ผลของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในไข่ไก่

Influence of garlic and shallot extracts on inhibition of *Salmonella* sp. as contaminated in egg

ศศิมล มุ่งหมาย[1] และ สุนิดา เมืองโคตร[2*]
Sasimon Mungmai[1] and Sunida Muangkote[2*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. บนเปลือกไข่ไก่ และเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. โดยนำไข่ไก่ที่สุ่มซื้อในท้องตลาดมานับจำนวนเชื้อ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อน จากนั้นแยกเชื้อ *Salmonella* sp. เพื่อใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง ด้วยวิธี agar disc diffusion method minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) รวมถึงการตรวจสอบลักษณะของเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) พบว่าสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 10 และ 15 (w/v) มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. สารสกัดกระเทียมและหอมแดง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 (w/v) สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. ได้สูงที่สุด รองลงมา คือ ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 5 (w/v) ตามลำดับ ค่า MIC และ MBC ของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงมีค่าเท่ากัน (ร้อยละ 7.5 และ > 15 (w/v)) นอกจากนี้ สารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง มีผลทำให้ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างที่ผิดปกติเท่านั้น เมื่อสังเกตจากลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้อง SEM

คำสำคัญ: การยับยั้ง กระเทียม ไข่ไก่ หอมแดง *Salmonella* sp.

Received: 10 November 2020; Accepted: 30 April 2021

[1] สาขาธุรกิจอาหารและโภชนาการ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34000
[1] Department of Food Business and Nutrition, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani 34000
[2] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34000
[2] Division of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani Rajabhat University. Ubon Ratchathani 34000
* Corresponding author: sunida.m@ubru.ac.th

Abstract

This research aimed to investigate the basic data of *Salmonella* sp. as contaminated in egg. The garlic and shallot extracts were tested for their activity against *Salmonella* sp. The egg from a local market were randomized for total viable count and isolated the *Salmonella* sp. single cell colony. Afterwards, the extracts were tested for their inhibitory effects against *Salmonella* sp. by agar disc diffusion method, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) including electron scanning microscopy (SEM) observation. The results revealed that the garlic and shallot extracts concentrations at 5, 10 and 15% (w/v) were efficacy against the growth of *Salmonella* sp. The garlic and shallot extracts at 15% (w/v) of the concentration showed the highest activities against *Salmonella* sp. followed by 10 and 5% (w/v) of concentrations. In addition, SEM showed that the *Salmonella* sp. cells treated with garlic and shallot extracts showed an irregular shape but had rupture-free cell wall structure.

Keywords: Egg, Garlic, Inhibition, *Salmonella* sp., Shallot

คำนำ

ไข่ไก่เป็นผลิตผลทางการเกษตรที่นิยมนำมาบริโภค เนื่องจากเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และราคาถูก โดยคุณค่าทางโภชนาการของไข่ไก่ประกอบด้วย โปรตีน วิตามิน (เอ บี1 บี2 บี 12 ดี และอี) และแร่ธาตุ (แคลเซียม เหล็ก โคลีน ซีลีเนียม และฟอสฟอรัส) (ศิริพร และคณะ, 2558) ซึ่งช่วยในการบำรุงสมองและเซลล์เม็ดเลือดให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยที่พบว่าในไข่ไก่สดมีการเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* sp. สูงมากกว่า 100 CFU/g (Assefa et al., 2011) ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในสายพันธุ์ *S. enteritidis S. heideberg S. typhimurium* และ *S. bongori* โดยการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* sp. ในไข่ไก่ จะเกิดขึ้นในระบบการสืบพันธุ์ของแม่ไก่ และจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ในไข่แดงได้รวดเร็วกว่าในไข่ขาว (ณัฐา และคณะ, 2558) ดังนั้นหากผู้บริโภครับประทานไข่ไก่ที่ให้ความร้อนในการแปรรูปไม่เพียงพอและมีการปนเปื้อนของเชื้ออาจจะทำให้เกิดโรค Salmonellosis ที่มีอาการท้องเสีย และรุนแรงไปถึงการติดเชื้อในระบบต่างๆของร่างกาย ซึ่งเป็นอันตรายต่อชีวิตได้

กระเทียมและหอมแดงเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย นิยมใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพและเภสัช โดยประสิทธิภาพของสารเหล่านี้อยู่ในรูปของน้ำมันหอมระเหย (essential oil) และสารสกัด (extract) Hovana et al (2011) พบว่าการสกัดแบบการกลั่นที่ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นน้ำมันหอมระเหยจะมีผลผลิตที่ได้น้อยและสารสำคัญที่ไม่ทนร้อนจึงง่ายต่อการสลายตัว ดังนั้นการสกัดด้วยตัวทำละลายจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นำมาใช้ในการสกัดสารจากกระเทียมและหอมแดง ส่วนสารสำคัญที่พบในสารสกัดกระเทียมและหอมแดง คือ สารในกลุ่มซัลเฟอร์ สารประกอบฟีนอลิก และไกลโคไซด์ เป็นต้น (Kyung, 2012; Santas et al., 2010; Lanzotti et al., 2012) ซึ่งสารกลุ่มซัลเฟอร์ มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยเฉพาะสาร dially thiosulfinate หรือ allicin (Corzo-Martinez et al., 2007; Griffiths et al., 2002) สารดังกล่าวสามารถควบคุมการเจริญของแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus* และ *S. enteritidis* และเชื้อรา เช่น *Aspergillus niger Fusarium oxysporum* และ *Penicillium cyclopium* เป็นต้น (Benkeblia and Lanzotti, 2007) สารออกฤทธิ์นี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย (Ankri and Mirelman, 1999)

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นการควบคุมการเจริญของเชื้อ *Salmonella* sp.ที่ปนเปื้อนในไข่ไก่ โดยใช้สารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง เพื่อเป็นประโยชน์แก่ผู้บริโภคและนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารยับยั้งจากธรรมชาติเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในอาหารต่อไป

วิธีการวิจัย

1. ศึกษาข้อมูลพื้นฐานของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. บนเปลือกไข่ไก่

นำตัวอย่างไข่ไก่ที่ซื้อจากตลาดท้องถิ่นในจังหวัดอุบลราชธานี มาทำการเพิ่มจำนวนเชื้อด้วยการแช่ไข่ไก่ใน lactose broth ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เชื้อจุลินทรีย์บริเวณเปลือกไข่หลุดผสมกับ lactose broth บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารละลายตัวอย่างที่ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อ *Salmonella* sp. มาเจือจางที่ระดับความเข้มข้นที่ 10^{-1}-10^{-4} แล้วดูดสารละลายแต่ละหลอดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella-Shigella (SS) agar และ Brilliant green (BG) agar โดยใช้เทคนิค spread plate บ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สังเกตลักษณะโคโลนีบนอาหาร SS agar จะไม่มีสี หรือบางสายพันธุ์อาจเป็นสีชมพูอ่อนกลางโคโลนี ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ BG agar จะมีสีชมพู แดง หรือไม่มีสี บางครั้งอาจมีลักษณะเงาโลหะ (metallic sheen) โดยรายงานผลเป็น logCFU/g

2. การแยกเชื้อ *Salmonella* sp.

นำลูปมาแตะเชื้อ *Salmonella* sp. ที่ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อแล้วในขวดทดลอง จากนั้นนำมา ขีดเชื้อบนอาหาร SS agar และ BG agar บ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำเชื้อ *Salmonella* sp. ที่แยกได้มาใช้ในการทดสอบต่อไป

3. การเตรียมสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงสด

นำสมุนไพรที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ กระเทียม (*Allium sativum* L.) และหอมแดงสด (*A. cepa* L. var. *aggregatum* G. Don) จากอำเภอยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ โดยกระเทียมและหอมแดง นำมาปอกเปลือก ล้างทำความสะอาด และผึ่งให้แห้ง นำมาหั่น ขนาด 3-5 มิลลิเมตร จากนั้นใส่ตัวอย่างละ 500 กรัม ในขวดสีชา แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร หรือจนน้ำกลั่นท่วมตัวอย่าง แล้วจึงเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน (รัชดา และสุนิดา, 2563) เพื่อให้ตัวอย่างอ่อนนุ่ม แล้วนำมาคั้น เพื่อดึงสารออกมามากที่สุด จากนั้นกรองเอากากออกด้วยผ้ากรอง แล้วจึงนำสารสกัดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแยกสาร (ยี่ห้อ Beckman รุ่น AvantiTW J 25) ที่ความเร็วรอบ 9,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เพื่อให้ได้ส่วนที่ใสของสารสกัด แล้วนำส่วนที่ใสมากรองด้วยชุดกรองแบคทีเรียขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร หลังจากนั้นนำสารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 100 (w/v) ที่ได้มาละลายใน dimethyl sulfoxide (DMSO; Fisher Scientific, UK) ความเข้มข้นร้อยละ 20 (w/v) โดยเตรียมสารละลายเริ่มต้น (stock solution) ของสารสกัดแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นร้อยละ 50 (w/v) เก็บสารสกัดใส่ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาคุณภาพของสารสกัดและรอทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและจุลินทรีย์ต่อไป

3.1 ร้อยละปริมาณของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง (% Yield) (รัชดา และสุนิดา, 2563)

$$\%\ \text{Yield (dry basis)} = \frac{\text{ปริมาณของสารที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

3.2 ลักษณะปรากฏ วิเคราะห์ลักษณะปรากฏของสารสกัดจากกระเทียม และหอมแดง ด้วยสายตา และรายงานลักษณะปรากฏ (สี ความหนืด ความขุ่นและใส) ของสารสกัดที่สังเกตได้

3.3 การวัดสี สีของสารสกัดจากกระเทียม และหอมแดง จะวัดโดยใช้เครื่องวัดสี Hunter Lab (Color Quest ll Model SSE343, USA) และรายงานในรูป L* (lightness) a* (redness/ greenness) และ b* (yellowness/blueness)

4. ผลของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp.

4.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อ *Salmonella* sp. เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยโคโลนีเดี่ยวของเชื้อบนอาหารเลี้ยง NA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (shaker) ที่ความเร็ว 240 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นเชื้อให้เจริญเติบโตได้ดี จากนั้นนำเชื้อที่เลี้ยงไว้ใน NB มาวัดค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับสารละลาย Mcfarland No. 0.5 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ซึ่งจะทำให้มีเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^8 CFU/ml จากนั้นเขี่ยเชื้อใน NA slant บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Wu et al., 2008) แล้วนำไปเก็บที่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

4.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในไข่ไก่

ด้วยวิธี Disc diffusion method (Muangkote et al., 2018b)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ในจานเพาะเชื้อ แล้วดูดเชื้อแบคทีเรียมา 100 ไมโครลิตร ลงในจานแล้วเกลี่ยเชื้อให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นวาง paper disc (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร) ที่ฆ่าเชื้อแล้วลงบนอาหาร แล้วหยดสารสกัดจากระเทียมและหอมแดงที่ความเข้มข้นสุดท้ายเป็นร้อยละ 0 5 10 15 (w/v) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบน paper disc บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีชุดควบคุม คือ น้ำกลั่น เป็นตัวควบคุมลบ และยาปฏิชีวนะ (Streptomycin ที่ความเข้มข้น 100 ppm) เป็นตัวควบคุมบวก ตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี และรายงานผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย หน่วยเป็นมิลลิเมตร

4.3 การทดสอบค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) และ Minimum bactericidal concentration (MBC) ของเชื้อ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในไข่ไก่ ด้วยวิธี broth dilution (Muangkote et al., 2018a)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ที่มีความเข้มข้น 2 เท่า ผสมกับสารสกัดให้มีความเข้มข้นร้อยละ 15 7.5 3.75 1.875 0.937 0.468 0.234 0.117 0.058 0.029 (w/v) ตามลำดับ จากนั้นเติมสารแขวนลอยของเชื้อ *Salmonella* sp. ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml หลอดละ 0.1 มิลลิลิตร บ่มตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 4.2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และมีชุดควบคุมเช่นเดียวกับข้อ 4.2 ตรวจผลโดยการสังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลงไปจากสีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นสีชมพูหรือไม่มีสี เนื่องจากการเติมสารละลาย Resazurin ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (Muangkote et al., 2018a) และรายงานผลเป็นค่า MIC จากนั้นนำหลอดที่ใสไม่มีการเปลี่ยนแปลงสีมาทดสอบหาค่า MBC ด้วยวิธีขีดเชื้อ (Streak plate) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วสังเกตการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย รายงานผลเป็นค่า MBC

