	Grape	Resveratrol
	Anthraquinones		Emodin
C_6-C_3-C_6	Flavonoids		
	Flavones	Sweet orange	Sinensetin, nobiletin, tangeretin,
			Isoinensitin, various polymethoxylated
			Flavones
		Grapefruit	Tangeretin, various polymethoxylated
			Flavones
		Lemon	Diosmin, luteolin-7-rutinoside
	Flavonols	Apple	quercetin, kaempferol
		Pear	quercetin, kaempferol
	Flavonol		
	glycosides	Widely distributed	Rutin
	Flavanonols	Grape	Dihydroquercetin and
			Dihydrokaempferol glycosides
	Flavanones	Usually found in citrus	Hesperitin, naringenin
		fruits such as grapefruit,	
		oranges and lemons	
		Tomato	Naringenin
	Flavanone	Citrus	Hesperidin, neohesperidin, narirutin,
	glycosides		naringin, eriocitrin
		Strawberry	naringin
	Anthocyanins	Apple	Cyanidin glycosides including acylated

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การแบ่งกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและแหล่งที่พบ (ต่อ)

Basic skeleton	Class	Common fruit source	Examples
			Derivatives
		Sweet orange	Glycosides of pelargonidin, peonidin,
			Delphinidin, petunidin
		Grape	Glycosides of cyanidin, peonidin,
			Delphinidin, petunidin, malvidin
			Including acylated forms
		Pear	Cyanidin glycosides
		Cherry	Cyanidin 3-glucoside and 3-rutinoside
		Peach	Cyanidin glycosides
		Plum	Glycosides of cyanidin, peonidin
		Sweet cherry	Cyanidin glycosides
	Flvonols(catechins)	Apple	(+)-catechin, (-)-epicatechin
		Grape	(+)-catechin, (-)-epicatechin
			(+)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin
		Pear	(+)-catechin, (-)-epicatechin
		Peach	(+)-catechin, (-)-epicatechin
	Chalcones	Apple	Phloretin derivatives notably phloridzin
		Pear	Arbutin, phloretin glucoside
		Tomato	Chalconaringenin
$(C_6\text{-}C_3)_2$	Lignins		Pinoresinol
$(C_6\text{-}C_3\text{-}C_6)_2$	Biflavonoids		Agathisflavone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

2.3.2.1 พันธุ์ (Variety) ผลไม้แต่ละชนิดประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันไปทั้งชนิดและปริมาณเช่น ส้มมีเฮสเปอริดิน (hesperidin) และนาริรูทิน (narirutin) สูง แอปเปิ้ลมีคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) สูง เชอร์รี่มีแอนโธไซยานิน (anthocyanin) สูง ลูกพลัมมีแทนนิน (tannin) สูง พีชมีโพรไซยานิดิน (procyanidin) สูง เป็นต้น ส้มจัดเป็นผลไม้ที่ประกอบไปด้วยฟลาวาโนน (flavanone) เป็นจำนวนมากส่วนใหญ่ได้แก่ เฮสเปอริดินและนาริรูทิน (Albach และ Redman, 1969) นอกจากนั้นยังพบอนุพันธุ์ของกรดไฮดรอกซีซินนะมิก (hydroxycinnamic acid) (Risch และ Herrmann, 1988) และโพลีเมทธอกซีฟลาโวน (polymethoxyflavone) เช่น โนบิเลติน (nobiletin), แทงเจอเลติน (tangeretin), ซินเนนซีติน (sinensetin) เป็นต้น (Park และคณะ, 1983) สารประกอบฟีนอลิกดังกล่าวมีความสำคัญในการพัฒนาสี กลิ่น และรสในผลไม้ Kawaii และคณะ (1999) ได้รวบรวมปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ในส่วนที่กินได้ของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ ไว้ดังตารางที่ 2.3

2.3.2.2 ชนิดของเนื้อเยื่อ (Type of tissue) ภายในเนื้อเยื่อของผลไม้เองสารประกอบฟีนอลิกยังกระจายตัวไม่สม่ำเสมอเช่น ในระดับเนื้อเยื่อ (tissue level) ฟีนอลิกจะอยู่ที่ epidermal และ subepidermal layer ในขณะที่ในระดับเซลล์ (subcellular level) ฟีนอลิกจะอยู่ที่ผนังเซลล์และที่แวคิวโอล (Macheix และคณะ, 1990) และส่วนต่างๆ ของผลไม้ก็มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่ไม่เท่ากันโดยพบว่า ส่วนเปลือกของพืชตระกูลส้มจะมีมากกว่าส่วนผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่น กรดเฟอรูลิก (ferulic acid), กรดซินนะพิก (sinapic acid), กรดพี-คูมาลิก (p-coumaric acid) และกรดแคฟเฟอิก (caffeic acid) พบในเปลือกมากกว่าในผล โดยสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่เชื่อมต่อกับสารอื่น (bound form) เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ Tanizawa และคณะ (1992) พบว่าเปลือกของพืชตระกูลส้ม (exocarp) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าส่วนของผล (sarcocarp) ในส่วนของผลพบว่า ส่วนที่เป็นของแข็งได้แก่ อัลบีโด เลเยอร์, เซกเมนท์ และเมมเบรน มีปริมาณฟลาวาโนนมากกว่าในส่วนของน้ำ (Tomas-Barberan และ Clifford, 2000)

2.3.2.3 โลหะ (Metal) โลหะเช่นทองแดง เหล็ก เหล่านี้มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและเข้าสู่ผลไม้โดยผ่านทางดิน สารเคมีที่ใช้ในการเกษตรและเครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการแปรรูป ทองแดงถือเป็นปัจจัยหลักในการเร่งปฏิกิริยาทำให้สารประกอบฟีนอลิก (ในน้ำผลไม้) โดยเฉพาะลิวโคแอนโธไซยานิน (leucoanthocyanins) และอีพิคาเทอชิน (epicatechin) ลดลง และนำไปสู่การเกิดเป็นตะกอน นอกจากนี้เหล็กก็เป็นตัวหนึ่งที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิก ทำให้ผลิตภัณฑ์เป็นสีน้ำตาลแต่ไม่มากเท่าทองแดง (Robards และคณะ, 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ในส่วนที่กินได้ของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ (Kawaii และคณะ, 1999)

Scientific name	Conventional Name	QCT	NGEN	LTN	NPNC	HSP	KMP	APG	SNT	NBL	HPT	NRTN	TNG
C. reticulata	Ponkan	0	0	0.2	32.8	1199	0	0	0	12.8	0	148	9.1
C. reticulata	Ota ponkan	0	0	0	13.5	676	0	0	0	5.3	0	73.4	5.2
C. tangerina	Dancy tangerin	1.5	0.2	0.4	21.2	1513	0	0	0	4.5	0.1	192	1.5
C. sinensis	Valencia	3.1	0	0	9.8	698	0	0	4.0	1.3	4.0	75.7	0.3
C. aurantium	Sour orange	0	0	0	21.6	10.6	0	0	0	0.7	0.5	11.8	0.5
C. latifolia	Tahiti lime	0	0	0	0.2	572	0	0	0	0	2.5	0	1.4
C. bergamia	Bergamot	0	0	0	222	42.0	0	0	0	0.1	0.2	20.9	0.2
C. limon	Eureka lemon	0	0	0	0	358	0	0	0	0.1	0.1	0	0
C. limonia	Rangpur lime	1.0	0	0.2	0.9	472	0	0	0	0.6	0.1	2.2	1.4
C. meyerii	Sweet lemon	0.8	0	0	2.5	1099	0	0	0	0.1	0	14.1	0
C. meyerii	Meyer lemon	0.3	0	0	1.4	855	0	0	0	0.4	0.2	2.4	0.1
C. grandis	Hirado buntan	0.3	0	0	9.3	8.5	0	0	0	0.1	0	0	0.7
C. paradisi	Red blush	0	0	0	15.1	19.0	0	0	0	0.4	0.2	285	0.1
C. paradisi	Marsh grapefruit	0	0	0	12.2	5.0	0	0	0	0.2	0.2	500	0.2
C. sulcata	Sanbokan	0	0	0	1.1	189	0	0	0	0.9	1.6	502	1.1
C. glabernima	Kinukawa	0	0	0	2.7	0	0	0	0	0.1	0.2	42.6	0.2
C. hassaku	Hassaku	0	0	0	3.0	33.7	0	0	0	0.2	0.5	98.2	0.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ในส่วนที่กินได้ของพืชตระกูลส้มพันธุ์ต่างๆ (ต่อ)

Scientific name	Conventional Name	QCT	NGEN	LTN	NPNC	HSP	KMP	APG	SNT	NBL	HPT	NRTN	TNG
C. tengu	Tengu	0	0	0	8.2	29.1	0	0	0	0.4	0.1	634	0.2
C. natsudaidai	Natsudaidai	0	0	0	7.4	9.7	0	0	0	0.4	0.5	61.2	1.0
C. natsudaidai	Kawano Natsudaidai	0.3	0	0	9.7	11.9	0	0	0	0.6	0.2	45.8	0.5
C. aurantium	Sour orange	0	0	0	21.6	10.6	0	0	0	0.7	0.5	11.8	0.5
C. Clementina	Clementine	0.9	0	0	8.1	852	0	0	0	0.8	0.8	51.1	0.3
C. madurensis	Shikikitsu	0	0	0	0.7	50.3	0	0	0	2.0	0.1	142	1.0
C. nobilis	King	0.7	0	0	45.9	1172	0	0	0	1.4	4	319	2.0
C. hanayu	Hanayu	0	0	0	0.8	2001	0	0	0	4.6	0	35.6	2.4
C. unshu	Sugivama unshiu	1.1	0	0	34.7	664	0	0	0	0.9	1.2	625	0.5
C. oto	Oto	1.3	0	0.1	5.3	1030	0	0	0	1.7	1.8	22.6	1.1
C. deliciosa	Mediterranean mandarin	0	0	0	25.7	1464	0	0	0	5.7	0	174	3.5

หมายเหตุ : quercetin (QCT), naringenin (NGEN), luteolin (LTN), neoponcirin (NPNC), hesperidin (HSP), kaempferol (KMP), apigenin (APG), sinensetin (SNT), nobiletin (NBL), heptamethoxyflavone (HPT), narirutin (NRTN), tangeretin (TNG)

2.3.2.4 สภาวะการเก็บรักษา (Storage condition) การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นเวลานานสามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเนื่องจากเอนไซม์หรือเคมี (enzymatic or chemical oxidation) ของสารประกอบฟีนอลิกได้ การเกิดปฏิกิริยาเหล่านี้ดำเนินไปในอัตราที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยภายในของอาหารและสภาวะในการแปรรูป

2.3.2.5 ความสุกของผลไม้ (Maturity) การสะสมของสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างที่ผลไม้เจริญเติบโต จะเกิดการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์และกระบวนการเมตาบอลิซึม ที่เอื้อต่อการสังเคราะห์พรีเคอร์เซอร์และสารอินเตอร์มิเดียทต่างๆ ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้งภายในและภายนอก เช่น แสง อุณหภูมิ ฮอร์โมน สารอาหาร เป็นต้น อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้วจะพบว่า ในสัปดาห์แรกของการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะมีปริมาณสูงสุด แต่หลังจากนั้นปริมาณสารจะลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากการขยายตัวของเซลล์และในระหว่างการสุกสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผลไม้บางชนิดยังคงลดลงอย่างต่อเนื่อง เช่น มะม่วง กล้วย องุ่นขาว แต่ในผลไม้บางชนิดสารแอนโธไซยานินและฟลาโวนอยด์จะมีปริมาณสูงขึ้น ซึ่งพบได้ในผลไม้ที่มีสีแดง การลดลงของสารประกอบฟีนอลิกทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงด้วย

2.3.2.6 สภาวะการแปรรูป (Processing condition) สภาวะที่ใช้ในการแปรรูป เช่น วิธีสกัด อุณหภูมิการให้ความร้อน รวมถึงเอนไซม์ส่วนทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเปลี่ยนแปลงที่อาจทำให้เกิดการสร้างสารใหม่ขึ้น (formation) และ/หรือทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิก (degradation of phenolic compound) ซึ่งจะมีผลต่อคุณภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์

อุณหภูมิในการให้ความร้อน ความร้อนมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอล (phenol), ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) เช่น กรดพี-คูมาริก, กรดแคฟเฟอิก, กรดเพอรูลิก, กรดซินนะพิก ระเหยกลายเป็นไอไปได้ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างแบบ C6-C3-C6 โดยมีลักษณะเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน จะเกิดการแตกของวงแหวน C และสลายตัวต่อไป โดยวงแหวน B จะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิก และวงแหวน A จะเปลี่ยนเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ตามลำดับ (Jackman และ Smith, 1996) และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ (Kim และ Pratt, 1992)

ถึงแม้ความร้อนจะเป็นสาเหตุทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลงแต่ Manzocco และคณะ (1998) พบว่าคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำชาพาสเจอร์ไรส์บรรจุขวด (air-bottled tea extract) สูงกว่าน้ำชาที่ไม่พาสเจอร์ไรส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอลิก มักเกิดขึ้นระหว่างการแปรรูป (เช่นการปอกเปลือก การตัดและการหั่น) และการเก็บรักษา

2.3.3 สารประกอบฟีนอลในอาหาร

สารประกอบฟีนอลสามารถพบได้ในอาหารและเครื่องดื่มที่ได้มาจากพืช เช่น ผัก ผลไม้ ธัญชาติต่างๆ น้ำผลไม้ ไวน์ เบียร์ ชา และกาแฟ เป็นต้น แต่จะพบในปริมาณที่แตกต่างกันออกไปในพืชต่างชนิดกัน หรือแม้แต่ในพืชชนิดเดียวกันแต่มาจากสถานที่ผลิตที่แตกต่างกัน เนื่องจากการสร้างสารประกอบฟีนอลของพืชจะมีทั้งปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้ยังพบว่า วิธีการเพาะปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูปหรือแม้แต่วิธีการเก็บรักษาก็ล้วนมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งสิ้น

สารประกอบฟีนอลมีบทบาททั้งต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารจากพืช เนื่องจากเป็นสารประกอบที่มีรสฝาดและขม และมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา โดยจะทำให้อาหารเกิดสีน้ำตาล เกิดการพัฒนากลิ่น และมีการสูญเสียสารอาหารบางชนิดได้ ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้อาจเป็นสิ่งที่ต้องการในบางกรณี เช่น การผลิตชาดำหรือโกโก้ แต่อาจเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการในบางกรณี เช่น การแปรรูปผักผลไม้ เป็นต้น

2.3.4 คุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล

คุณสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันของสารประกอบฟีนอล คือ การเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) และสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagens) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radicals) และการใช้สารประกอบฟีนอลในการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO^{\cdot} + PPH \longrightarrow ROOH + PP^{\cdot}$$

$$RO^{\cdot} + PPH \longrightarrow ROH + PP^{\cdot}$$

เมื่อสารประกอบฟีนอลให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สารประ กอบฟีนอลเหล่านั้นสามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

72598

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$ROO^{\bullet} + PP^{\bullet} \longrightarrow ROOPP$$

$$RO^{\bullet} + PP^{\bullet} \longrightarrow ROPP$$

สารประกอบฟีนอลที่ถูกพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันนั้น สามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เมล็ด (ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย มัสตาร์ด ข้าว และงา) ผล (ได้แก่ องุ่น ส้ม พริกไทยดำ และโอลีฟ) ใบ (ได้แก่ ชา และเครื่องเทศต่างๆ) และส่วนอื่นๆ (ได้แก่ มันเทศ และหัวหอม) และหนึ่งในสารประกอบฟีนอลซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันที่เป็นที่รู้จักกันดีอยู่แล้วคือ วิตามินอี ส่วนสารประกอบฟีนอลอื่นๆ ที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากคือ flavonoids (ได้แก่ flavones, flavonols, isoflavones, catechins, flavonones และ chalcones) และ cinnamic acid derivatives (ได้แก่ caffeic acid, ferulic acid, chalorgenic acid และอื่นๆ) โดยสามารถพบทั้ง flavonoids และ cinnamic acid derivatives ได้ในเกือบทุกส่วนของพืชแต่จะมีความแตกต่างกันออกไปในด้านของชนิดและปริมาณ ดังแสดงในตารางที่ 2.4

2.3.5 บทบาทของสารประกอบฟีนอลกับการป้องกันโรคมะเร็ง

โรคมะเร็งสามารถเกิดขึ้นได้จากการที่ร่างกายได้รับสารเคมี รังสี หรือไวรัสจากสิ่งแวดล้อม สิ่งแปลกปลอมเหล่านี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับของดีเอ็นเอ ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของเซลล์และเนื้อเยื่อขึ้นตามลำดับ และมีรายงานว่าสารประกอบฟีนอลบางชนิดมีบทบาททั้งในด้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 พืชชนิดหลักที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ (Dimitrios, 2006)