4.4 การตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

นำชิ้นส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อ NA บริเวณที่ปรากฏการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. จากการทดลองที่ 4.2 มาทำการตรวจสอบลักษณะสันฐานวิทยาของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยตัดชิ้น NA ในบริเวณที่ต้องการมีขนาดไม่เกิน 5 ตารางมิลลิเมตร และหนาไม่เกิน 3 มิลลิเมตร นำมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นหยดสารละลายออสเมียมเตตรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 2 ไว้ตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผ่านกระบวนการดีไฮเดรตด้วยแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 50 70 และ 90 ตามลำดับ โดยทำการดีไฮเดรตด้วยแอลกอฮอล์แต่ละความเข้มข้นๆ ละ 10 นาที ตามด้วยแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 3 ครั้งๆ ละ 10 นาที นำมาทำให้แห้ง ณ จุดวิกฤตด้วยเครื่อง Critical Point Dyer (ยี่ห้อ Balzers รุ่น CPD 020) แล้วติดตัวอย่างบนแท่นวางตัวอย่าง (stub) ด้วยเทปกาวสองหน้า จากนั้นนำไปเคลือบทองด้วยเครื่อง Ion sputter (ยี่ห้อ Balzers รุ่น SCD 040) และทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง SEM (magnification × 30,000) (ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5410LV)

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0 (SPSS, Inc., Chicago IL, USA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

1. การแยกและนับจำนวนเชื้อ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในไข่ไก่

เมื่อมีการแยกและนับจำนวนเชื้อ *Salmonella* sp. ในเปลือกไข่ไก่ที่สุ่มซื้อมาจากตลาดภายในจังหวัดอุบลราชธานี พบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. (ตารางที่ 1) โดยการตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* sp. นั้น อาจเกิดจากการติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ของแม่ไก่ ซึ่งสามารถส่งผ่านมายังไข่ไก่ได้ โดยแม่ไก่ที่ติดเชื้อสามารถที่จะขับเชื้อออกมาในอุจจาระและปนในไข่ไก่ได้ (Gantois et al., 2009) นอกจากนี้มีงานวิจัยของ Suksangawong (2008) ทำการสุ่มตรวจไข่ไก่ที่ขายในตลาดท้องถิ่นในจังหวัดเชียงใหม่ พบการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella* sp. ในเปลือกไข่ แต่ไม่พบการปนเปื้อนที่ในไข่ไก่ และจากการทดลองตรวจหา *Salmonella* spp. ในจังหวัดชลบุรี กรุงเทพมหานคร

ฉะเชิงเทรา ลพบุรี นครราชสีมาและอ่างทอง โดยการตรวจไข่ไก่จากตลาดสด ซึ่งนำมาตรวจโดยการเพาะแยกเชื้อ สามารถตรวจพบเชื้อ *Salmonella* sp. จำนวนร้อยละ 16.1 จากไข่ไก่ทั้งหมด โดยพบทั้งจากเปลือกไข่ และในไข่ไก่ โดยไข่ที่อยู่ในตลาดสดที่นำมาจากแม่ไก่นั้น ถ้าไม่ได้ทำการล้าง ไม่ได้แช่เย็น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้มากขึ้น และเชื้อจะเจาะเข้าไปในไข่ไก่ได้ ดังนั้นจึงทำให้มีการล้างไข่ไก่ และเก็บไว้ในอุณหภูมิแช่เย็น หรือที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *Salmonella* sp. ที่จะมีความเสี่ยงต่อการเจาะเข้าไปภายในไข่ไก่ได้ (Saitanu et al., 1994)

ตารางที่ 1 จำนวนเชื้อ *Salmonella* sp. ที่ปนเปื้อนในเปลือกไข่ไก่

Egg samples	*Salmonella* sp. count (logCFU/g)	
	SS agar	BG agar
1	3.45	3.10
2	1.54	1.02
3	2.24	2.01
4	1.45	1.14
5	1.89	1.25

SS agar = Salmonella-Shigella agar; BG agar = Brilliant green agar

2. คุณสมบัติทางกายภาพของสกัดจากกระเทียมและหอมแดง ก่อนการใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์

จากการศึกษาการสกัดตัวอย่างกระเทียม และหอมแดงสด ด้วยการ maceration ในเอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางก่อนการสกัดสาร พบว่าสารสกัดจากหอมแดงให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ซึ่งเท่ากับ 34.40 รองลงมาคือ สารสกัดจากกระเทียม (ตารางที่ 2) เนื่องจากกระเทียมและหอมแดง ส่วนใหญ่มีสาร sulfur เป็นองค์ประกอบหลัก โดยคุณสมบัติของสาร sulfur สามารถละลายได้ดีในสภาวะที่มีขั้ว นอกจากนี้ การที่หอมแดงมีปริมาณร้อยละผลผลิตมากกว่ากระเทียม อาจเนื่องมาจากหอมแดงมีปริมาณสาร sulfur มากกว่าในกระเทียม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sagdic and Tornuk (2012) and Benkeblia and Lanzotti (2007) พบว่าสาร sulfur ในหอมหัวใหญ่มีมากกว่าในกระเทียมถึง 4 เท่า ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากหอมแดงมากกว่าสารสกัดจากกระเทียม

ส่วนลักษณะปรากฏของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง พบว่ามีความคล้ายกัน คือ มีสีเหลือง ลักษณะขุ่นและข้นหนืด โดยเฉพาะสารสกัดจากกระเทียมจะมีสีเหลืองเข้มกว่าหอมแดง สอดคล้องกับค่าสี ที่แสดงในรูปของค่า L*, a*, b* พบว่า สารสกัดจากกระเทียมมีค่าความสว่าง (L*) น้อยกว่าหอมแดง และมีค่า a* เท่ากับ 1.63 และ 5.06 ส่วนค่า b* เท่ากับ 25.42 และ 30.68 (ตารางที่ 2) ซึ่งผลการทดลองมีความสอดคล้องกับลักษณะปรากฏที่ได้

ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพและร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากกระเทียม และหอมแดง

Extraction Samples	Extraction yield (%)	Appearances	Color		
			L*	a*	b*
Garlic	26.13	มีสีเหลืองเข้ม ขุ่นและข้นหนืด	22.59±0.11[b]	1.63±0.25[b]	25.42±0.26[b]
Shallot	34.40	มีสีเหลือง ขุ่นและข้นหนืด	35.35±0.24[a]	5.06±0.33[a]	30.68±0.45[a]

a,b...อักษรแนวตั้งที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp.

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* sp. โดยใช้สารสกัดจากกระเทียม และหอมแดง ด้วยวิธี agar disc diffusion method และ minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) ตลอดจนการตรวจสอบลักษณะของเซลล์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) ซึ่งผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3