	Antioxidants	References
Fruits		
Berries	Flavanols hydroxycinammic acids, hydroxy-benzoic acids, anthocyanins	Hakkinen *et al.* (1998), Belitz and Grosch (1999), Wang and Lin (2000), Yanishlieva-Maslarova and Heinonen (2001), and Manach *et al.* (2004)
Cherries	Hydroxycinnamicacids, anthocyanins	Belitz and Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova *et al.*, (2001), and Manach *et al.* (2004)
Blackgrapes	Anthocyanins, flavonols	Belitz and Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001), and Manach *et al.* (2004)
Citrus fruits	Flavanones, flavonols, phenolic acids	Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001), Beecher (2003), and Manach *et al.* (2004)
Plums, prunes, apples, pears, kiwi	Hydroxycinnamic acids, catechins	Belitz and Grosch (1999), Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001), and Manach *et al.* (2004)
Vegetables		
Aubergin	Anthocyanins, , hydroxycinnamic acids	Manach *et al.* (2004)
Chicory, artichoke	Hydroxycinnamic acids	Manach *et al.* (2004)
Parsley	Flavones	Manach *et al.* (2004), and Beecher (2003)
Rhubarb	Anthocyanins	Manach *et al.* (2004)
Sweet potato leaves	Flavonols, flavones,	Chu *et al.* (2000)
Yellow onion, curly	Flavonols	Manach *et al.* (2004)
Kale, leek		
Parsley	Flavones	Manach *et al.* (2004)
Beans	Flavanols	Manach *et al.* (2004)
Spinach	Flavonoids, *p*-coumaric acid	Bergman *et al.* (2001)
Hours		
Oats, wheat, rice	Caffeic and ferulic acids	Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001), and Manach *et al.* (2004)
TEAS		
Black, green	Flava-3-ols, flavonols	Manach *et al.* (2004), and Beecher (2003)
Alcoholic drinks		
Red wine	Flavan-3-ols, flavonols, anthocyanins	Manach *et al.* (2004), and Beecher (2003)
Cider	Hydroxycinnamic acids	Manach *et al.* (2004)
Other drinks		
Orange juice	Flavanols	Manach *et al.* (2004)
Coffee	Hydroxycinnamic acids	Manach *et al.* (2004) Sanchez-Gonzales *et al.* (2005)
Chocolate	Flavanols	Beecher (2003), and Manach *et al.* (2004)
Herbs and spices		
Rosemary	Carnosic acid, carnosol, Rosmarinic acid rosmanol	Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001) Ibanez *et al.* (2003)
Sage	Carnosol, Carnosic acid, luteolin, rosmanul, rosmarinic acid Rosmarinic acid,	Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001) Zheng and Wang (2001)
Oregano	Rosmarinic acid, phenolic acids, flavonoids	Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001) Exarchou *et al.* (2002), and Belhattab *et al.* (2004)
Thyme	Thymol, carvacrol, Flavonoids, luteolin	Yanishlieva-Manach *et al.* (2004)) Zheng *et al.* (2001) and Exarchou *et al.* (2002)
Summer savory	Rosmarinic, carnosol, carvacrol, flavonoids	Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001)
Ginger	Gingerd and related companids	Yanishlieva-Maslarova *et al.* (2001) Moure *et al.* (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งเสริมและป้องกันมะเร็งได้ โดยกลุ่มที่มีบทบาททั้ง 2 ด้านดังกล่าวนี้คือ สารในกลุ่มของ phenols และ catechol เนื่องจากในสภาพปกติสารดังกล่าวจะเข้าทำปฏิกิริยากับไนไตรท์ ทำให้ไนไตรท์หมดสภาพในการเป็นสารก่อมะเร็ง และส่วนที่เหลือจะถูกเปลี่ยนเป็น quinones ซึ่งสามารถถูกกำจัดออกจากร่างกายได้ด้วยเอนไซม์ glutathione transferase ในกระบวนการทางกำจัดสารเคมีแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย (xenobiotic metabolism) แต่หากร่างกายได้รับ phenols และ catechol ในปริมาณสูงมากจนระบบดังกล่าวไม่สามารถกำจัดออกได้หมด quinones จะเข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีน และก่อให้เกิดอนุมูลอิสระต่างๆ ซึ่งเท่ากับมีผลในการส่งเสริมให้เกิดโรคมะเร็งขึ้นได้ ในขณะที่สารในกลุ่ม polyphenol จะมีแต่บทบาทได้ด้านที่เป็นประโยชน์เท่านั้น คือ จะทำหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระไนไตรท์ และโลหะ นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการต่อต้านไวรัส และช่วยส่งเสริมระบบเอนไซม์ต่างๆ ในกระบวนการ xenobiotic metabolism ด้วย

Mackeen และคณะ (2000) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดเนื้องอก ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ และความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของ *Garcinia atroviridis* โดยใช้เมทานอลเป็นตัวสกัด พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนรากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Cladosporium herbarum* ได้ดีที่สุด และทุกส่วนของพืชชนิดนี้ (ยกเว้นผล) ให้ผลในการต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่า α-tocopherol และจากการศึกษาพบว่าไม่มีส่วนใดของ *G. atroviridis* ที่ตรวจพบความเป็นพิษเลย

Fernandez-Lopez และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากโรสเมรี่ ส้ม และมะนาว พบว่าส้มและมะนาวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเหม็นหืนน้อยกว่าโรสเมรี่ และพบว่าโรสเมรี่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้มากกว่าส้มและมะนาว

Elzaawely และคณะ (2007) ได้ทดลองหาความเปลี่ยนแปลงในการต้านอนุมูลอิสระของข่าคม (*Alpinia zerumbet* (Pers)) เมื่อให้สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตก่อนการวิเคราะห์ 24 ชั่วโมง แล้วเก็บใบมาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และสกัดด้วย คลอโรฟอร์มหรือเอทิลอะซิเตด แล้วนำตัวทำละลายออกภายใต้สภาวะสุญญากาศ จากนั้นนำไปละลายในเอทานอลให้มีความเข้มข้น 50 และ 100 ppm ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับ DPPH ความเข้มข้น 500 ไมโคลโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และอะซิเตดบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (พีเอช 5.5) นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และวัดความยาวคลื่นแสงที่ 517 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าในส่วนของใบที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตด ที่มีการให้สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตจะมีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระมากกว่าใบที่ไม่ได้ให้สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ซึ่งอาจเนื่องมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่สะสมอยู่ในใบได้ตอบสนองต่อทองแดง

Kumaran และ Karunakaran (2007) ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชตระกูลมะขาม (*Phyllanthus*) ที่พบได้ทางอินเดียตอนใต้ ได้แก่ *Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn., *P. debilis* Klein ex Willd., *P. maderaspatensis* L., *P. virgatus* Forst. และ *P. urinaria* L. โดยนำพืชเหล่านี้มาทำให้แห้งโดยตากไว้ในที่ร่ม บดให้เป็นผง และนำมาสกัดด้วยเมทานอล จากนั้นกรองส่วนของแข็งออกและระเหยตัวทำละลายออก นำสารสกัด 0.1 มิลลิลิตรมาผสมกับ 0.004 % DPPH ที่ละลายในเมทานอล นำไปบ่มไว้ในที่มืด 30 นาที และวัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยมี ascorbic acid และ BHT เป็นมาตรฐาน พบว่าเปอร์เซ็นต์ของ DPPH ที่ถูกรีดิวซ์มีดังนี้ *P. debilis* (87.24%) Ascorbic acid (77.75%) *P. urinaria* (73.18%) BHT (72.20%) *P. virgatus* (63.21%) *P. maderaspatensis* (48.90%) และ *P. amarus* (38.67%) ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.4 แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับอาหาร (นงลักษณ์ 2544)

โรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารซึ่งมีแบคทีเรียเป็นสาเหตุมี 3 ประเภท ได้แก่

1. โรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารซึ่งมีสารพิษซึ่งสร้างโดยแบคทีเรียโดยผู้ป่วยไม่จำเป็นต้องได้รับเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่เข้าไป (food intoxication or food poisoning) เช่นโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย
2. โรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารซึ่งยังมีชีวิตเข้าไป (food infection)
3. โรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีแบคทีเรียซึ่งยังมีชีวิตและสามารถสร้างสารพิษได้เข้าไป (food toxicoinflection)

2.4.1 *Staphylococcus aureus*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *S. aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียรูปกลม ที่มีขนาดเล็กประมาณ 0.5 - 1 ไมโครเมตร มีการจัดเรียงเซลล์แบบเดี่ยว ๆ เป็นคู่หรือเป็นกลุ่มไม่แน่นอน บางครั้งมีการจัดเรียงคล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีโคโลนีมีลักษณะสีเหลือง เหลืองทอง ส้ม และขาว อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตของ *S. aureus* คือ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิที่เชื้อสามารถเติบโตได้ อยู่ระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 - 45 องศาเซลเซียส พีเอช (pH) ที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ระหว่าง 7.0 - 7.5 พีเอชที่เชื้อเติบโตได้อยู่ระหว่า 4.2 - 9.3 เชื้อส่วนใหญ่เติบโตได้ในที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซ็นต์

เชื้อสามารถเติบโตในอาหารที่มีกลูโคส เป็นเชื้อแฟคคัลเททีฟแอนแอโรบ ที่เติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะไร้ออกซิเจน *S. aureus* ที่ผลิตสารพิษส่วนใหญ่ มักเป็นพวกที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์โคแอกูเลส (coagulase) ได้

เนื่องจาก *S. aureus* เป็นเชื้อที่พบได้ตามส่วนต่างๆ ของรางกายมนุษย์ เช่น จมูก มือ แผลเรื้อรัง ผิวหนัง รวมทั้งเสื้อผ้า อากาศ และฝุ่นละออง จึงมีโอกาสที่เชื้อชนิดนี้จะแพร่จากมนุษย์และสัตว์ลงสู่อาหารได้ การปนเปื้อนของเชื้อนี้ในอาหารมาจากการไอหรือจามลงในอาหาร หรือการได้รับเชื้อจากผิวหนัง หรือได้รับเชื้อภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ อาหารที่ไม่ผ่านการหุงต้ม หรืออาหารสุกๆ ดิบๆ

เมื่อเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนในอาหาร และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโต รวมทั้งมีระยะเวลานานเพียงพอต่อการเติบโต และสร้างสารพิษ (enterotoxin) ภายในเซลล์ แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ลงสู่อาหาร ชนิดของสารพิษที่สร้างมี 5 ชนิด คือ A B C D และ E ซึ่งมีคุณสมบัติในการทนความร้อน (heat-stable toxin) ในระดับอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ คือ 72 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที และยังทนความร้อนระดับ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาที ซึ่งเป็นระดับความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในน้ำนมแบบ ultra high temperature (UHT) สารพิษชนิดนี้ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลงใด ๆ ผู้บริโภคจึงไม่สามารถทราบได้ว่า มีสารพิษเกิดขึ้นในอาหาร เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษเข้าไปเป็นเวลาประมาณ 1 – 6 ชั่วโมง จะมีอาการอาหารเป็นพิษเกิดขึ้น เนื่องจากสารพิษไปออกฤทธิ์ที่เยื่อบุลำไส้ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน อาการป่วยจะดีขึ้นในเวลา 8 – 24 ชั่วโมง

วิธีป้องกันอาหารเป็นพิษมีดังนี้

1. ประกอบอาหารอย่างถูกวิธี โดยใช้ความร้อนให้เพียงพอ
2. ก่อนรับประทานอาหารควรทำให้ร้อนอีกครั้งหนึ่ง เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์
3. อาหารกระป๋อง ควรทำให้ร้อนก่อนนำมารับประทาน
4. เพื่อเป็นการป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในวัตถุดิบ ควรทำความสะอาดก่อนนำไปปรุง
5. ความตรวจสุขภาพคนปรุงอาหาร หากพบว่าเป็นพาหะของเชื้อโรคไม่ควรปรุงอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 *Salmonella* spp.

ก่อนปี ค.ศ. 1940 เชื้อ *Salmonella* ที่ทำให้เกิดโรคระบาดทางเดินอาหารและน้ำ ในหมู่ประชาชนทั่วโลกน้ำ เกิดจากเชื้อ *S. typhi* และ *S. paratyphi* อย่างไรก็ตามในประเทศที่พัฒนาแล้ว มีการพาสเจอร์ไรส์น้ำนม และใส่คลอรีในน้ำประปา ซึ่งทำให้การระบาดของโรคไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ที่ได้รับเชื้อทางอาหารและน้ำลดลง จากการพัฒนาเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการแยกและจำแนกชนิดของเชื้อโรค *Salmonella* spp. จากตัวอย่างอาหารและสิ่งแวดล้อมต่างๆ จึงทำให้ทราบว่าแทบทั่วโลกมีการระบาดของเชื้อนี้ค่อนข้างสูง ในปี ค.ศ. 1950 พบว่าโรคซัลโมแนลโลซิส (salmonellosis) เป็นเชื้อที่พบได้มากที่สุด แม้ว่าจะมีการพัฒนาค้นคว้าข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ เกี่ยวกับแหล่งเชื้อ การแพร่เชื้อในอาหาร ลักษณะการเติบโตของเชื้อ และการรอดชีวิตของเชื้อ รวมทั้งการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อในอาหาร และยังพบว่าโรคซัลโมเนลโลซิส ที่เกิดจากแบคทีเรียยังคงเป็นโรคทางเดินอาหารที่พบได้มากที่สุด ในสหรัฐอเมริกาและประเทศที่พัฒนาแล้วอื่นๆ ซึ่งเป็นเรื่องที่น่าประหลาดใจอย่างยิ่ง นอกจากนี้ในสหรัฐอเมริกายังมีการควบคุมเชื้อโรคทางเดินอาหารอื่นๆ เช่น *Clostridium perfringens* *Bacillus cereus* *Yersinia enterocolitica* *Vibrio parahaemolyricus* และ *Staphylococcus aureus* การระบาดของโรคทางเดินอาหารที่เกิดจาก *S. aureus* และ *Listeria monocytogenes* ดูเหมือนว่าจะลดลงตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 ในสหรัฐอเมริการะหว่าง ค.ศ. 1969 และ ค.ศ. 1976 พบว่าการระบาดของโรคทางเดินอาหารมีเพียง 37 ครั้งต่อปี ระหว่างปี ค.ศ. 1983 และ ค.ศ. 1987 มีการระบาดของโรคนี้ 68 ครั้งต่อปี โดยไม่เพียงแต่จะเพิ่มจำนวนครั้งของการระบาดเท่านั้น ยังคงพบว่าจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ซึ่งเป็นการยากที่จะชี้ให้เห็น ดังสาเหตุที่แท้จริงในการเพิ่มขึ้นของโรคนี้ ซึ่งเป็นไปได้ว่าเชื้อนี้มีสปีชีส์จำนวนมากที่สามารถปนเปื้อนอยู่ในอาหารสัตว์ในสัตว์ปีก สัตว์เลี้ยง ในแมลง รวมทั้งในมนุษย์ ความสามารถของเชื้อในการเพิ่มจำนวนในอาหาร เป็นต้น

การเพิ่มขึ้นของโรคซัลโมเนลโลซิส ในสหรัฐอเมริกา มีสาเหตุดังนี้

1. เชื้อ *Salmonella* ดื้อยาฆ่าเชื้อมากขึ้น
2. ผู้ป่วยมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เนื่องจากมีการติดเชื้อไวรัสมีจำนวนมากขึ้น ทำให้ผู้ป่วยมีร่างกายอ่อนแอ และติดเชื้อ *Salmonella* ได้ง่าย
3. ระหว่างการวางไข่ของสัตว์ปีก เช่น ไก่ มีเชื้อ Salmonella ปนเปื้อนเพิ่มขึ้น
4. การแพร่ระบาดของอาหารที่ผลิตจากโรงอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *Salmonella* มีประมาณ 2,000 ซีโรวาร์ (serovars) (จัดแบ่งเชื้อตามลักษณะของ somatic antigen flagella antigen และ capsular antigen) โดยเชื้อนี้ทุกซีโรวาร์สามารถก่อโรคกับมนุษย์จากการรับประทานอาหารที่มีอุจจาระปนเปื้อน หรืออาหารที่มีเชื้อปนเปื้อน

ลักษณะของเชื้อ *Salmonella*

เชื้อ *Salmonella* spp. ทุกชนิดมีรูปท่อนติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ ต้องการอากาศแบบแฟกคัลเททีฟแอนแอโรบ เป็นเชื้อที่เคลื่อนที่ได้ (motile) สามารถสร้างแก๊สได้จากการเติบโตในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส โดยทั่วไปสามารถเฟอร์เมนต์ดัลซิทอล (dulcitol) แต่ไม่หมักย่อยแลคโตส สามารถใช้ซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอน (carbon surce) สามารถผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ สามารถย่อยสลาย (decarboxylate) ไลซิน (lysine) และออร์รนิทีน (ornithine) ไม่สร้างอินโดล (indole) ไม่สร้างเอนไซม์ยูริเอส (urease) เป็นเชื้อที่มีอุณหภูมิเหมาะสมในการเติบโตระหว่าง 35 – 37 องศาเซลเซียส ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์สามารถฆ่าเชื้อนี้ได้ ในที่มีพีเอชต่ำกว่าหรือเท่ากับ 4.5 เชื้อจะตาย และไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในที่มี Aw 0.94 และมีพีเอชต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5.5 เชื้อจะสามารถมีชีวิตรอดได้ ภายใต้การแช่เยือกแข็งและในสภาพแห้งเป็นเวลานาน เชื้อนี้สามารถเพิ่มจำนวนได้ในอาหารหลายชนิด โดยไม่ทำให้คุณภาพของอาหารผิดปกติ

ถิ่นที่อยู่ของเชื้อ

ที่อยู่ในธรรมชาติของเชื้อนี้คือ ระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า สัตว์ปีก เต่า และกบ รวมทั้งแมลงต่างๆ สัตว์และสัตว์ปีกจะทำให้มนุษย์เกิดโรคซัลโมแนลโลซิสได้ และเป็นพาหะนำโรคต่อไป โดยการแพร่เชื้อทางอุจจาระ นอกจากนี้ยังสามารถแยกเชื้อได้จากดิน น้ำและสิ่งโสโครกต่างๆ ที่ปนเปื้อนด้วยอุจจาระ

สารพิษ

ภายหลังจากรับประทานเชื้อนี้เข้าไป เชื้อจะไปเกาะติดกับเยื่อเมือก (mucosa) ในลำไส้เล็กและแพร่พันธุ์บนเยื่อบุ (epithelial cell) ลำไส้เล็ก พร้อมกับมีการสร้างสารพิษที่ทำให้ลำไส้บวม เนื่องจากมีการสะสมของของเหลวในลำไส้ ความสามารถของเชื้อโรคในการบุกรุก (invade) และทำลายเซลล์ ซึ่งเกิดจากการสร้าง thermostable cytotoxic factor เชื้อโรคแบ่งตัวเพิ่มจำนวนและสร้างสารพิษที่ไม่ทนความร้อน (thermolabile enterotoxin) ซึ่งมีผลต่อการหลั่ง (secretion) ของของเหลวและสารเกลือแร่ (electrolyte) การสร้างสารพิษเกี่ยวของกับอัตราการเติบโตของเชื้อโรค

การเป็นเชื้อโรคและอาการของโรค

ซัลโมแนลโลซิสในมนุษย์จะแตกต่างจากไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ ที่เกิดจากเชื้อ *S. typhi* และ *S. paratyphi* ก่อโรคกับสัตว์ต่างๆ รวมทั้งซัลโมแนลโลซิส ผู้ป่วยต้องได้รับเชื้อเข้าไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$10^5 - 10^6$ เซลล์ (สำหรับสายพันธุ์ที่มีความรุนแรง อาจได้รับเชื้อปริมาณน้อยกว่านี้จะสามารถก่อโรคได้) ในกระเพาะอาหารที่มีกรดสามารถทำลายเชื้อนี้ได้ ดังนั้นต้องมีปริมาณเชื้อโรคมากขึ้น โดยยังมีเชื้อที่รอดชีวิตในกระเพาะอาหารที่สามารถเดินทางไปแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในลำไส้ อาการของโรคจะเกิดขึ้นภายหลังการรับเชื้อเข้าไป 8 – 42 ชั่วโมง โดยทั่วไป 24 – 36 ชั่วโมง มีอาการป่วย 2 – 3 วัน แต่ในผู้ป่วยบางคนจะมีอาการป่วยนานกว่านี้ได้ เมื่อผู้ป่วยหายจากโรคจะเป็นพาหะแพร่เชื้อต่อไปได้อีกหลายเดือน อาการของโรคจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสุขภาพของแต่ละบุคคล โดยมีอาการดังนี้ เป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเสีย คลื่นไส้ อาเจียน ตัวเย็น มีไข้ สำหรับเด็กทารก และคนชราจะมีอาการรุนแรงซึ่งอาจทำให้ตายได้

ชนิดของอาหารที่พบเชื้อ ได้แก่ อาหารที่ทำจากเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อวัว เนื้อไก่ เนื้อไก่งวง เนื้อหมู ไข่ น้ำนม และผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่ทำจากเนื้อและนม เป็นต้น ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 2.5 อาหารที่พบว่าสามารถเป็นสาเหตุการเกิดโรคซัลโมแนลโลซิส ในสหรัฐอเมริการะหว่างปี ค.ศ. 1973 – 1987 (Ray, 1996)

อาหาร	จำนวนการระบาด (ครั้ง)
เนื้อวัว	77
เนื้อไก่	30
เนื้อไก่งวง	36
เนื้อหมู	25
ไข่	16
ผลิตภัณฑ์นม	50
ปลาและหอย	8
ขนมอบ	12
ผักและผลไม้	9
เครื่องดื่ม	4
อาหารจีน	2
อาหารแมกซิกัน	10
อาหารอื่นๆ	191

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 2.5 แสดงให้ทราบจำนวนครั้งของการระบาดของโรคนี้ที่เกิดจากการรับประทานอาหารประเภทต่างๆ ที่อาจจะได้รับการปนเปื้อนของเชื้อโดยตรง หรือโดยอ้อมจากอุจจาระของสัตว์และมนุษย์ โดยการรับประทานอาหารดิบหรือปรุงให้สุกไม่เพียงพอ หรือเป็นอาหารที่ได้รับการปนเปื้อนซ้ำภายหลังการปรุงให้สุกด้วยความร้อน การปนเปื้อนแบบข้ามไปข้ามมา (cross-contamination) การปรุงอาหารภายในบ้านและร้านอาหาร ก็เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคนี้ นอกจากนี้ยังสามารถแยกเชื้อ *Salmonella* ได้จากอาหารหลายชนิดที่ทำจากพืช โดยเชื้อจะปนเปื้อนสู่ผักผ่านทางน้ำโสโครกที่ใช้รดผัก หรือปุ๋ยต่างๆ ที่ใส่บำรุงพืชผักให้งอกงามดี หรือจากการล้างผักด้วยน้ำสกปรก

การป้องกันและควบคุม

เนื้อดิบอาจมีเชื้อ *Salmonella* ดังนั้นก่อนนำไปรับประทานต้องนำไปปรุงให้สุกด้วยความร้อน ในสหรัฐอเมริกาและประเทศที่พัฒนาแล้วต่างๆ ได้ออกกฎข้อบังคับการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารที่ผ่านความร้อนและอาหารสำเร็จรูปต่างๆ หากพบเชื้อชนิดนี้ในอาหารดังกล่าว ต้องหยุดทำการจำหน่ายอาหารนั้นทันที ดังนั้นผู้ผลิตอาหารในระดับอุตสาหกรรมจำนวนมากจึงต้องจัดโปรแกรมการเฝ้าระวังเชื้อ *Salmonella* ในอาหารของบริษัทที่จำหน่ายในท้องตลาด ซึ่งหากมีการตรวจพบเชื้อนี้ในอาหาร บริษัทจะต้องเรียกคืนสินค้าที่มีรายงานการพบเชื้อกลับคืนบริษัททั้งหมดเพื่อเอาไปทำลายทิ้ง มิเช่นนั้นจะเกิดความเสียหายอย่างยิ่งต่อบริษัทผลิตอาหาร ในกรณีที่มีผู้บริโภคอาหารของบริษัทป่วย ซึ่งส่งผลให้บริษัทถูกฟ้องร้องเรียกค่าเสียหายต่างๆ และทำให้ชื่อเสียงของผลิตภัณฑ์เสียหาย ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคอีกต่อไป

หน่วยงานที่รับผิดชอบกับเรื่องเชื้อโรค ต้องจัดอบรมการให้ความรู้เรื่องเชื้อโรคแก่ประชาชนทั่วไป ตลอดจนผู้สัมผัสอาหารและผู้ให้การบริการเกี่ยวกับอาหารต่างๆ ได้รับทราบเพื่อควบคุมการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในอาหาร

หัวข้อการอบรมได้แก่

1. การใช้ความร้อนในการพาสเจอร์ไรส์อาหารให้ถูกต้อง ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 71.1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รวมทั้งการแช่เย็นอาหารให้ถูกวิธีโดยการนำอาหารที่ยังไม่รับประทานภายในเวลา 2 ชั่วโมงไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 3 – 4 องศาเซลเซียส หรือแช่เยือกแข็ง

2. การให้ความรู้เรื่องการปนเปื้อนของเชื้อข้ามไปข้ามมา ระหว่างอาหารแต่ละชนิด เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปนเปื้อนของเชื้อในอาหารสดไปยังอาหารสำเร็จรูป หรืออาหารที่สุกแล้ว ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว โดยการใช้มีดที่หั่นเนื้อสดแล้วนำไปหั่นเนื้อหมูต้มสุก โดยไม่ทำความสะอาดมีดหรือเขียงนั้นก่อน เชื้อที่อยู่ในเนื้อสดจะปนเปื้อนลงสู่เนื้อต้มสุกได้ เป็นต้น

3. การรักษาความสะอาด การมีสุขอนามัยที่ดีของผู้สัมผัสอาหาร เช่น ไม่ใช้มือหยิบจับอาหารหรือสัมผัสอาหารในขณะที่มีอาการป่วย หรือเพิ่งหายจากการป่วยด้วยโรคต่างๆ

4. การอุ่นอาหารแช่เย็นเป็นเวลานานให้มีความร้อนเพียงพอ

การรายงานการระบาดของโรค

ในเดือนกรกฎาคม ค.ศ. 1989 มีรายงานในนิวยอร์กว่า ภายหลังการจัดงานเลี้ยงซึ่งมีผู้ร่วมงานจำนวน 20 คน พบว่าแขกผู้ร่วมงาน 18 คน ต้องเข้ารับการรักษาพยาบาลในโรงพยาบาลด้วยอาการอุจจาระร่วง อาเจียน มีไข้ จากจำนวนผู้ป่วยดังกล่าวนี้ มีผู้ป่วย 1 คนกำลังตั้งครรภ์ซึ่งมีอายุครรภ์ 38 สัปดาห์ แพทย์จึงต้องทำคลอดผู้ป่วยคนนั้น และพบว่าทารกที่คลอดออกมาติดเชื้อโรคทางเดินอาหาร ผลจากการแยกเชื้อจากอุจจาระของผู้ป่วยรวมทั้งทารกแรกเกิดดังกล่าว โดยวิธี rectal swab พบว่าผู้ป่วย 3 คน ได้รับประทานพาสตา ส่วนผู้ป่วยอีก 3 คน ได้รับประทานพิซซา เนยแข็งมะเขือเทศ และซอสเนื้อ (meat sauce) ซึ่งผสมเข้าด้วยกันในถาดและนำไปแช่เย็นข้ามคืน ก่อนการนำไปรับประทาน เมื่อจะรับประทานได้นำอาหารไปอบที่อุณหภูมิ 350 องศาฟาเรนไฮต์ (176.7 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที แพทย์ได้ลงความเห็นว่าตรงกลางจานพิซซา อาจได้รับความร้อนไม่เพียงพอ เชื้อที่อยู่บริเวณนั้นจึงยังไม่ตาย แพทย์จึงสั่งให้นักเทคนิคการแพทย์ทำการตรวจหาเชื้อที่สงสัยจากพิซซา (ที่ยังเหลืออยู่) และไข่ดิบจากฟาร์มเลี้ยงไก่ ผลการตรวจพบว่าเป็นเชื้อ *Salmonella* เมื่อนำไข่ที่มีเชื้อนี้ไปปรุงเป็นอาหาร จึงทำให้ผู้บริโภคอาหารดังกล่าวนี้ป่วยเป็นโรค เนื่องจากเชื้อมีเวลาแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในอาหารแช่เย็น (ระหว่างที่รอการเสิร์ฟ) ทำให้เชื้อมีปริมาณมากขึ้น และหากนำอาหารแช่เย็นไปอุ่นให้ความร้อนไม่เพียงพอ โดยเฉพาะอาหารบริเวณกลางภาชนะ จะทำให้เชื้อที่อยู่บริเวณนั้นไม่ตายและสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ เมื่อมีคนรับประทานเข้าไป จะมีอาหารผ่ายเกิดขึ้น เนื่องจากได้รับเชื้อจำนวนมากเข้าไป ดังนั้นอาหารที่จะนำไปแช่เย็น จะต้องทำอาหารให้สุกทั่วถึงกันก่อนเพื่อฆ่าเชื้อโรคแล้วจึงนำไปแช่เย็น เมื่อจะนำไปรับประทาน ให้นำอาหารแช่เย็นนั้นไปอุ่นให้ร้อนอีกครั้ง ซึ่งจะได้อาหารที่มีความปลอดภัยต่อเชื้อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 *Bacillus cereus*

ลักษณะเชื้อ

เชื้อรูปท่อน ติดสีแกรมบวก เคลื่อนที่ได้ สร้างเอนโดสปอร์บริเวณกลางเซลล์ เซลล์ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนระดับพลาสเจอร์ไรส์ แต่สปอร์สามารถทนความร้อนสูงระดับที่ใช้ปรุงอาหาร โดยยังคงรอดชีวิตอยู่ได้ เป็นเชื้อที่ชอบออกซิเจนในการเติบโต แต่สามารถเติบโตได้ในที่ไม่มีออกซิเจน เป็นเชื้อที่เติบโตได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 4 – 50 องศาเซลเซียส ปัจจัยอื่นๆ ที่เชื้อต้องการใช้ในการเติบโตคือ พีเอช 4.9 – 9.3 มี Aw มากกว่าหรือเท่ากับ 0.93 และเติบโตได้ในที่มีเกลือแกงต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์

ถิ่นที่อยู่ของเชื้อ

มักพบสปอร์และเซลล์เชื้อ *B. cereus* ในดินและฝุ่นละออง ในอาหารสุกและอาหารดิบ พบเชื้อในลำไส้ของผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรงไม่ป่วยเป็นโรคในปริมาณสูงถึง 10 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อในลำไส้ทั้งหมด

สารพิษและการผลิตสารพิษ

สารพิษที่ผลิตมีอย่างน้อย 2 ชนิด (type) และแต่ละชนิดจะทำให้เกิดอาการของโรคต่างกัน สารพิษจะถูกสร้างออกมาในระหว่างการเติบโต และยังคงอยู่ภายในเซลล์ เมื่อเซลล์แตกสารพิษจึงถูกปล่อยออกมา

โรคและอาการของโรค

ผู้ป่วยต้องได้รับเชื้อที่ยังมีชีวิตเข้าไปในปริมาณ $10^6 - 10^7$ เซลล์ต่อกรัม จึงจะทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร มีการสร้างสารพิษ 2 ชนิด ทำให้เกิดอาการของโรคต่างกัน ได้แก่

1. สารพิษชนิดที่ทำให้มีอาการท้องเสีย (diarrheal form) เกิดจากพิษที่เป็นโปรตีนที่ไม่ทนความร้อน ผู้ป่วยจะมีอาการท้องเสียเกิดขึ้น ภายหลังการรับประทานอาหารที่มีเชื้อที่ยังมีชีวิตเข้าไป 6 - 12 ชั่วโมง อาการอื่นๆ คือ ปวดท้อง ท้องเสีย คลื่นไส้ แต่ไม่อาเจียนหรือมีไข้ ผู้ป่วยจะหายได้เองภายใน 24 ชั่วโมง โดยมีอาการคล้ายกับผู้ป่วยที่รับเชื้อ *C. perfringens* เข้าไป

2. สารพิษที่ทำให้มีอาการอาเจียน (emetic form) เกิดจากพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนความร้อนได้ ผู้ป่วยจะอาเจียน ภายหลังการรับประทานเชื้อที่ยังมีชีวิตเข้าไป 1 – 5 ชั่วโมง โดยพิษชนิดนี้จะทนความร้อนได้ โดยเป็นพิษที่ถูกสร้างภายในเซลล์ การอุ่นอาหารที่มีเชื้อจำนวนมาก ก่อนนำไปรับประทาน มักเกิดจากพิษชนิดนี้ ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย อาการป่วยของสารพิษชนิดนี้จะคล้ายกับการป่วยที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารที่พบเชื้อ

อาหารหลายชนิดมีเชื้อและสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* แต่จะเกิดโรคได้เมื่อมีเชื้อจำนวนมากในอาหาร อาหารที่พบเชื้อ เช่น ข้าวและอาหารประเภทแป้ง ผัก สลัด เนื้อสด พุดดิ้ง ซอสและซุป ส่วนใหญ่มักเกิดจากการทำให้เย็นลงอย่างไม่ถูกต้อง คือการปล่อยให้อาหารค่อยๆ เย็นลงอย่างช้าๆ สปอร์ของเชื้อที่ยังคงรอดชีวิตอยู่ภายหลังจากการใช้ความร้อนในการปรุงอาหาร จะสามารถงอกออกมาเมื่ออาหารมีอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส เมื่อสปอร์งอกเป็นเซลล์ปกติแล้ว เชื้อจะเติบโตในอาหารและเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว จนมีปริมาณเชื้อที่มากเพียงพอในการสร้างสารพิษออกมา เมื่อมีผู้บริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป จะมีอาการป่วยเกิดขึ้น ซึ่งทำให้ผู้ป่วยอาเจียนและอุจจาระร่วง

การป้องกัน

1. เก็บอาหารในตู้เย็น 4 – 5 องศาเซลเซียส
2. ใช้ความร้อนในการปรุงอาหาร เพื่อมั่นใจว่าฆ่าเชื้อและสปอร์ด้วย
3. อุ่นอาหารที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส

2.4.4 *Escherichia coli (E. coli)*

ความสำคัญของเชื้อ *E. coli*

พบเชื้อ *E. coli* ครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1885 และจัดเป็นเชื้อที่ไม่เป็นอันตราย (harmless) มีรูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ ต้องการอากาศแบบ แฟกคัลเททีฟ แอนแอโรบ มีถิ่นที่อยู่ในลำไส้ของมนุษย์ สัตว์เลือดอุ่น และสัตว์ปีก โดยพบปริมาณสูง (ประมาณล้านเซลล์ต่อกรัม) ใช้เชื้อนี้เป็นจุลินทรีย์ดัชนีบ่งชี้ (index microorganism) การปนเปื้อนของอุจจาระในอาหารและน้ำ ประมาณกลางปี 1940 พบว่า เชื้อ *E. coli* ทำให้ทารกท้องเสีย โดยตั้งชื่อที่ทำให้เกิดโรคนี้ว่า enteropathogenic *E. coli* ในปัจจุบันพบว่า *E. coli* ก่อโรคดังนี้

Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

เป็นเชื้อที่ทำให้ทารกท้องเสีย โดยเฉพาะทารกที่เลี้ยงในสถานที่ที่มีสุขาภิบาลไม่สะอาด เชื้อสามารถแพร่ผ่านทางมนุษย์ ซึ่งเป็นพาหะทั้งทางตรงและทางอ้อม พบเชื้อหลายซีโรไทป์ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคทางเดินอาหารในน้ำและเครื่องดื่มในประเทศต่างๆ หลายประเทศ กลไกการเกิดโรคยังไม่ทราบชัดเจน แต่ทราบว่าผู้ป่วยต้องรับประทานเชื้อเข้าไปในปริมาณมาก (ประมาณ 10^6 ถึง 10^9 เซลล์ต่อกรัม)จึงทำให้มีอาการโรคทางเดินอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

เชื้อกลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคท้องเสียในหมู่นักเดินทางรวมทั้งในทารกที่อยู่ในประเทศที่กำลังพัฒนาที่มีสุขาภิบาลไม่สะอาด การพบโรคเกิดจากความสามารถของเชื้อในการสร้างสารพิษซึ่งเป็นปัจจัยในการบุกรุกเนื้อเยื่ออวัยวะอื่น โดยเป็นสารที่ไม่ทนความร้อน (heat labile) หรือทนความร้อน (heat stable) หรือเป็นสารที่ทนหรือไม่ทนความร้อน อาการของโรคจะเกิดขึ้นกับระบบทางเดินอาหาร (gastroenteritis) โดยมีอาการคล้ายกับผู้ป่วยเป็นอหิวาตกโรค (cholera) เชื้อโรคจะแพร่ระบาดโดยตรงและทางอ้อม โดยมีมนุษย์เป็นพาหะของเชื้อนี้ โดยผ่านทางอาหารและน้ำ ซึ่งพบการระบาดเป็นครั้งคราวในมนุษย์ ในปี 1983 เนยแข็ง บรี (brie) ซึ่งนำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกามีเชื้อ *E. coli* 027 : H7 ปนเปื้อน เชื้อชนิดนี้ทำให้ประชากรในสหรัฐอเมริกาและประเทศอื่นๆ ป่วยและมีอาการดังกล่าวมาแล้ว ทั้งนี้ผู้ป่วยต้องรับประทานอาหารที่มีเชื้อเข้าไปในปริมาณ 10^8 ถึง 10^9 เซลล์ ต่อกรัม

Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

เชื้อกลุ่มนี้ทำให้มีอาการคล้ายโรคบิด หรือคล้ายโรคชิกเกลโลซิส โดยเชื้อสามารถสร้างปัจจัยบุกรุกเยื่อบุลำไส้ออกมาแล้วก่อโรคได้ มนุษย์เป็นพาหะที่นำเชื้อได้ทั้งทางตรงและทางอ้อม ผู้ป่วยต้องรับประทานอาหารที่มีเชื้อเข้าไปในปริมาณ 10^6 เซลล์จึงทำให้เกิดโรค การระบาดในสหรัฐอเมริกาเริ่มพบเมื่อปี ค.ศ. 1971 เกิดจากการบริโภคเนยแข็งคาเมมเบิร์ต (camembert cheese) ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ ซึ่งมีเชื้อ *E. coli* 124 : B17 ปนเปื้อน โรคทางเดินอาหารซึ่งเกิดจาก EIEC เกิดจากสารพิษชนิดพอลิเพปไทด์ โดยพลาสมิด (plasmid) กำหนดให้มีการสร้างสารพิษที่สามารถบุกรุกเยื่อบุลำไส้ โดยเชื้อสามารถเกาะติดและมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนที่ลำไส้

อาการของโรค

อาการของโรคคล้ายกับโรคบิดชิกเกลโลซิส ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังการได้รับเชื้อโรคปริมาณ 106 เซลล์ และมีระยะพักโรค อาการของโรคที่เกิดขึ้นจะทำให้ผู้ป่วยเป็นตะคริวที่ท้อง ท้องเสีย ปวดศีรษะ หนาวสั่น มีไข้ ในอุจจาระที่ขับออกมามีเชื้อเป็นจำนวนมาก อาการของโรคจะเป็นอยู่ 7 – 12 วัน เมื่อผู้ป่วยหายแล้วจะยังเป็นพาหะโดยมีเชื้ออุจจาระต่อไปเป็นเวลานาน

อาหารที่พบ

การใช้ความร้อนอย่างถูกต้องเหมาะสมเช่น การพาสเจอร์ไรส์ สามารถกำจัดเชื้อ EIEC ได้ไม่ว่าจะเป็นการกำจัดเชื้อที่ปนเปื้อนภายหลังการให้ความร้อนอาหารสำเร็จรูป การกำจัดเชื้อในอาหารแช่เย็นเพื่อควบคุมโรค เป็นต้น นอกจากนี้การสุขาภิบาลอาหารที่สะอาด ปลอดภัยในการปรุงและการประกอบอาหาร และการเสิร์ฟอาหารทำให้อาหารปลอดภัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)

เชื้อในกลุ่มนี้ได้แก่เชื้อ *E. coli* 0157 : H7 เป็นเชื้อที่ทำให้มนุษย์มีอาการท้องเสียโดยถ่ายเป็นเลือดอย่างรุนแรง (haemorhagic colitis) เนื่องจากลำไส้อักเสบ รวมทั้งปัสสาวะเป็นเลือด (Haemorrhahic Uremic Syndrome : HUS) สำหรับในวัวนมทำหน้าที่เป็นพาหะนำโรค การรับประทานเชื้อเพียง 10 ถึง 100 เซลล์ ทำให้เกิดโรคได้ ความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อเกิดจากการสร้างเอนเอทโรทอกซิน (enterotoxins) ออกมา โรคทางเดินอาหารที่เกิดจาก EHEC เกิดจากเชื้อ *E. coli* 0157 : H7 มีคุณสมบัติต่างจาก *E. coli* อื่นๆ คือไม่หมักย่อยซอร์บิทอล (sorbitol) หรือมี glucuronidase activity คล้ายกับ *E. coli* อื่นๆ ตรงที่สามารถเติบโตได้รวดเร็วที่อุณหภูมิ 30 – 42 องศาเซลเซียส และเติบโตได้น้อยในที่มีอุณหภูมิ 44 – 45 องศาเซลเซียส ไม่สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิน้อยกว่า 10 องศาเซลเซียส การพาสเจอร์ไรส์สามารถทำลายเชื้อนี้ได้โดยใช้อุณหภูมิ 64.3 องศาเซลเซียส 9.6 วินาที เซลล์สามารถรอดชีวิตในอาหารที่เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

E. coli 0157 : H7 สามารถสร้างสารพิษ (verotoxin : VTI) ซึ่งมีสารพิษมากกว่า 1 ชนิด ที่ทำให้เกิดโรคและมีอาการของโรคคล้ายกัน ยังไม่ทราบว่าเชื้อสามารถสร้างปัจจัยบุกรุกหรือไม่ เชื้อสามารถเกาะที่ลำไส้และเพิ่มจำนวน พร้อมกับสร้างสารพิษได้ ซึ่งมีผลต่อลำไส้ใหญ่

อาการของโรค

E. coli 0157 : H7 ทำให้มีเลือดออกในลำไส้ใหญ่ ปัสสาวะมีเลือด และ ต่อมน้ำเหลืองอักเสบ (thrombocytopenic purpura : TTP) อาการของโรคเกิดขึ้นภายหลังจากรับประทานเชื้อเข้าไป 3 – 9 วัน โดยจะมีอาการอยู่ 4 วัน โดยเป็นตะคริวที่ท้อง ถ่ายเหลว (35 – 75 เปอร์เซ็นต์ อุจจาระเป็นเลือด) อาเจียน อาจมีไข้หรือไม่มี ลำไส้ใหญ่มีเลือดออก สารพิษทำลายเม็ดเลือดแดงทำให้เลือดจับตัวเป็นลิ่มในไตจึงทำให้ไตถูกทำลาย ในที่สุดไตจะวาย เรียกว่า HUS (ปัสสาวะเป็นเลือด)

ทำให้ผู้ป่วยตายได้เฉพาะผู้ป่วยที่เป็นเด็ก การเกิด TTP เกิดจากเลือดมีการแข็งตัวเป็นลิ่มในสมอง ทำให้ผู้ป่วยมีอาการรุนแรงและตายได้

อาหารที่พบเชื้อ

พบในลำไส้สัตว์ โดยเฉพาะพบในวัวควาย โดยไม่ทำให้วัวควายมีอาการของโรค อาหารที่ได้รับจากสัตว์ เช่น เนื้อวัวบด พบว่ามีเชื้อที่ปนเปื้อนมากทำให้เกิดการระบาดของโรค ในสหรัฐอเมริกา อังกฤษ และแคนาดา คนที่ป่วยเป็นโรคนี้เกิดจากการรับประทานอาหารที่ปรุงไม่สุก มีเชื้อปนเปื้อนในแฮมเบอร์เกอร์ ในปี ค.ศ. 1993 มีการระบาดของโรคเกิดขึ้น ทำให้มีผู้ป่วย 500 คน และผู้ป่วยตาย 4 คน เกิดจากการรับประทานแฮมเบอร์เกอร์ที่ซื้อในร้านอาหารจานด่วน (fast food) ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วอชิงตัว เนวาดา โอเรกอน และแคลิฟอร์เนีย พบว่า แฮมเบอร์เกอร์มีเชื้อ *E. coli* 0157 : H 7 ปนเปื้อนในอาหารที่ใช้ความร้อนไม่มากพอที่จะฆ่าเชื้อได้ นอกจากพบเชื้อในเนื้อวัวบดแล้วยังพบเชื้อในอาหารอื่นๆ เช่น น้ำแอบเปิ้ล ไส้กรอกที่ไม่ผ่านการปรุงสุก การวิจัยได้แสดงให้ทราบว่ามีเชื้อ *E. coli* 0157 : H7 ในอาหารหลายชนิดที่ทำจากเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อวัวบด เนื้อหมู เนื้อไก่ เนื้อแกะ และนมดิบ

การป้องกันโรค

การใช้สุขาภิบาลที่สะอาดถูกหลักอนามัย การปรุงอาหารให้สุกด้วยความร้อน การแช่เย็นโดยใช้ความเย็นที่ต่ำเพียงพอ และการป้องกันการปนเปื้อนข้ามไปมา จะควบคุมเชื้อ *E. coli* 0157 : H7 ในอาหารสำเร็จรูปได้ หน่วยงานตรวจอาหารปลอดภัย (Food Safety Inspection : FSIS) ในสหรัฐอเมริกาได้จัดทำคู่มือแนะนำ และควบคุมโรคอาหารเป็นพิษไว้ดังนี้

1. ให้ดื่มนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว
2. อาหารที่เน่าเสียง่ายต้องแช่เย็น หรือแช่เยือกแข็ง
3. ห้ามละลายน้ำแข็งที่อยู่ในอาหารเยือกแข็งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานกว่า 2 ชั่วโมง แต่ให้ละลายน้ำแข็งในตู้เย็น
4. ล้างมือ อุปกรณ์ เครื่องมือทำอาหาร และบริเวณทำอาหารด้วยสบู่และน้ำอุ่นหลังจากอุปกรณ์ดังกล่าวสัมผัสกับเนื้อดิบ
5. ปรุงเนื้อให้สุกทั่วถึงตลอดกันทั้งชิ้นด้วยความร้อน
6. หลีกเลี่ยงการรับเชื้อโรคจากอุจจาระ โดยไม่อนุญาตให้ผู้ป่วยโรคทางเดินอาหาร หรือผู้ที่เพิ่งหายป่วยจากโรคนี้เป็นผู้สัมผัสอาหาร

2.4.5 *Bacillus subtilis*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน สร้างสปอร์มีหลายชนิด โดยแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ ดังนั้นจึงทำให้มีการปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ 50-55 องศาเซลเซียส ไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลแล็กโตสในน้ำนมได้ แต่สร้างเอนไซม์ที่คุณสมบัติคล้ายเอนไซม์ rennin ย่อยสลายเคซีนให้ตกตะกอน ตะกอนที่ได้จะเป็นอนุภาคที่ละเอียด เรียก sweet curd สามารถผลิตเอนไซม์ amylase ใช้ย่อยแป้งให้เป็นเดกซ์ตรินและน้ำตาลแล็กโตส นำไปใช้ประโยชน์ด้านเภสัชกรรม อุตสาหกรรมเครื่องดื่มจากผลไม้ เบียร์ วิสกี้ ขนมปังและอุตสาหกรรมเส้นใย และผสมในผงซักฟอกบางชนิดเพื่อย่อยสลายโปรตีนตามคราบสกปรกของเสื้อผ้าและภาชนะต่างๆ (ขจร และ ฉัตรชัย, 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.6 *Listeria monocytogenes*

ความสำคัญของเชื้อ *L. monocytogenes*

โรคลิสเตอรีโอซีส พบในมนุษย์เป็นเวลานาน โดยเกิดจากการรับประทานอาหารที่ทำจากเนื้อสัตว์และพืชที่มีเชื้อเข้าไป ในบางคนจัดให้ลิสเตอริโอซิส เป็นโรคฉวยโอกาส (opportunistic disease) อาการป่วยจะรุนแรงหรือไม่ขึ้นอยู่กับสุขภาพของแต่ละบุคคล โดยพบว่าผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรงเมื่อได้รับเชื้อนี้เข้าไป จะมีอาการป่วยด้วยโรคทางเดินอาหารที่ไม่รุนแรง แต่ในผู้ป่วยที่มีสุขภาพไม่แข็งแรง หรือมีร่างกายอ่อนแอ เช่น เด็กในครรภ์มารดา เด็กทารก แรกเกิด เด็กทารก คนท้อง คนชรา รวมทั้งผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือร่างกายอ่อนแอ เช่น ผู้ป่วยโรคหัวใจ โรคไต โรคมะเร็ง โรคเอดส์ หากผู้ป่วยติดเชื้อนี้ จะมีอาการป่วยอย่างรุนแรงอาจถึงตายได้ (30 - 40 เปอร์เซ็นต์) เชื้อ *L. monocytogenes* สามารถเติบโตได้ในอาหารแช่เย็นได้ ทำให้เชื้อซึ่งปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย สามารถเพิ่มจำนวนมากขึ้นในระหว่างการแช่เย็น ดังนั้นก่อนนำอาหารแช่เย็นไปรับประทานจะต้องอุ่นอาหารให้ร้อนทั่วถึงกันอีกครั้งเพื่อฆ่าเชื้อที่จะทำให้เกิดการเจ็บป่วยได้

ลักษณะของเชื้อ *L. monocytogenes*

L. monocytogenes เป็นแบคทีเรียรูปท่อน แกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้ ชอบเติบโตในที่มีอุณหภูมิต่ำ ต้องการอากาศแบบแฟกคัลเททีฟ แอนแอโรบ เป็นเชื้อที่ย่อยเม็ดเลือดแดงได้ (hemolytic) และสามารถหมักย่อยน้ำตาลแรมโนส (rhamnose) แต่ไม่หมักย่อยไซโลส (xylose)

ถิ่นที่อยู่ของ *L. monocytogenes*

เป็นเชื้อที่พบทั่วไปในสภาพแวดล้อม เช่นดิน น้ำ สิ่งโสโครก ซากพืช (dead vegetation) และจากลำไส้ของสัตว์เลี้ยง รวมถึงสัตว์ปีกต่างๆ มนุษย์เป็นพาหะของเชื้อนี้ได้โดยมีเชื้ออยู่ในลำไส้ ซึ่งไม่แสดงอาการใดๆ ของโรคออกมา นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อในอาหารที่ปรุงไม่สุก เช่น นม ไข่ อาหารทะเลต่างๆ รวมทั้งปลา พืชผักชนิดหัว โดยเฉพาะมันฝรั่ง หัวผักกาดขาว (radish) อาจพบเชื้อนี้ในอาหารที่ผ่านความร้อนแล้ว เช่น นมและผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว รวมทั้งเนื้อปรุงสำเร็จ นอกจากนี้ยังสามารถแยกเชื้อได้บ่อยๆ ในกระบวนการผลิตอาหารและอาหารที่อยู่ในระหว่างการเก็บรักษา

สารพิษ

เชื้อ *L. monocytogenes* ที่อยู่ในระหว่างการเติบโต ช่วงเอกซ์โพเนนเชียล (exponential phase) สามารถผลิตสาร ลิสเตอริโอไลซิน โอ (listeriolysin O) ออกมาย่อยสลายเม็ดเลือดแดง เชื้อยังสามารถบุกรุกเนื้อเยื่อต่างๆ ในอวัยวะของมนุษย์ และแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในเนื้อเยื่อต่างๆ รวมทั้งมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปลดปล่อยสารพิษออกมาทำให้เซลล์ในร่างกายตายได้

โรคและอาการของโรค

ผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรง เมื่อรับประทานอาหารที่มีเชื้อ *L. monocytogenes* เข้าไป อาจมีหรือไม่มีอาการป่วยเกิดขึ้น ถ้ามีอาการป่วยเกิดขึ้น จะพบภายหลังการรับประทานเชื้อเข้าไประหว่าง 1 – 7 วัน โดยมีอาการใกล้เคียงกับเป็นหวัด มีไข้ เป็นตะคริวที่ท้อง และท้องเสีย อาการเหล่านี้จะลดลงภายใน 2 – 3 วัน บางครั้งจะพบเชื้อนี้ในอุจจาระได้ อาการของโรคที่เกิดในผู้ป่วยต่างกลุ่มกัน จะมีอาการของโรคต่างกัน ได้แก่ คนท้อง ตัวอ่อนในครรภ์มารดา ทารก คนชรา รวมทั้งผู้ป่วยที่รับประทานยาสเตียรอยด์ หรือผู้ป่วยที่ได้รับการบำบัดรักษาโดยใช้สารเคมีโดยคนเหล่านี้มีภูมิต้านทานต่ำจึงติดเชื้อได้ง่าย

อาการของโรคในระยะเริ่มแรก จะมีอาการของโรคลำไส้ เช่น คลื่นไส้ อาเจียน เป็นตะคริวที่ท้อง และท้องเสีย มีไข้ และปวดศีรษะ อาการต่อมาคือ เชื้อโรคจะบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ รวมทั้งระบบประสาทส่วนกลาง โดยผ่านทางเลือด เชื้อโรคจะบุกรุกเข้าสู่เนื้อเยื่อตัวอ่อนในสตรีมีครรภ์ อาการที่เกิดขึ้นมักมีอาการติดเชื้อในเลือด โรคไข้สมองอักเสบ (meningitis) เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (encephalitis) เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (endocarditis) เป็นต้น โรคนี้ทำให้ตัวอ่อนที่อยู่ในครรภ์แท้ง ทำให้เด็กแรกเกิด รวมทั้งผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องมีอัตราการตายที่สูงมาก ปริมาณของเชื้อที่ทำให้คนในกลุ่มที่มีร่างกายอ่อนแอ (sensitive group) มีอัตราป่วยอยู่ระหว่าง 100 ถึง 1,000 เซลล์

ชนิดของอาหารที่พบเชื้อ

การระบาดของโรคในมนุษย์เกิดขึ้นเป็นครั้งคราว (sporadic) โดยมีรายงานการระบาดของเชื้อในโคล์สลอว์ (cole slaw) นมพาสเจอร์ไรส์ นมดิบ และผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของนม เนยแข็ง เนื้อปาเต (meat pate) ไส้กรอกไก่งวง ไก่ที่ปรุงไม่สุกและเนื้อรมควัน การระบาดเกิดขึ้นเมื่อบริโภคอาหารที่มีเชื้อนี้เข้าไป และเป็นอาหารที่ผ่านการให้ความร้อนที่ไม่เพียงพอ หรือเป็นอาหารที่ได้รับเชื้อปนเปื้อนภายหลังการปรุงสุกแล้ว นอกจากนี้ยังพบเชื้อนี้ในอาหารสด และอาหารดิบเป็นต้น เชื้อยังสามารถเติบโตได้ในอาหารแช่เย็นที่เก็บในตู้เย็น ทำให้ผู้บริโภคมีอาการป่วยเกิดขึ้น