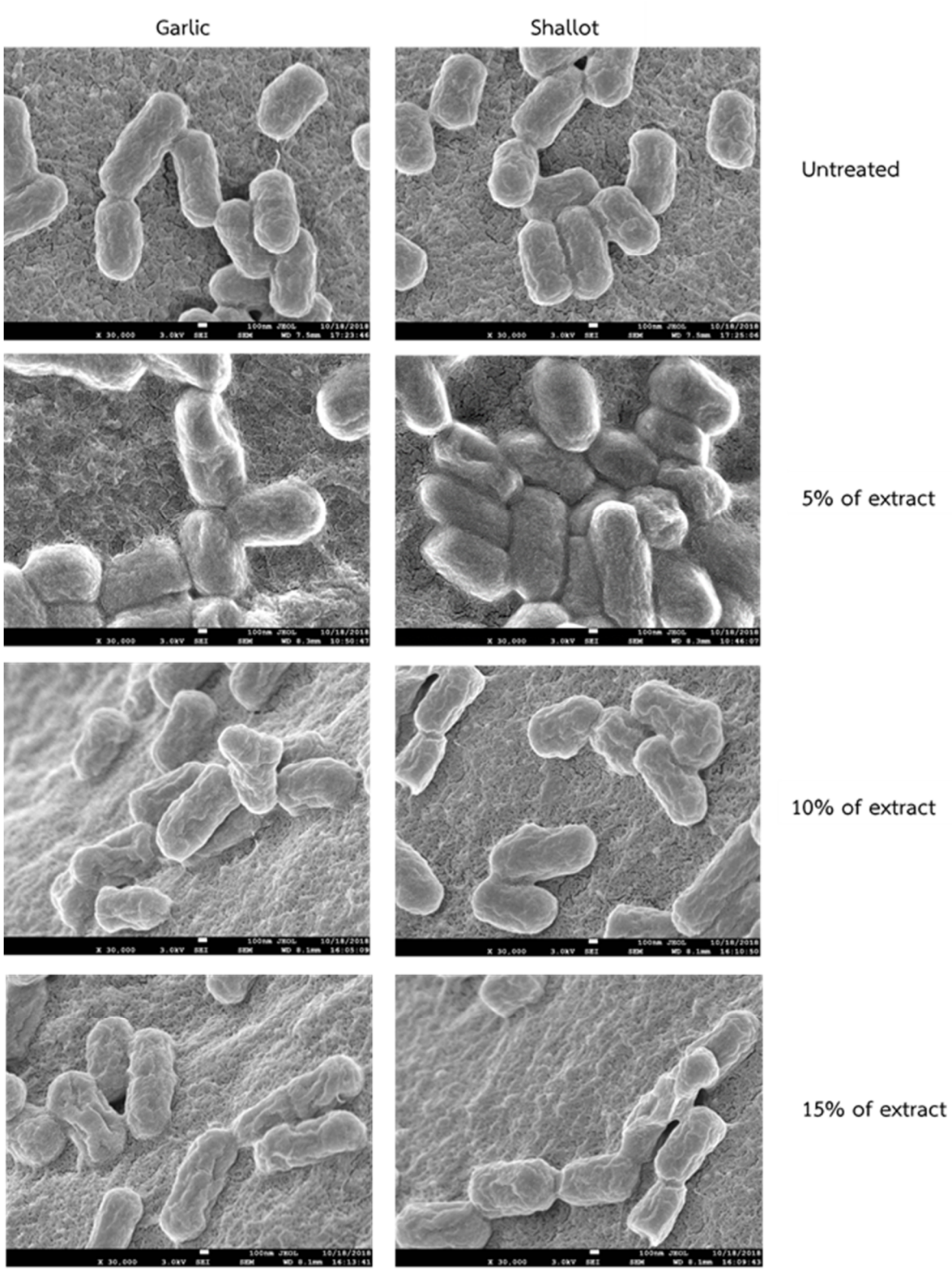
ตารางที่ 3 ค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* sp. ด้วยสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง

Extraction Samples	Clear zone of bacteria (mm)			MIC (% w/v)	MBC (% w/v)
	5% (w/v)	10% (w/v)	15% (w/v)		
Garlic	5.69±0.12^{c}	6.90±0.23^{b}	7.08+0.28^{a}	7.5	>15
Shallot	5.50+0.10^{c}	6.29+0.14^{b}	6.42+0.10^{a}	7.5	>15
Streptomycin		14.66		0.025	0.05