การป้องกันและการควบคุมโรค

เนื่องจากเชื้อ *L. monocytogenes* เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปทุกหนแห่ง จึงเป็นไปได้ยากที่จะทำให้อาหารปราศจากเชื้อนี้ แต่อย่างไรก็ตาม โปรแกรมการควบคุมเชื้อโรคในการผลิตอาหารที่วางจำหน่าย โดยหน่วยงานควบคุมโรค และโรงงานอุตสาหกรรมในสหรัฐอเมริกา ช่วยทำให้การป่วยด้วยโรคนี้ลดลง ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1991 โดยสหรัฐอเมริกาได้กำหนดว่า ต้องไม่พบเชื้อชนิดนี้ในอาหารปรุงสำเร็จ (ที่ทำจากเนื้อสัตว์) ซึ่งมีน้ำหนัก 25 กรัม หากพบเชื้อ ห้ามนำอาหารนั้นไปรับประทาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และให้กำจัดอาหารนั้นทันที นอกจากนี้ยังมีการตรวจสอบโรงงานที่ผลิตอาหารทุกขั้นตอน และมรการวิเคราะห์อันตรายของจุดควบคุมวิกฤติต่างๆ ในกระบวนการผลิตที่อาจทำให้เชื้อปนเปื้อนในอาหาร (Hazard Analysis Critical Control Point : HACCP) จนกว่าผลิตภัณฑ์นั้นจะปลอดเชื้อ *L. monocytogenes* ยิ่งไปกว่านั้นยังมีการตรวจสอบควบคุมเชื้อในวัตถุดิบที่นำมาประกอบอาหารได้แก่ เนื้อสด และ ผักสด โดยการนำผักสดไปล้างก่อนรับระทาน การแยกอาหารที่ปรุงเสร็จแล้วออกจากอาหารสด การไม่ดื่มน้ำนมดิบ หรือไม่รับประทานอาหารที่ทำจากนมดิบ ต้องควบคุมการล้างมือ การทำความสะอาด มีด เขียง ภายหลังการสัมผัสอาหารดิบ ผู้ป่วยกลุ่มที่มีร่างกายอ่อนแอ เช่น คนท้อง คนแก่ และผู้ป่วยต่างๆ ควรระมัดระวังการรับประทานอาหาร โดยหลีกเลี่ยงการรับประทานอาหารที่ซื้อจากเคาท์เตอร์จำหน่ายอาหารต่างๆ

รายงานการระบาดของโรค

ในเดือนธันวาคมปี ค.ศ. 1988 พบว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งซึ่งอาศัยในเมืองโอกลาโฮมา ได้ป่วยเป็นโรคลิสเตอริโอซิส ภายหลังจากการรับประทานไส้กรอดไก่งวง ที่ให้ความร้อนด้วยเตาไมโครเวฟ โดยสามารถแยกเชื้อ *L. monocytogenes* ซีโรไทป์ (serotype) 1/2a ได้เป็นจำนวนมากจากผู้ป่วย และไส้กรอกที่ผู้ป่วยรับประทานไม่หมด และนำไปแช่เย็น (โดยการบรรจุในภาชนะที่ปิดสนิท) รวมทั้งสามารถแยกเชื้อจากอาหารแช่เย็นชนิดอื่นๆ

หน่วยงานควบคุมโรคได้เปิดเผยว่าพบเชื้อ *L. monocytogenes* ในกระบวนการผลิตไส้กรอก รวมทั้งพบเชื้อในไส้กรอกที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนแล้ว (โดยเป็นเชื้อที่ปนเปื้อนภายหลังการให้ความร้อนเนื่องจากเป็นเชื้อที่ปนเปื้อนบนสายพาน (conveyor belt) ในโรงงานก่อนการบรรจุไส้กรอก)

ลิสเตอริโอซิสเป็นโรคของระบบทางเดินอาหารในมนุษย์ ซึ่งพบในผู้ป่วยติดเชื้อที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง การให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟไม่สามารถฆ่าเชื้อ *L. monocytogenes* เป็นเชื้อที่พบในไส้กรอก โดยปนเปื้อนมากับเครื่องมือผลิตไส้กรอก เป็นเชื้อที่เติบโตได้ในอาหารแช่เย็น

เพื่อควบคุมการระบาดของโรคลิสเตอริโอซิส จะต้องผลิตอาหารด้วยความสะอาดถูกสุขอนามัย ต้องรับประทานอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้ออย่างถูกต้อง และอุ่นอาหารแช่เย็นทุกครั้งโดยให้ความร้อนอย่างเพียงพอก่อนนำไปรับประทาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ยีสต์ที่มีความสำคัญในอาหาร

ยีสต์จัดเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวซึ่งแตกต่างจากเชื้อราตรงที่เชื้อรามีหลายเซลล์ต่อกันเป็นเส้นใย ยีสต์แต่ละเซลล์มีนิวเคลียสหลายอัน ยีสต์มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย และเพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อ (budding) หรือบางชนิดมีการแบ่งตัว (binary fission) ยีสต์เป็นเชื้อที่เติบโตได้ในที่มีพีเอชเป็นกรดและในที่มีเอทานอลเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถเติบโตได้ในที่มีเอทานอลสูง 55 – 60 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะที่ใช้ในการจำแนกยีสต์ คือ ขนาดและสีของโคโลนี การสืบพันธุ์ โดยอาจเพิ่มจำนวนโดยการสร้างสปอร์ ที่เรียกว่าแอสโคสปอร์ (ascospores)

ตัวอย่างยีสต์ที่มีความสำคัญซึ่งพบในอาหาร เช่น

2.5.1 *Saccharomyces*

มีการสืบพันธุ์ 2 แบบคือ แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อรอบเซลล์ และแบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์รูปกลม หรือ รูปไข่ ใช้เชื้อ *Saccharomyces* ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอลล์ เช่น เบียร์ ไวน์ เชื้อ *Saccharomyces* สามารถทำให้อาหาร เช่น น้ำหวานเสีย แตงกวาดองเน่า น้ำผึ้งมีกลิ่นแอลกอฮอลล์ และผลไม้แห้งเน่าเสีย

2.5.2 *Zygosaccharomyces*

มีการสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อหลายขั้ว เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการหมักน้ำตาล บางชนิดของเชื้อสกุลนี้สามารถเติบโตได้ในที่มี Aw 0.62 และที่มีพีเอช 1.8

ได้มีรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชชนิดต่างๆ เช่น Khan และคณะ (2003) ได้ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืช *Artocarpus heterophyllus* โดยการแยกสารที่สกัดได้ออกเป็นส่วนที่ละลายในสารละลายที่มีคุณสมบัติของความเป็นขั้วแตกต่างกัน ได้แก่ petrol dichloromethane ethyl acetate และ butanol ซึ่งจากการทดสอบวิธี disc diffusion พบว่าสารสกัดที่ละลายอยู่ในส่วนของ butanol ที่ได้จากส่วนผลและรากมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมากที่สุด

Lee และคณะ (2003) ได้ตรวจสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากผักและน้ำผลไม้ต่างๆ โดยการตรวจสอบ MID (Minimum Inhibitory Dilutions) และ MBD (Minimum Bactericidal Dilutions) โดยใช้สารสกัดหยาบ 180 ไมโครลิตรและเชื้อแบคทีเรีย 20 ไมโครลิตร พบว่าในน้ำผักที่มีส่วนสีเขียว (แตงกวา หน่อไม้ฝรั่ง กะหล่ำปลี) ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* sp. เลย น้ำผักและผลไม้ที่มีส่วนสีม่วงและแดง (แบล็กเบอรี่ บลูเบอรี่ ราสเบอรี่ องุ่น หอมแดง ทับทิม) สามารถยับยั้งเชื้อได้เล็กน้อย ส่วนในน้ำกระเทียมและน้ำชาเขียวสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus* sp.ได้ดีที่สุด จึงได้ทำการศึกษาต่อถึงผลของน้ำกระเทียมและน้ำชาเขียวที่มีต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียชนิดอื่น พบว่าน้ำกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) และ *Escherichia coli* 0157 : H7 ที่ความเข้มข้น 1 : 256 และ 1 : 128 ตามลำดับ และน้ำชาเขียวมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* MRSA และ *Escherichia coli* 0157 : H7 ที่ความเข้มข้น 3.1 และ 12.5 mg/ml ตามลำดับ

Vuotto และคณะ (2000) ได้สกัดสารสกัดหยาบจากผล Feijoa โดยนำผลไปล้างในน้ำที่ผสมสาร Triton X-100 0.8 เปอร์เซ็นต์ ล้างด้วยน้ำกลั่น และปล่อยให้แห้งบนกระดาษกรอง จากนั้นนำมาปั่นด้วยเครื่อง liquefier blender และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2,800 *g* นำส่วนใสไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นำสารสกัดหยาบที่ได้ปริมาณ 100 กรัม มาละลายใน Tris-buffer ที่มีพีเอช 7.4 ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว มาทำ MIC พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa Enterobacter aerogenes* และ *Enterobacter cloacae* ได้ดีที่สุด

Siripongvotikorn และคณะ(2004) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ *Pseudomonas flurorescens , E. coli 0157:H7, Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* จากเครื่องเทศซึ่งเป็นส่วนผสมในต้มยำ ได้แก่ กระเทียม หัวหอม ใบมะกรูด พริกขี้หนูแดง พริกขี้หนูเขียว ตะไคร้ และข่า พบว่ากระเทียมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด รองลงมาคือเครื่องต้มยำ และใบมะกรูด ส่วนหอม ตะไคร้ พริกขี้หนูแดง พริกขี้หนูเขียว และข่าไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์เลย

Gachkar และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำมันหอมระเหยของยี่หร่า (*Cuminum cyminum*) และโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) พบว่า น้ำมันหอมระเหยของยี่หร่ามีประสิทธิกาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli, S. aureus* และ *L. monocytogenes* ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี่ โดย *E. coli* มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) มากที่สุด

Chanwitheesur และคณะ (2007) ได้ทำการสกัดสารจากต้นช้าเลือด (*Caesalpinia mimosoides*) โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันคือ น้ำ อะซิโตน คลอโรฟอร์ม และเอทานอล โดยวิธี Agar disc diffusion method พบว่าในการใช้น้ำในการสกัดสารจะมีประสิทธิภาพในการยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคบางชนิดมากที่สุดเช่นเดียวกับในเอทานอล ส่วนการใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวสกัดจะมีประสิทธิภาพต่ำ

Baydar และคณะ (2004) ได้ศึกษาการสกัดสารฟีนอลิกจากองุ่น (*Vitis vinifera* L.) โดยใช้ส่วนผสมของตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นมีปริมาณของสารฟีนอลิกมากกว่าส่วนของผลที่เอาเมล็ดและบีบเอาน้ำออกแล้ว นอกจากนี้ยังได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดที่ได้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคและเน่าเสียของอาหารซึ่งพบว่าสารสกัดจากส่วนของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมล็ดองุ่นที่ใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง อะซิโตน : น้ำ : กรดอะซิติก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายผสมระหว่าง เมทานอล : น้ำ : กรดอะซิติก โดยที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *P. aeruginosa* และ *E.coli*

2.7 ส้มโอ (Pomelo)

ส้มโอมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus grandis* (L.) Obbeck หรือ *Citrus maxima* (Burm) Merr. มีชื่อสามัญเรียกหลายชื่อ เช่น Pummelo, Pomelo, Pompelmoes, Shaddock และ Barbodos เป็นต้น เป็นพืชที่อยู่ในตระกูลส้ม (Rutaceae) ผลจัดเป็นแบบเบอรี่ (berry) ชนิดพิเศษที่เรียกว่า hesperidium เจริญจากรังไข่โดยตรงมีราว 10 พู เชื่อมต่อกันเป็นวงกลมล้อมรอบแกน ส่วนของเปลือกผลที่หุ้มอยู่ (ovary wall) แบ่งได้ 3 ชั้น ดังแสดงในรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 ส่วนของเปลือกผลส้มโอ
ที่มา : http://whatscookingamerica.net/pomelo.htm

1. ชั้นเปลือกผลชั้นนอก (Exocarp : flavedo) เป็นส่วนที่อยู่ชั้นนอกสุดของผล ประกอบด้วยเซลล์อีพิเดอมีส คิวติเคิลหุ้มหนามาก ชั้นของอีพิเดอมีสยังคงมีการแบ่งเซลล์ต่อไปจนถึงระยะผลสุก เซลล์ที่มีการแบ่งตัวระยะหลังนี้มีคิวติเคิลบาง และมีต่อมน้ำมันซึ่งสร้างตั้งแต่ในระยะที่เป็นรังไข่ของดอก ต่อมน้ำมันจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นในระยะที่ผลขยายใหญ่โต ชั้นของอีพิเดอสมีชั้นของเซลล์พาเรนไคมาที่มีคลอโรพลาสต์ทำให้เปลือกเป็นสีเขียว เมื่อผลสุกคลอโรพลาสต์จะเปลี่ยนเป็นโครโมพลาสต์ที่เรียกว่า โครมาโตฟอร์ และมีการสร้างสารพวกแคโรทีนอยด์ ทำให้เปลือกเป็นสีเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เปลือกผลชั้นกลาง (Mesocarp : albedo) เซลล์ชั้นกลางของเปลือกผลเป็นเซลล์พวกสปองจิพาเรนไคมา คล้ายกับสปองจิมีโซฟิลในใบ เป็นส่วนที่ไม่มีสีหรืออาจมีสีชมพูตามลักษณะประจำพันธุ์ ชั้นอัลบิโดมีสีขาวอ่อนนุ่มในระยะแรกของการเจริญเติบโตของผล การเพิ่มขนาดของผลในระยะแรกเกิดจากการเพิ่มความหนาของชั้นอัลบิโด ส่วนการเพิ่มขนาดของช่องผลมีน้อยเมื่อสุก เปลือกผลที่แกะออกมาจะเป็นชั้นของฟลาเวโดและชั้นอัลบิโดพวกแทนเจอรีน เช่น ส้มเขียวหวาน เปลือกที่เป็นชั้นของเปลือกชั้นนอกและชั้นกลางมีลักษณะบางมาก ส่วนในส้มโอและซิตรอนมีชั้นของเปลือกผลชั้นกลางหนามาก เปลือกผลชั้นนี้ประกอบด้วยแพคติน ไกลโคไซด์ วิตามินซีและน้ำตาล

3. เปลือกผลชั้นใน (Endocarp : rag) จัดเป็นชั้นในสุดของเปลือกผล ส่วนที่เป็นช่องหรือกลีบผลและผนังของพูรังไข่ ก่อนที่ช่องผลจะขยายขนาดส่วนที่เป็นจุดกำเนิดถุงน้ำหวาน (juice sac primordia) เรียกว่า กุ้ง เป็นส่วนของผลที่นำมารับประทานได้ ส่วนประกอบของน้ำภายในถุงน้ำหวานจะเป็นน้ำตาลและกรด ซึ่งส่วนมากเป็นกรดน้ำส้ม (Citric acid) ถุงน้ำจะจัดเรียงกันอย่างหนาแน่นและเป็นระเบียบ เมื่อช่องผลขยายขนาดเต็มที่ถุงน้ำหวานจะกระจัดกระจายออกไม่เป็นระเบียบ ผนังของเปลือกชั้นในจะยืดตัวออกจนตึงและปกคลุมด้วยชั้น คิวติเคิล

พันธุ์ส้มโอที่ปลูกอยู่ในประเทศไทยมีหลายพันธุ์ บางพันธุ์ก็มีลักษณะใกล้เคียงกันแต่ปลูกคนละท้องที่ จึงเรียก ชื่อแตกต่างกันไป พันธุ์ส้มโอที่ปลูกเพื่อการค้าแบ่งออกเป็น พันธุ์การค้าหลัก ได้แก่ ขาวพวง ขาวทองดี ขาวน้ำผึ้ง เป็นต้น และพันธุ์การค้าเฉพาะแห่ง ได้แก่ ขาวแป้น ขาวหอม ขาวแตงกวา ท่าข่อย ขาวใหญ่ หอมหาดใหญ่ เจ้าเสวย กรุ่น ขาวแก้ว เป็นต้น

พันธุ์ขาวแตงกวา

เป็นส้มโอที่ปลูกกันมากในจังหวัดชัยนาท ลักษณะผลกลมแป้น ขนาดผลปานกลาง เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 18 เซนติเมตร ก้นผลป้านถึงเว้าเล็กน้อย ที่หัวไม่มีจุก ผิวเรียบสีเขียว ต่อมน้ำมันละเอียด กุ้งมีสีขาวอมเหลือง นิ่มและเบียดกันแน่น ไม่ฉ่ำน้ำ เนื้อแกะออกง่าย มีเมล็ดน้อย รสหวานอมเปรี้ยว ลักษณะทั่วไปคล้ายพันธุ์ขาวแตงกวาที่ปลูกอยู่ในเขตจังหวัดนครปฐม แต่เปลือกหนากว่า (วิเศษ, 2537)

พันธุ์ขาวทองดี หรือทองดี

ผลมีขนาดโตปานกลาง ทรงผลกลมแป้น ไม่มีจุก ต้นขั้วผลมีจีบเล็กน้อย ก้นผลเรียบถึง เว้าเล็กน้อย ผิวเรียบมีสีเขียวเข้ม ต่อมน้ำมันละเอียดอยู่ชิดกัน เปลือกค่อนข้างบาง ด้านในของเปลือกมีสีชมพูเรื่อๆ ผลหนึ่ง มีกลีบผลประมาณ 14-16 กลีบ ผนังกลีบมีสีชมพูอ่อน กุ้งมี สีชมพูเบียดกันแน่น นิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฉ่ำน้ำ รสหวานอมเปี้ยว เมล็ดมี ขนาดเล็ก เป็นพันธุ์ที่นิยมบริโภคโดยทั่วไปและส่งไปจำหน่าย ยังต่างประเทศ (http://www.doa.go.th/)

พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

ผลมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ทรงผลกลมสูง แต่ไม่มีจุกเด่นชัดเหมือนพันธุ์ขาวพวง ด้านก้นผลเรียบ ต่อมน้ำมันที่ผิวเปลือกมีขนาดใหญ่อยู่กันห่างๆ ผิวเปลือกมีสีเขียวเข้ม เปลือกค่อนข้างหนา ผลหนึ่งมีกลีบผลประมาณ 11-12 กลีบ แยกออกจากกันง่าย กุ้งมีสีขาวอมเหลือง ขนาดกุ้งค่อนข้างใหญ่ เบียดกันแน่น มีน้ำมากแต่ไม่แฉะ รสหวานอมเปรี้ยว สามารถ แกะเนื้อออกมาได้ง่าย เมล็ดมีขนาดใหญ่ แต่มีเมล็ดไม่มากนัก เป็นที่นิยมบริโภคโดยทั่วไป

พืชตระกูลส้มเป็นผลิตผลที่มีกำลังในการผลิตทั่วโลก ประมาณ 80 ล้านตันต่อปี ส่วนใหญ่มักนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร รวมไปถึงน้ำผลไม้หรือเครื่องที่มีส่วนผสมของพืชตระกูลส้มเป็นหลัก (Spiegel-Roy และ Goldschmidt, 1996) พืชตระกูลส้มมีส่วนที่เป็นของเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมอยู่มาก สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น อาหารสัตว์ เส้นใยอาหาร และนำไปผลิตเชื้อเพลิง (Bocco และคณะ, 1998) เมื่อไม่นานมานี้มีการศึกษาพบว่า ของเหลือทิ้งทางการเกษตรบางประเภทสามารถนำมาใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้ โดยเฉพาะพืชตระกูลส้มเมื่อนำมาศึกษาแล้วพบว่ามีสาร flavonoid อยู่เป็นจำนวนมาก (Bocco และคณะ, 1998; Manthey และ Grohmann, 2001; Llorach และคณะ, 2003; Wolfe และคณะ, 2003)

ส้มโอ เป็นไม้ผลที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีรสชาติดี มีรสหวานหรือหวานอมเปรี้ยวขึ้นอยู่กับพันธุ์และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ อีกทั้งส้มโอเป็นผลไม้ที่มีเปลือกหนา ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นานโดยไม่เสียคุณภาพทนทานต่อการกระทบกระเทือนระหว่างขนส่งได้ในระยะทางไกลโดยเฉพาะการส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศ ดังนั้นจึงเป็นผลไม้อีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการส่งเสริมให้เกษตรกรผลิตเพื่อการส่งออก สารอาหารที่มีอยู่ในเปลือกของส้มโอนั้นประกอบไปด้วยวิตามินอี วิตามินซี สารประกอบฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.6 ในปัจจุบันนี้ได้มีการใช้สารเหล่านี้ในวงการอุตสาหกรรมกันอย่างแพร่หลายเพื่อใช้ประโยชน์ในการเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารเอาไว้ เช่น วิตามินอีใช้ในอุตสาหกรรมนม วิตามินซีใช้ในอุตสาหกรรมแยม ทั้งนี้ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายเป็นเพราะว่าสารเหล่านี้เองไม่มีความเป็นพิษต่อร่างกายและไม่มีผลข้างเคียงจากการใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน (http://www.doa.go.th/pl_data/PUMMELO/1stat/st01.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในส่วนต่างๆ ของส้มโอ (Koca และคณะ, 2003)

สารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด		สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	
ส่วนของส้มโอ	**ปริมาณ (nmoles)**	**ส่วนของส้มโอ**	**ปริมาณ (nmoles)**
Outer peel	1406 ± 122	Outer peel	1499 ± 8
Flavedo	673 ± 186	Flavedo	1669 ± 244
Albedo	849 ± 9	Albedo	2948 ± 193
Juice membranes	807 ± 1	Juice membranes	1735 ± 166
Juice Vesicles	110 ± 36	Juice Vesicles	908 ± 17
Young leaves	3779 ± 344	Young leaves	4243 ± 218
Mature leaves	2883 ± 287	Mature leaves	2813 ± 238

ส้มโอสามารถนำไปแปรรูปเพื่อใช้เป็นประโยชน์ได้หลายด้าน

1. ใช้เป็นอาหาร เปลือกผลสีขาว เชื่อมเป็นอาหารหวาน เนื้อผล รับประทานเป็นผลไม้ ทำยำส้มโอ ใส่ข้าวยำ ทำเมี่ยงส้มโอ และน้ำผลไม้

2. คุณค่าทางด้านโภชนาการ ผิวผลนอกสุด มีน้ำมันหอมระเหย เปลือก ผลสีขาว มีสารเพคตินสูง ธาตุฟอสฟอรัส แคลเซียม และอื่น ๆ เนื้อผล มีกรดอินทรีย์ วิตามินซี เอ และบี มีธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และสารอื่น

3. ใช้เป็นยา ใบ แก้ปวดข้อ ท้องอืดแน่น แก้ปวดหัว ดอก แก้ปวดกระเพาะอาหาร แก้ปวดกระบังลม ขับเสมหะ และขับลม ผล แก้เมาสุรา ขับลมในกระเพาะอาหาร ช่วยเจริญอาหาร เปลือกผล ขับลม ช่วยขับเสมหะ แน่นหน้าอก ไอ ปวดท้องน้อย ไส้เลื่อน หรือต้มน้ำอาบแก้ คัน และตำพอกฝี เมล็ด แก้ไส้เลื่อน แก้ปวด ท้อง ราก แก้หวัด แก้ไอ แก้ปวดกระเพาะ อาหาร และไส้เลื่อน

(http://www.healthnet.in.th/text/forum2/juice/juice092.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 สารเคมี

3.1.1 เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต)

3.1.2 2,2 -Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (SIGMA)

3.1.3 Quercetin (SIGMA)

3.1.4 Mueller Hinton agar (MHA) (Difco)

3.1.5 Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Difco)

3.1.6 0.048M Barium chloride ($BaCl_2$) (Fluka)

3.1.7 0.36M Sulfuric acid (H_2SO_4) (Carlo Erba)

3.1.8 Penicillin G (Fluka)

3.1.9 Amphotericin B (Fluka)

3.1.10 Dimethylsulphoxide (DMSO) (WILMAD/LABGLASS)

3.1.11เมทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (MERCK)

3.2 วัตถุดิบและอุปกรณ์

3.2.1 ส้มโอ (*Citrus grandis*) พันธุ์ทองดี ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง

3.2.2 เครื่องปั่น (blender)

3.2.3 เครื่องชั่งน้ำหนัก (balance)

3.2.4 ชุดกรองสุญญากาศ (GAST G588DX)

3.2.5 ครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator : BUCHI R205B800)

3.2.6 ตู้แช่แข็ง (deep freezer) (LABCONCO)

3.2.7 เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) อุณหภูมิ -72 องศาเซลเซียส ของบริษัท SANYO รุ่น MDF-U40865

3.2.8 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer: UNICO UV-2800A)

3.2.9 กระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.2.10 แผ่น Silica gel plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แก่

3.3.1 เชื้อแบคทีเรีย

- *Staphylococcus aureus* TISTR 118
- *Yersinia enterocolitica* DMST 9380
- *Bacillus cereus* DMST 5040
- *Escherichia coli* DMST 4212
- *Salmonela enteritidis* DMST 10633
- *Salmonela typhimurium* DMST 0562
- *Listeria monocytogenes* DMST 11256

3.3.2 เชื้อยีสต์

- *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019
- *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำส้มโอทั้งสามพันธุ์ได้แก่ พันธุ์ทองดี พันธุ์ขาวน้ำผึ้งและพันธุ์ขาวแตงกวา มาปอกเปลือกและเก็บรักษาเปลือกส้มโอไว้ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.4.2 การสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอ

นำเปลือกส้มโอส่วนสีขาวแต่ละพันธุ์มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ มีขนาดใกล้เคียงกัน นำไปแช่แข็งในตู้แช่แข็ง (deep freezer) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง (freeze dryer) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และนำไปบด จากนั้นทำการสกัดโดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายในอัตราส่วนส้มโอต่อตัวทำละลายเป็น 1 ต่อ 4 แล้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน ระหว่างการสกัดทำการคนสารละลายเป็นระยะ เมื่อครบเวลานำส่วนผสมที่ได้ไปกรองด้วยชุดกรองสุญญากาศผ่านกระดาษกรองวัตต์แมน (Whatman) เบอร์ 1 จากนั้นนำของเหลวที่กรองได้ไประเหยเพื่อเอาตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สารสกัดหยาบที่ได้นำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การทำสารสกัดหยาบให้อยู่ในรูปผง

นำสารสกัดหยาบที่ได้ ไปแช่ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่งโมง จากนั้นนำไปใส่ในเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 7 ชั่วโมง นำสารสกัดหยาบที่แห้งเป็นผง เก็บในถุงฟรอยด์แล้วปิดผนึกปากถุง เพื่อรอการวิเคราะห์ผลต่อไป

3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นของสารสกัดจากเปลือกส้มโอ โดยวิธี Thin-layer Chromatography Screening Assay

ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้น โดยนำสารสกัดหยาบที่ได้ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาหยดลงบนแผ่น silica gel plate จากนั้นนำไปจุ่มในสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 200 ไมโครโมล สังเกตการเปลี่ยนแปลง

3.4.5 การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอทั้ง 3 พันธุ์ โดยใช้วิธี DPPH radical scavenging assay (ดัดแปลงมาจาก Kumaran และ Karunakaran, 2007)

เตรียมสารสกัดหยาบให้มีความเข้มข้น 1,000 100 10 1.0 0.1 0.01 0.001 0.0001 และ 0.00001 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ให้มีปริมาตร 2 มิลลิลิตรลงในหลอดทดสอบ เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 200 ไมโครโมล ปริมาตร 2 มิลลิลิตรลงไป นำหลอดทดสอบตั้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ quercetin เป็น positive control และ DPPH เป็น negative control นำค่าการดูดกลืนแสงต่อไมโครโมลของตัวอย่างที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของ DPPH โดยเปรียบเทียบกับ positive control

$$\% \text{ DPPH reduction} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

เมื่อให้ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และสารสกัดหยาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.6 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอทั้ง 3 พันธุ์ โดยวิธี Agar diffusion assay (ดัดแปลงมาจาก Xianfei และคณะ, 2007)

3.4.6.1 การเตรียมสารละลาย0.5 McFarland

เตรียมสารละลาย 0.5 McFarland โดยใช้ $BaCl_2$ 0.048M ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร และ H_2SO_4 0.36M ปริมาณ 99.5 มิลลิลิตร ทำให้ได้จำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ 10^8 CFU/mL

3.4.6.2 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

เชื้อแบคทีเรีย นำมาเลี้ยงในอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เชื้อยีสต์ นำมาเลี้ยงในอาหาร Sabouraud Dextrose Agar (SDA) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.6.3 การเตรียมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์

เขี่ยเชื้อมาใส่ในหลอดทดสอบที่มีน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ (normal salt saline: NSS) ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบความขุ่นของเชื้อจุลินทรีย์กับสารละลาย 0.5 McFarland ที่เตรียมไว้

3.4.6.4 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมสารสกัดหยาบของส้มโอแต่ละพันธุ์ให้มีความเข้มข้น 1,000 5,000 และ 8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย เตรียม Penicillin G ความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย และเตรียม Amphotericin B ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย

3.4.6.5 การวาง disc

นำสารละลายเชื้อที่เปรียบเทียบความขุ่นแล้วมา spread ลงบนอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) สำหรับเชื้อแบคทีเรียและ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) สำหรับเชื้อยีสต์ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เตรียมแผ่น paper disc (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) โดยอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ใช้ไมโครปิเปตดูดสารสกัดที่เตรียมไว้หยดลงบนแผ่น paper disc ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อแผ่น ทิ้งไว้ให้แห้ง 2 ชั่วโมง จากนั้นใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อคีบแผ่น paper disc ไปวางบนอาหาร MHA และ SDA และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรียและ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมงสำหรับเชื้อยีสต์ บันทึกผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (inhibition zone) นำผลที่ได้จากการทำซ้ำ 2 ครั้ง มาหาค่าเฉลี่ยและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบบริเวณโซนใสในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกับชุดควบคุมโดยใช้ Penicillin G และ Amphotericin B เป็น positive control สำหรับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ตามลำดับ และใช้เมทานอลเป็น negative control

3.4.7 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอในแต่ละพันธุ์โดยใช้วิธีการ Neutral Red Assay

3.4.7.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวทั้ง 3 พันธุ์ มาละลายในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ ให้มีความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารสกัดดังกล่าวแบบต่อเนื่อง ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยให้มีค่าความเจือจางมากกว่า 2 ความเข้มข้น คือ 10 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.4.7.2 การเตรียมเซลล์

เซลล์ที่ใช้ทดสอบคือเซลล์ IEC6 (เซลล์เยื่อบุลำไส้เล็กของหนู ECACC Cat. No. 88071401) โดยนำเซลล์ IEC6 ไปเลี้ยงในอาหาร Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) เสริมด้วย 5 เปอร์เซนต์ fetal bovine serum และ 2 มิลลิโมล L-glutamine จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีความชื้นสูงสุดและมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในตู้บ่ม 5 เปอร์เซนต์

3.4.7.3 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอ

ทำการปลูกเซลล์ IEC6 จำนวน 3×10^5 เซลล์ต่อ 1 จานเพาะเลี้ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในตู้บ่ม 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำอาหารเก่าออกและเติมอาหารที่มีสารสกัดหยาบจากของเปลือกส้มโอส่วนสีขาวที่ความเข้มข้น 20 10 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงไปแทนที่ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์โดยการนำเซลล์มาย้อมด้วยสี 0.01 เปอร์เซนต์ neutral red ใน phosphate-buffered saline (PBS) ประเมินผลความเป็นพิษโดยดูจากกล้องจุลทรรศน์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีสารสกัดหยาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

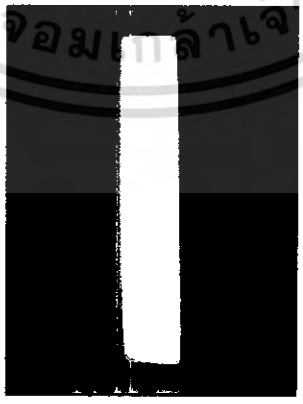
บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลผลิตและคุณลักษณะของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว (*Citrus grandis*)

ผลการสกัดเปลือกส้มโอสายพันธุ์ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้งและทองดี ด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าได้ผลผลิตทั้งหมดคิดเป็น 7.24 7.87 และ 7.99 เปอร์เซ็นต์จากเปลือกส้มโอ 100 กรัม ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะสีน้ำตาลเข้ม ละลายน้ำได้ดี

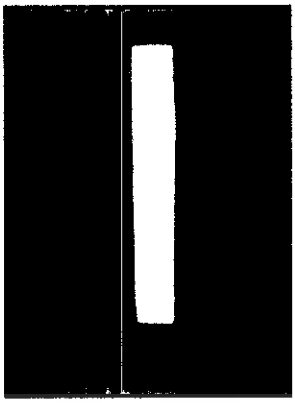
4.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นของสารสกัดจากเปลือกส้มโอโดยวิธี TLC Screening Assay

ในการทดลองนี้ได้ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ทองดี ขาวแตงกวา และขาวน้ำผึ้ง ซึ่งจากการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยวิธี TLC Screening assay พบว่ามีสีเหลืองเกิดขึ้นบนแผ่น silica gel บริเวณที่มีสารสกัดหยาบอยู่ทั้ง 3 พันธุ์ ดังรูปที่ 4.1 – 4.3 ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้นจึงมีความเป็นไปได้ว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกส้มโอทั้ง 3 พันธุ์ที่ได้จากการทดลองนี้ น่าจะมีสารประกอบที่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจากการศึกษาของ Koca และคณะ (2003) ได้รายงานผลการวิเคราะห์พบสารต้านอนุมูลอิสระและสารฟีนอลิกในส่วนของเปลือกผลสีขาว (อัลบิโด) ของส้มโอประมาณ 849 ± 9 นาโนโมลของกรดแอสคอบิกต่อกรัมของน้ำหนักผลไม้ จึงนำสารสกัดดังกล่าวไปศึกษาประสิทธิภาพต่อไป



รูปที่ 4.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นโดยวิธี TLC Screening Assay ของสารสกัดหยาบของส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นโดยวิธี TLC Screening Assay ของสารสกัดหยาบของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

รูปที่ 4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นโดยวิธี TLC Screening Assay ของสารสกัดหยาบของส้มโอพันธุ์ทองดี

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกส้มโอโดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

จากการทดสอบเบื้องต้นจะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบที่ได้ของส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเมื่อทำการทดสอบหาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay เพื่อหาเปอร์เซนต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ทองดี ขาวแตงกวา และขาวน้ำผึ้ง

ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์จากสารสกัดหยาบ			
(µg/ml)	ขาวแตงกวา	ขาวน้ำผึ้ง	ทองดี	Quercetin
0.00001	40.73^{f}	46.55^{f}	41.16^{g}	49.98^{c}
0.0001	40.96^{f}	46.97^{f}	42.21^{fg}	51.39^{c}
0.001	41.95^{e}	48.06^{ef}	42.91^{f}	52.54^{c}
0.01	43.51^{d}	49.15^{e}	44.64^{e}	53.50^{bc}
0.1	43.88^{d}	51.62^{d}	46.17^{d}	54.49^{bc}
1.0	45.81^{c}	53.86^{c}	48.37^{c}	58.76^{b}
10	46.57^{c}	55.47^{b}	52.98^{b}	97.00^{a}
100	48.05^{b}	56.64^{b}	53.04^{b}	98.00^{a}
1000	59.05^{a}	69.56^{a}	60.03^{a}	98.35^{a}

$^{a,b,c,...}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.5$)

เนื่องจากประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีควรทำให้เปอร์เซ็นต์ของ DPPH ที่ถูกรีดิวส์โดยสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบมีค่าสูง ดังนั้นจากตารางจะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเพิ่มขึ้นมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์มีค่าเพิ่มขึ้นโดยค่าจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในทุกสายพันธุ์ แต่เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของของสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดีที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเท่ากัน มีประสิทธิภาพแตกต่างกันโดยพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งมีประสิทธิภาพในการออกซิไดซ์ DPPH ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดีและขาวแตงกวา ดังแสดงในตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