a,b...อักษรแนวนอนที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการทดลองจะเห็นว่าสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. ซึ่งแสดงให้เห็นจากค่าโซนการยับยั้ง ค่า MIC และ ค่า MBC โดยสารสกัดจากกระเทียม ที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 มีค่าโซนการยับยั้งสูงที่สุด รองลงมาคือร้อยละ 10 และ 5 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เช่นเดียวกับผลการศึกษาสารสกัดจากหอมแดง พบว่าการใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงจะมีประสิทธิภาพการยับยั้งดีที่สุด ส่วนค่า MIC ของสารสกัดทั้ง 2 ชนิดพบว่า มีค่าเท่ากัน คือร้อยละ 7.5 และ ค่า MBC ต้องใช้มากกว่าร้อยละ 15 ในการฆ่าเชื้อ *Salmonella* sp. ได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 3) สอดคล้องกับลักษณะของเซลล์ภายหลังจากการส่องด้วยกล้อง SEM พบว่า สารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงทั้ง 3 ความเข้มข้น มีผลทำให้ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างที่ผิดปกติ คือ เซลล์ลีบ แบน และบุบ แต่ไม่ได้ทำให้เซลล์แตกและเกิดการรั่วไหลของสารประกอบภายในเซลล์ (ภาพที่ 1) ผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Salmonella* sp. มีความทนทานต่อสารสกัดที่ทดสอบ ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อ *Salmonella* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีชั้นของ lipopolysaccharide (LPS) ซึ่งจะกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันภายในเซลล์ โดยการสร้าง cytokines เพื่อป้องกันเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายได้ Muangkote et al. (2018a) นอกจากนี้ยังพบว่าผนังเซลล์ชั้นนอกสุดของแบคทีเรียแกรมลบมีความหนาและแข็งแรงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Ouattara et al., 1997)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. บนเปลือกไข่ไก่ และนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง พบว่าบนเปลือกไข่ไก่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* sp. อยู่ในช่วงระหว่าง 1.14-3.45 logCFU/ml ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร SS agar และ BG agar อย่างไรก็ตาม เกณฑ์มาตรฐานอาหารทั่วไป ระบุว่า ในอาหารต้องตรวจไม่พบเชื้อ Salmonella ในตัวอย่างอาหาร ปริมาณ 25 กรัม และเมื่อนำเชื้อ *Salmonella* sp. ที่แยกได้มาทดสอบการยับยั้งด้วยสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง พบว่าสารสกัดจากกระเทียม และหอมแดง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 10 และ 15 สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. ได้ โดยเฉพาะเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นที่สูงขึ้น มีผลทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสูงขึ้นเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลอง พบว่าสารสกัดจากกระเทียมมีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีกว่าหอมแดง ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงมีศักยภาพเป็นสารต้านจุลินทรีย์ได้ อีกทั้งยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคและอาหารเน่าเสีย เพื่อเป็นการทดแทนสารต้านจุลินทรีย์ที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ในอาหารได้



ภาพที่ 1 ลักษณะของเซลล์ *Salmonella* sp. ภายหลังจากการยับยั้งด้วยสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ (magnification × 30,000)

สรุป

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานของการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* sp. บนเปลือกไข่ไก่ และนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง พบว่าบนเปลือกไข่ไก่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* sp. อยู่ในช่วงระหว่าง 1.14-3.45 logCFU/ml ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร SS agar และ BG agar อย่างไรก็ตาม เกณฑ์มาตรฐานอาหารทั่วไป ระบุว่า ในอาหารต้องตรวจไม่พบเชื้อ Salmonella ในตัวอย่างอาหาร ปริมาณ 25 กรัม และเมื่อนำเชื้อ *Salmonella* sp. ที่แยกได้มาทดสอบการยับยั้งด้วยสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง พบว่าสารสกัดจากกระเทียม และหอมแดง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 10 และ 15 สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* sp. ได้ โดยเฉพาะเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นที่สูงขึ้น มีผลทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสูงขึ้นเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลอง พบว่าสารสกัดจากกระเทียมมีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีกว่าหอมแดง ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงมีศักยภาพเป็นสารต้านจุลินทรีย์ได้ อีกทั้งยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคและอาหารเน่าเสีย เพื่อเป็นการทดแทนสารต้านจุลินทรีย์ที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ในอาหารได้

เอกสารอ้างอิง

ณัฐา จริยภมรกุร วิชัย สุทธิธรรม และดรุณี ศรีชนะ. 2558. การสำรวจแบคทีเรียก่อโรคซึ่งปนเปื้อนในไข่ที่วางจำหน่ายในเขตอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี. Thai Journal of Science and Technology. 4(1), 104-114.