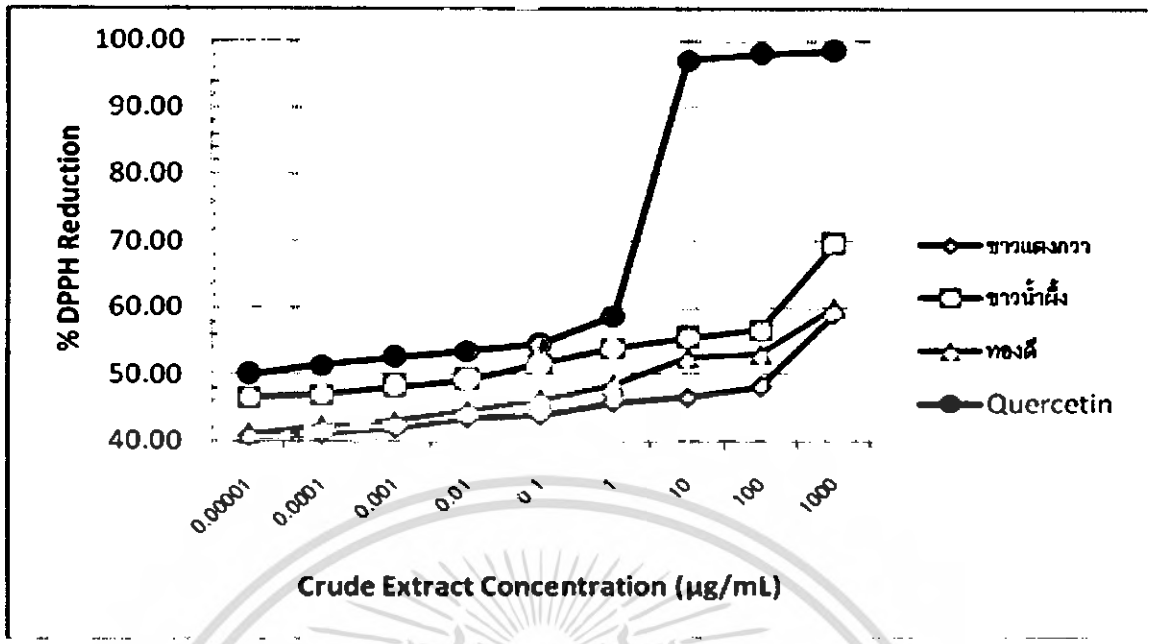
ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์จากสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดี

ความเข้มข้น	เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์จากสารสกัดหยาบจากส้มโอพันธุ์ต่างๆ			
(µg/ml)	ขาวแตงกวา	ขาวน้ำผึ้ง	ทองดี	Quercetin
0.00001	40.73 ^{b}	46.55 ^{a}	41.16 ^{b}	49.98 ^{a}
0.0001	41.08 ^{b}	46.97 ^{a}	42.21 ^{b}	51.39 ^{a}
0.001	41.95 ^{bc}	48.06 ^{ab}	42.91 ^{bc}	52.54 ^{a}
0.01	43.51 ^{d}	49.15 ^{b}	44.64 ^{c}	53.50 ^{a}
0.1	43.88 ^{d}	51.62 ^{b}	46.17 ^{c}	54.49 ^{a}
1.0	45.81 ^{d}	53.86 ^{b}	48.37 ^{c}	58.76 ^{a}
10	46.57 ^{d}	55.47 ^{b}	52.53 ^{c}	97.00 ^{a}
100	48.05 ^{d}	56.64 ^{b}	53.04 ^{c}	98.00 ^{a}
1000	59.05 ^{d}	69.56 ^{b}	60.03 ^{c}	98.35 ^{a}

$^{a,b,c,\cdots}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.5$)

เมื่อนำค่าที่ได้มาหาสร้างกราฟแสดง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวและเปอร์เซนต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ของส้มโอทั้ง 3 พันธุ์เพื่อหาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวในรูปของค่า IC_{50} ซึ่งเป็นค่าแสดงถึงความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่ใช้ในการลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นลง 50 เปอร์เซ็นต์ (Sanchez และคณะ, 1998) ได้ดังรูปที่ 4.4 และตารางที่ 4.2 ซึ่งถ้าหากค่า IC_{50} มีค่าน้อยแสดงว่าสารสกัดหยาบที่ได้มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ของ quercetin และสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือก ส้มโอ 3 สายพันธุ์

ตารางที่ 4.2 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดี

พันธุ์ส้มโอ	IC_{50} (ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิลิตรของ DPPH)
ขาวแตงกวา	200
ขาวน้ำผึ้ง	0.04
ทองดี	3.75
Quercetin	0.00005

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดซึ่งมีค่า IC_{50} ที่ 0.04 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิลิตรของ DPPH รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากส้มโอพันธุ์ทองดีและขาวแตงกวา ซึ่งมีค่า IC_{50} อยู่ที่ 200 และ 3.75 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิลิตรของ DPPH ตามลำดับ ซึ่ง Koca และคณะ (2003) ได้รายงานไว้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระหลักที่พบในผลไม้กลุ่มพืชตระกูลส้มส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มของ Flavonones Flavonoid และ Phenolic acids

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอ 3 สายพันธุ์โดยวิธี Agar Disc Diffusion Method

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคทางอาหาร 7 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 *Yersinia enterocolitica* DMST 9380 *Bacillus cereus* DMST 5040 *Escherichia coli* DMST 4212 *Salmonela enteritidis* DMST 1063 *Salmonela typhimurium* DMST 0562 และ *Listeria monocytogenes* DMST 11256 และยีสต์ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของอาหาร 2 ชนิด ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 และ *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044 โดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ทองดี ขาวแตงกวา และขาวน้ำผึ้ง ด้วยวิธีเทคนิคการแพร่บนอาหารวุ้น (Agar diffusion) ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เมื่อใช้สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณโซนใส (มิลลิเมตร)			
	ขาวแตงกวา	ขาวน้ำผึ้ง	ทองดี	ชุดควบคุม
แบคทีเรีย				
Staphylococcus aureus	8	8	8	32
Escherichia coli	6	7	7	6
Yersinia enterocolitica	6	8	6	10
Bacillus cereus	6	6	6	8
Salmonela enteritidis	6	6	6	12
Salmonela typhimurium	7	8	7	14
Listeria monocytogenes	6	6	6	12
ยีสต์				
Saccharomyces cerevisiae	8	8	8	12
Zygosaccharomyces rouxii	8	8	8	16

หมายเหตุ : ขนาดของแผ่น disc ที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 6 มิลลิเมตร

จากตารางพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอทั้ง 3 พันธุ์ที่ความเข้มข้น 8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดของโซนใสกว้างที่สุดเพียง 8 มิลลิเมตรเท่านั้น โดยตาม

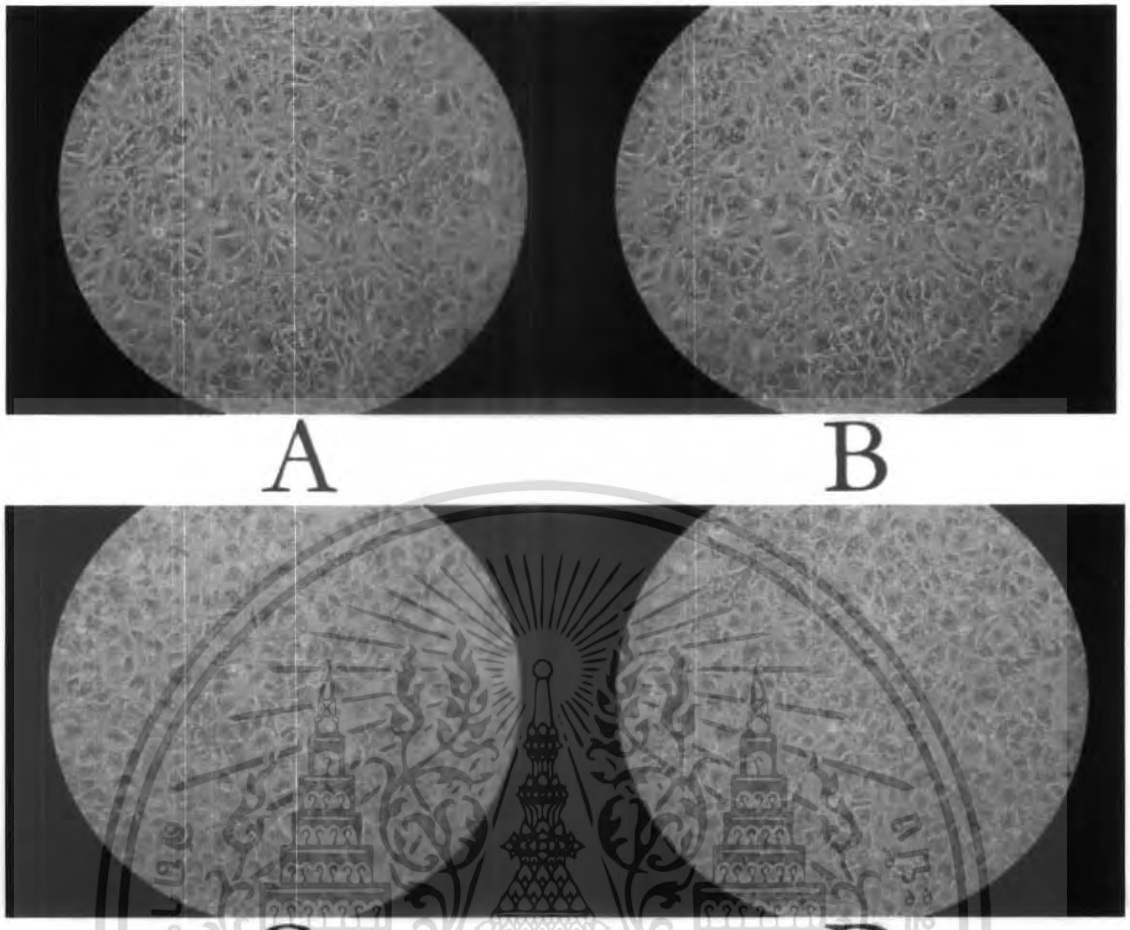
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตราฐานของ NCCLS กำหนดขนาดต่ำสุดของโซนใสที่ถือว่ามีฤทธิในการยับยั้งจุลินทรีย์อยู่ที่ 10 มิลลิเมตร ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดหยาบทีได้จากเปลือกส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์ที่ใช้ทดสอบ

4.5 ตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอในแต่ละพันธุ์โดยวิธี Neutral Red Straining

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอในแต่ละพันธุ์โดยวิธี Neutral red straining ตรวจสอบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต โดยรูปของเซลล์ IEC6 ที่ถูกย้อมด้วยสี neutral red ดังแสดงในรูป 4.5 ซึ่งจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตสามารถดูได้จากการติดสีแดงของ neutral red มีปริมาณใกล้เคียงกับเซลล์ชุดควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ใช้ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ IEC6

A ชุดควบคุม (เซลล์ IEC6)

B สารสกัดจากเปลือกส้มโอทองดีที่ 20 มก./มล.

C สารสกัดจากเปลือกส้มโอขาวน้ำผึ้งที่ 20 มก./มล.

D สารสกัดจากเปลือกส้มโอขาวแตงกวาที่ 20 มก./มล.

การที่สารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์สอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยสารสกัดหยาบนี้ไม่เป็นพิษต่อเซลล์สัตว์และจุลินทรีย์ จึงอาจนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารโดยใช้เป็นสารป้องต้านอนุมูลอิสระ แต่การใช้สารสกัดหยาบในอาหารจะต้องคำนึงถึงปริมาณที่ใช้เนื่องจากสารสกัดหยาบอาจทำให้สีกลิ่น และรสชาติของอาหารเปลี่ยนแปลงไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการเตรียมสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาว 3 สายพันธุ์ในประเทศไทย (ขาวแดงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดี) โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าได้ผลผลิตทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากพันธุ์ขาวแดงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดีคิดเป็น 7.24 7.87 และ 7.99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้โดยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดหยาบจากพันธุ์ขาวน้ำผึ้งมีประสิทธิภาพสูงสุดในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50} = 0.04 ไมโครกรัมของสารสกัดหยาบต่อมิลลิลิตรของ DPPH) และรองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากพันธุ์ทองดี (IC_{50} = 3.75 ไมโครกรัมของสารสกัดหยาบต่อมิลลิลิตรของ DPPH) และขาวแดงกวา (IC_{50} = 200 ไมโครกรัมของสารสกัดหยาบต่อมิลลิลิตรของ DPPH) จากการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทางอาหาร 7 ชนิด และยีสต์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย 2 ชนิด ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบที่ได้โดยวิธี Neutral red assay พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เยื่อบุลำไส้เล็กของหนู (IEC6) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ขจร เจริญศิริ และ ฉัตรชัย ศรไชย. 2534. การต้านแบคทีเรียและการดื้อยา. ตำราแบคทีเรียพื้นฐาน. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2544. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. ภาควิชาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, กรุงเทพมหานคร.

วิเศษ อัครวิทยากุล. 2537. การปลูกส้มโอในโครงการหนังสือเกษตรชุมชน, กรุงเทพมหานคร.

Albach, R.F. and Redman, G.H. 1969. Composition and inheritance of flavanones in citrus fruit. *Phytochem*. 8: 530-534.

Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., Kilburn J.D., Rakariyatham N. 2007. Antimicrobial gallic acid from Caesalpinia mimosoides Lamk. *Journal of Food Chemistry*. 100: 1044-1048.

Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G., Karadogan, T. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Journal of Food Control*. 15: 169-172.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. and Bersert, E. C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittle wissenschaft und Technologie*. 28(1): 25-30.

Bocco, A., Cuvelier, M., Richard, H. and Berset, C. 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 46: 21-23.

Chang, H. C., Lin, Y. H, Chang, Y. C. and Liu, C. Y. 2006. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. *Journal of Food Engineering*. 77: 478-485.

Dimitrios, B. 2006. Source of Natural Phenolic Antioxidant. *Trends in Food Science & Technology*. 17: 505–512.

Elzaawely, A. A, Xuan D.T, Tawata S. 2007. Changes in essential oil, kava pyrones and total phenolics of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. leaves exposed to copper sulphate. *Journal of Environmental and Experimental Botany*. 59: 347–353.

Fernandez-Lopez, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Perez-Alvarez, J.A. and Kuri, V. 2005.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*. 69: 371–380.

Fitzgerald, J. D., Straford, M., Gasson, J. M. and Narbad A. 2004. The Potential Application of Vanillin in Prcventing Yeast Spoilage of Soft Drinks and Fruit Juices. *Journal of Food Protection*. 67: 391 – 395.

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., Rasooli, I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Journal of Food Chemistry*. 102: 898-904.

Imeh, U. and Khokhar, S. 2002. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 50: 6301.

Jackman, R.L. and Smith, J.L. 1996. Anthocyanins and betalains in Natual food colorants. New York.

Kawaii, S., Tomono, Y., Katasem, E., Ogawa, K. and Yono, M. 1999. Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 47: 3565-3571.

Khan, M.R., Omoloso, A.D. and Kihara, M.. 2003. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Fitoterapia*. 74 : 501-505.

Kim, M. C. and Pratt, D.E. 1992. Thermal degradation of phenolic antioxidants In Phenolic compounds in food and their effects on health II : Antioxidant & cancer prevention. Washington, D.C.: American Chemical Society.

Koca, U., Rathinasabapathi, B. and Moore, G. A. 2003. Distribution of total polyphenolics and antioxidant potentials indifferent tissues of *Citrus paradisi*, *Citrus crandis* and *Citrus sinensis*. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 116: 197-200.

Kumaran, A., Karunakaran J. R. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India, *Lebensmittle wissenschaft und Technologie*. 40: 344–352.

Lee, Y.L., Cesario, T., Wang, Y., Shanbrom, E. and Thrupp, L. 2003. Antibacterial activity of vegetables and juices. *Nutrition*. 19: 994-996.

Llorach, R., Espin, J.C., Tomas-Barberan, F.A. and Ferreres F. 2003. Valorization of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) by-products as a source of antioxidant phenolics, *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51: 2181.

Macheix, J.J., Fleuriet, A. and Billot, J. 1990. Fruit phenolics. Boca Raton: *CRC Press*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mackeen, M.M., Ali, A.M., Lajis, N.H., Kawazu, K., Hassan, Z., Amran, M., Habsah, M., Mooi, L.Y. and Mohamed, S.M. 2000. Antimicrobial, antioxidant, antitumour-promoting and cytotoxic activities of different plant part extracts of *Garcinia atroviridis* Griff. ex T. Anders. *Journal of Ethnopharmacology*. 72: 395–402.

Manthey, J.A. and Grohmann, K. 2001. Phenols in citrus peel byproducts: concentrations of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in citrus peel molasses. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 49: 3268.

Manzocco, L., Anese, M. and Nicoli, C. M. 1998. Antioxidant Properties of Tea Extracts as Affected by Processing. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*. 31: 694-698.

Middleton Jr, E. and Kandaswami, C. 1994. Potential health promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technology*: 115-119.

Park, G.L., Avery, S.M., Byers, J.L. and Nelson, D.B. 1983. Identification of bioflavonoids from citrus. *Food Technology*. 37: 98-105.

Ray, B. 1996. Fundamental Food Microbiology. *CRC Press*. London.

Risch, B. and Herrmann, K. 1988. Hydroxycinnamic acid derivatives in citrus fruit. *Z.lebensm. Unters-Forsch*. 178: 530-534.

Robard, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P. and Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidatives process in fruits. *Journal of Food Chemistry*. 66: 401-436

Rodriguez, J.K., Alberto, R.M. and Nadra, C.M. 2005. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Journal of Food control*. 18: 93-101.

Ross, J.A. and Kasum, C.M. 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety, Annual Review of Nutrition. 22: 19.

Sanchez, M. C., Larrauri, J. A., and Saura, C. F. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76:270-276

Shon, M.Y., Choi, S.D., Kahng, G.G. and Nam, S.H. 2004. Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. *Food and Chemical Toxicology*. 42 : 659–666.

Spiegel-Roy, P. and Goldschmidt, E.E. 1996. Biology of Citrus, *Cambridge University Press*, Cambridge.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Siripongvutikorn, S., Thummaratwasik, P. and Huang Y. 2005. Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, Tom-Yum. *Lebensmittle Wissenschaft und Technologie*. 38: 347–352

Tomas-Barberan, F.A. and Clifford, M.N. 2000 Review flavanones, chalcones and dihydrochalcones nature, occurance and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 1073-1080.

Vuotto, M.L., Basile, A., Moscatiello, V., Sole, P. D., Castaldo-Cobianchi, R., Laghi, E. and Ielpo, M. T. L. 2002. Antimicrobial and antioxidant activities of *Feijoa sellowiana* fruit. International. *Journal of Antimicrobial Agents*. 13:197–201.

Wolfe, K., Wu, X. and Liu, R.H. 2003. Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51: 609.

http://www.doa.go.th/pl_data/PUMMELO/1stat/st01.html

http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html

http://www.healthnet.in.th/text/forum2/juice/juice092.htm

http://www.thaiclinic.com/antioxidant.html

http://www.stkc.go.th

http://whatscookingamerica.net/pomelo.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

สูตรอาหาร Mueller-hinton agar (MHA) ที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรีย

สูตรอาหาร Mueller-hinton agar (MHA) ที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรีย ประกอบด้วย (หน่วย กรัมต่อลิตร)

Beef infusion	300
Casamino acids	17.5
Starch	1.5
Agar	17.0

การเตรียมอาหาร Mueller-hinton agar (MHA) โดยใช้อาหารสำเร็จรูป

ตักสารมา 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นนำไปเข้าหม้อนึ่งความดันไอ ซึ่งตั้งอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลืองค่อนข้างน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.
อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์

สูตรอาหาร Sabourand's destrose agar (SDA) ที่ใช้เลี้ยงยีสต์ (Difco)

สูตรอาหาร Sabourand's destrose agar (SDA) ที่ใช้เลี้ยงยีสต์ประกอบด้วย (หน่วย กรัมต่อลิตร)

Enzyme Digest of Casein	10
Dextrose	10
Agar	15
pH	5.6 ± 0.2

การเตรียมอาหาร Sabourand's destrose agar (SDA) โดยใช้อาหารสำเร็จรูป

ตักสารมา 65 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นนำไปเข้าหม้อนึ่งความดันไอ ซึ่งตั้งอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลืองค่อนข้างน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ข้อมูลการทดลอง

ตารางที่ ค-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา

ความเข้มข้น (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.00001	1.675	1.660	1.666
0.0001	1.656	1.650	1.666
0.001	1.647	1.613	1.638
0.01	1.597	1.586	1.584
0.1	1.575	1.584	1.577
1.0	1.516	1.545	1.511
10	1.496	1.512	1.501
100	1.459	1.472	1.451
1000	1.166	1.125	1.165

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

ความเข้มข้น (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.00001	1.543	1.443	1.525
0.0001	1.476	1.515	1.485
0.001	1.450	1.435	1.498
0.01	1.443	1.422	1.426
0.1	1.388	1.355	1.340
1.0	1.299	1.287	1.308
10	1.257	1.249	1.252
100	1.199	1.234	1.226
1000	0.866	0.851	0.852

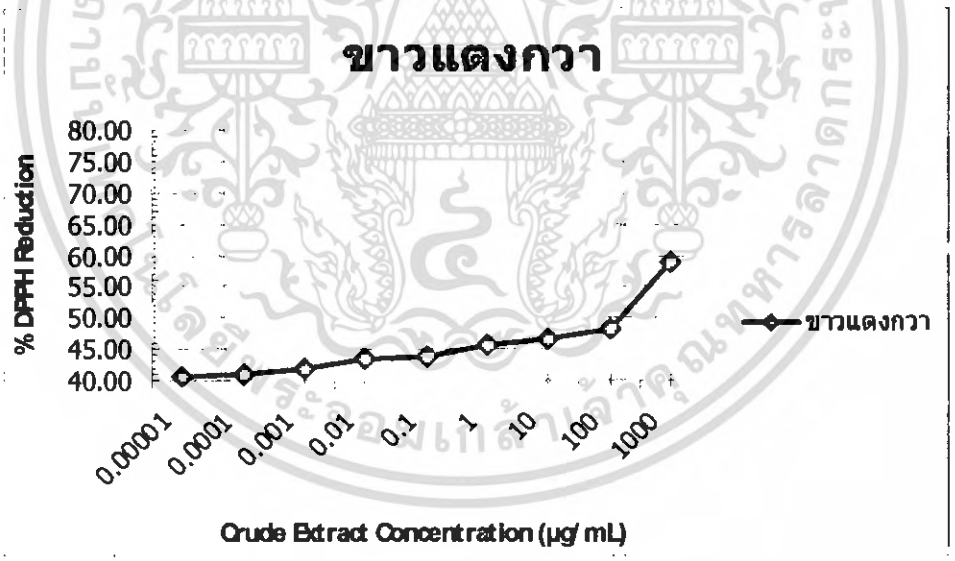
ตารางที่ ค-3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดี

ความเข้มข้น (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.00001	1.650	1.639	1.677
0.0001	1.598	1.647	1.632
0.001	1.628	1.608	1.582
0.01	1.543	1.578	1.551
0.1	1.504	1.511	1.528
1.0	1.445	1.466	1.446
10	1.330	1.319	1.357
100	1.312	1.311	1.340
1000	1.115	1.137	1.121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

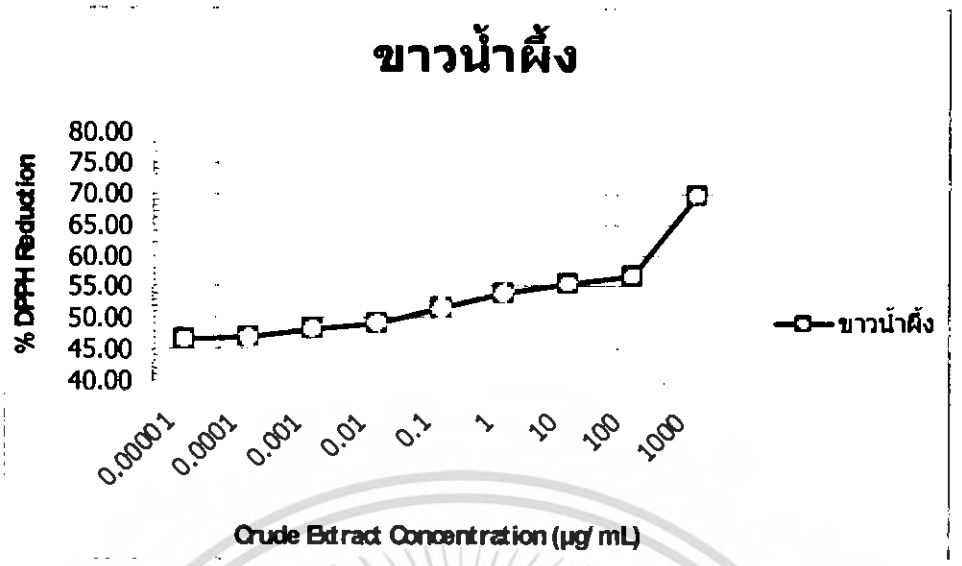
ตารางที่ ค-4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรของ quercetin

ความเข้มข้น (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.00005	1.539	1.297	-
0.0005	1.496	1.260	-
0.005	1.488	1.203	-
0.01	1.306	1.299	1.319
0.1	1.289	1.275	1.277
1.0	1.155	1.171	1.154
10	0.072	0.102	0.079
100	0.052	0.066	0.051
1000	0.047	0.043	0.049

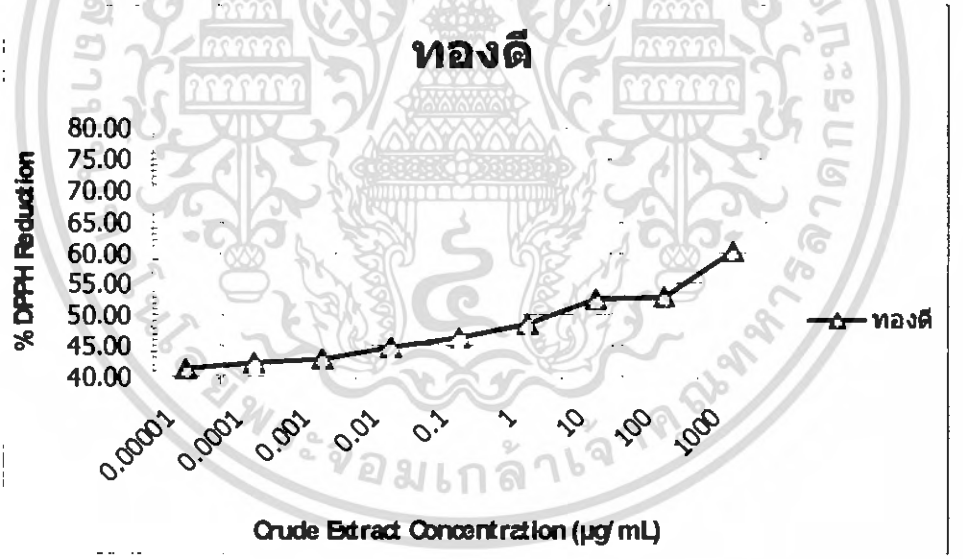


รูปที่ ค-1 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ของสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

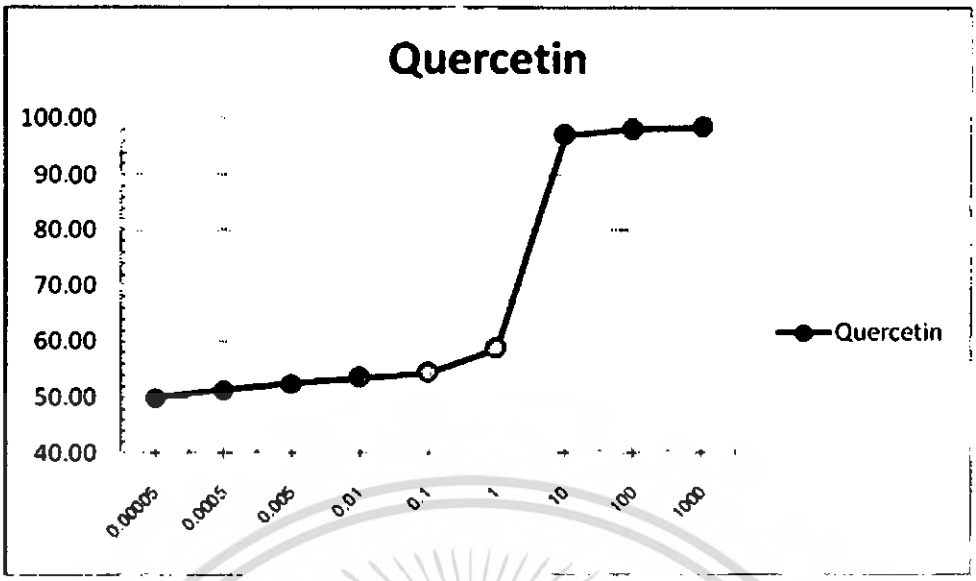


รูปที่ ค-2 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ของสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง



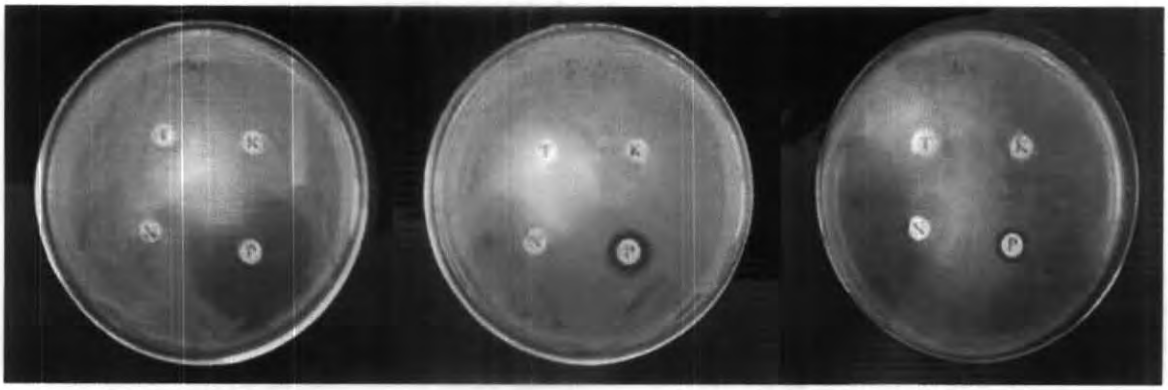
รูปที่ ค-3 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ของสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-4 เปอร์เซ็นต์ DPPH ที่ถูกรีดิวส์ของ quercetin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B C

D E F

G H I

K คือ ส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา
N คือ ส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง
T คือ ส้มโอพันธุ์ทองดี
P คือ ชุดควบคุม
(Penicillin G: แบคทีเรีย , Amphotericin B: ยีสต์)

รูปที่ ค-5 ผลของสารสกัดจากเปลือกส้มโอส่วนสีขาวพันธุ์ขาวแตงกวา ขาวน้ำผึ้ง และทองดีต่อการยับยั้งเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A : *Staphylococcus aureus* TISTR 118

B : *Escherichia coli* DMST 4212:

C: *Yersinia enterocolitica* DMST 9380

D: *Bacillus cereus* DMST 5040

E: *Salmonela enteritidis* DMST 10633

F: *Salmonela typhimurium* DMST 0562

G: *Listeria monocytogenes* DMST 11256

H: *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019

I: *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ทางสถิติ

1.ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเท่ากัน

ANOVA

Concentration (ug/mL)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
0.00001	Between Groups	147.082	3	49.027	7.667	.013
	Within Groups	44.761	7	6.394		
	Total	191.843	10			
0.0001	Between Groups	162.536	3	54.179	10.118	.006
	Within Groups	37.484	7	5.355		
	Total	200.020	10			
0.001	Between Groups	175.593	3	58.531	7.392	.014
	Within Groups	55.428	7	7.918		
	Total	231.021	10			
0.01	Between Groups	188.082	3	62.694	323.691	.000
	Within Groups	1.549	8	.194		
	Total	189.632	11			
0.1	Between Groups	213.578	3	71.193	270.401	.000
	Within Groups	2.106	8	.263		
	Total	215.684	11			
1.0	Between Groups	300.771	3	100.257	468.301	.000
	Within Groups	1.713	8	.214		
	Total	302.484	11			
10	Between Groups	4777.375	3	1592.458	7118.503	.000
	Within Groups	1.790	8	.224		
	Total	4779.165	11			
100	Between Groups	4753.026	3	1584.342	6362.913	.000
	Within Groups	1.992	8	.249		
	Total	4755.018	11			
1,000	Between Groups	3033.470	3	1011.157	4328.259	.000
	Within Groups	1.869	8	.234		
	Total	3035.339	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 0.00001 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
ขาวแดงกวา	3	40.73300	
ทองดี	3	41.16467	
ขาวน้ำผึ้ง	3		46.55167
Quercetin	2		49.98200
Sig.		.849	.161

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.667.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ตารางที่ ง-2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 0.0001 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
ขาวแดงกวา	3	41.08433	
ทองดี	3	42.21433	
ขาวน้ำผึ้ง	3		46.97333
Quercetin	2		51.39350
Sig.		.590	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.667.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 0.001 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
ขาวแดงกวา	3	41.95467		
ทองดี	3	42.91033	42.91033	
ขาวน้ำผึ้ง	3		48.06133	48.06133
Quercetin	2			52.53950
Sig.		.707	.072	.109

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.667.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

ตารางที่ ง-4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
ขาวแดงกวา	3	43.51138			
ทองดี	3		44.63799		
ขาวน้ำผึ้ง	3			49.15274	
Quercetin	3				53.50200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
ขาวแดงกวา	3	43.87849			
ทองดี	3		46.16661		
ขาวน้ำผึ้ง	3			51.61749	
Quercetin	3				54.48533
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-6 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
ขาวแดงกวา	3	45.81498			
ทองดี	3		48.37066		
ขาวน้ำผึ้ง	3			53.85709	
Quercetin	3				58.76300
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
ขาวแดงกวา	3	46.56755			
ทองดี	3		52.52992		
ขาวน้ำผึ้ง	3			55.46866	
Quercetin	3				97.00200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-8 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
ขาวแดงกวา	3	48.05433			
ทองดี	3		53.03946		
ขาวน้ำผึ้ง	3			56.64178	
Quercetin	3				97.99733
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-9 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเปลือกส้มโอที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Duncan

TREATMENT	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
ขาวแดงกวา	3	59.04919			
ทองดี	3		60.03081		
ขาวน้ำผึ้ง	3			69.55800	
Quercetin	3				98.35267
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2. ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวแดงกวา

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	757.704	8	94.713	438.289	.000
Within Groups	3.890	18	.216		
Total	761.594	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan

Concentration (ug/mL)	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
0.00001	3	40.73300					
0.0001	3	41.08433					
0.001	3		41.95467				
0.01	3			43.51133			
0.1	3			43.87867			
1.0	3				45.81500		
10	3				46.56767		
100	3					48.05433	
1,000	3						59.04900
Sig.		.367	1.000	.346	.063	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3. ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ทองดี

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	934.406	8	116.801	279.392	.000
Within Groups	7.525	18	.418		
Total	941.931	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan

Concentration (ug/mL)	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
0.00001	3	41.16467						
0.0001	3	42.21433	42.21433					
0.001	3		42.91033					
0.01	3			44.63800				
0.1	3				46.16667			
1.0	3					48.37067		
10	3						52.53033	
100	3						53.03933	
1,000	3							60.03100
Sig.		.062	.204	1.000	1.000	1.000	.348	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

4. ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนสีขาวของเปลือกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1239.531	8	154.941	196.409	.000
Within Groups	14.200	18	.789		
Total	1253.730	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan

Concentration (ug/mL)	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
0.00001	3	46.55167					
0.0001	3	46.97333					
0.001	3	48.06133	48.06133				
0.01	3		49.15267				
0.1	3			51.61767			
1.0	3				53.85733		
10	3					55.46867	
100	3					56.64167	
1,000	3						69.55800
Sig.		.063	.150	1.000	1.000	.123	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

5. ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างแต่ละความเข้มข้นของ Quercetin

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10968.798	8	1371.100	167.106	.000
Within Groups	123.075	15	8.205		
Total	11091.873	23			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan

Concentration (ug/mL)	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
0.00001	2	49.98200		
0.0001	2	51.39350		
0.001	2	52.53950		
0.01	3	53.50200	53.50200	
0.1	3	54.48533	54.48533	
1.0	3		58.76300	
10	3			97.00200
100	3			97.99733
1,000	3			98.35267
Sig.		.127	.066	.620

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้