รัชดา อุยยืนยงค์ และสุนิดา เมืองโคตร. 2563. การยับยั้งแบคทีเรียก่อให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนในผักกาดหอมด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย. วารสารการเกษตรราชภัฏ, 19(2), 67-76.

ศิริพร ตันจอ ตรีรัตน์ สายวรรณ์ ประภาศรี ภูวเสถียร อังคารศิริ ดีอ่วม และครรชิต จุดประสงค์. 2558. คุณค่าทางโภชนาการของไข่ที่นิยมบริโภคและผลของการประกอบอาหาร. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 23(4), 651-666.

Ankri, S. and D. Mirelman. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Journal of Microbes and Infection. 1(2), 125-129.

Assefa, M., A. Teklu, and H. Negussie. 2011. The prevalence and public health importance of Salmonella from chicken table eggs, Ethiopia. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences. 11(4), 512-518.

Benkeblia, N., and V. Lanzotti. 2007. Allium thiosulfinates: chemistry, biological properties and their potential utilization in food preservation. Food. 1(2), 193–201.

Corzo-Martínez, M., N. Corzo, and M. Villamiel. 2007. Biological properties of onions and garlic. Trends in Food Science & Technology. 18(12), 609–625.

Gantois, I., R. Ducatelle, F. Pasmans, F. Haesebrouck, R. Gast, T.J. Humphrey, and F. Van Immerseel. 2009. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. FEMS Microbiology Reviews. 33(4), 718–738.

Griffiths, G., L. Trueman, T. Crowther, B. Thomas, and B. Smith. 2002. Onions—a global benefit to health. Phytotherapy Research. 16(7), 603–615.

Hovana, E.I.K., U.S. James, E. James, E.M. Egbobor, A.G. Egba, E.S. Eta, and O.A. Nwakaku. 2011. Antibacterial and phytochemical studies of *Allium sativum*. New York Science Journal. 4, 123–128.

Kyung, K.H. 2012. Antimicrobial properties of *Allium* species. Current Opinion in Biotechnology. 23(2), 142–147.

Lanzotti, V., A. Romano, S. Lanzuise, G. Bonanomi, and F. Scala. 2012. Antifungal saponins from bulbs of white onion, *Allium cepa* L. Phytochemistry. 74, 133–139.

Muangkote, S., T. Vichitsoonthonkul, V. Srilaong, C. Wongs-Aree, and S. Photchanachai. 2018a. Antimicrobial activities of garlic

and shallot crude extract against food spoilage and human bacterial pathogens. Acta Acta Horticulturae. (1213), 609–614.

Muangkote, S.,T. Vichitsoonthonkul, V. Srilaong, C. Wongs-Aree and S. Photchanachai. 2018b. Influence of roasting on chemical profile, antioxidant and antibacterial activities of dried chili. Food Science and Biotechnology Journal. 28(2), 303-310.

Ouattara, B., R.E. Simard, R.A. Holley, G.J.-P. Piette, and A. Bégin. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. International Journal of Food Microbiology. 37(2–3), 155–162.

Sagdic, O., and F. Tornuk. 2012. Antimicrobial Properties of Organosulfur Compounds. In: Patra, A.K. (Ed.). Dietary Phytochemicals and Microbes. Dordrecht: Springer Netherlands.

Saitanu, K., C. Koowatananukul, J. Jerngklinchan, and J. Sasipreeyajan. 1994. Detection of salmonellae in hen eggs in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. 25(2), 324–324.

Santas, J., M.P. Almajano, and R. Carbó. 2010. Antimicrobial and antioxidant activity of crude onion (*Allium cepa*, L.) extracts. International Journal of Food Science & Technology. 45(2), 403–409.

Suksangawong, C., 2008. Survey study on Salmonella spp. in eggs in Muang District, Chiang Mai. In: Proceedings of the 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Associations FAVA-OIE Joint Symposium on Emerging Diseases, 27-30 October 2008 Sofitel Centara Grand & Bangkok Convention Centre. Bangkok, Thailand.

Wu, V.C.H., X. Qiu, A. Bushway and L. Haper. 2008. Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. LWT-Food Science and Technology. 41(10), 1834-1841.