การยับยั้งแบคทีเรียก่อให้เกิดโรคที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม ด้วยสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย

Inhibition of Pathogenic Bacteria Contaminating in Lettuce by Thai Herb Extracts

รัชดา อุยยืนยงค์[1] และสุนิดา เมืองโคตร[2*]

Ratchada Auyyuenyong[1] and Sunida Muangkote[2*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง และผลของสารสกัดดังกล่าวต่อการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี agar disc diffusion method นอกจากนี้ยังศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักจากพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ พบว่าปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากกระเทียมมีปริมาณสูงที่สุด รองลงมา คือ หอมแดง และพริกแห้ง ตามลำดับ ลักษณะปรากฏของสารสกัดจากพริกแห้งมีสีแดงเข้ม ในขณะที่สารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงมีสีเหลืองเข้ม ซึ่งสอดคล้องกับค่าสี L* a* b* ผลการศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียก่อให้เกิดโรค พบว่าสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ โดยสารสกัดจากกระเทียม มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดจากหอมแดง และพริกแห้ง ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน น้ำยาล้างผักจากสารสกัดพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง ที่ความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (การล้างด้วยน้ำกลั่น) อย่างไรก็ตาม น้ำยาล้างผักจากสารสกัดดังกล่าวมีประสิทธิภาพต่อการลดจำนวนของเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

คำสำคัญ: การยับยั้ง แบคทีเรียก่อให้เกิดโรค ผักกาดหอม พืชสมุนไพรไทย

Received: 22 August 2020; Accepted: 19 November 2020

[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

The objective of this study focused on the physical of dried chili, garlic and shallot crude extracts and their effects on inhibition of *Bacillus cereus Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by agar disc diffusion method. Besides, the inhibitory efficiency of vegetable washing solutions from the extracts against three bacteria contaminated in lettuce was also evaluated. The study on physical properties revealed that the percentage yield of the extract of garlic was significantly the highest followed by shallot and dried chili, respectively. The dried chili crude extract showed dark red while, garlic and shallot crude extracts exhibited dark yellow indicated by the results of L*, a*, b*. The study results on inhibition of pathogenic bacteria indicated that the crude extract of three herbs showed significantly to have inhibition activity against all pathogenic bacteria. Especially, the extract of garlic was significantly more effective against *B. cereus S. aureus* and *E. coli* followed by shallot and dried chili, respectively. Similarly, the vegetable washing solution from dried chili, garlic and shallot crude extracts at 500 1,000 and 1,500 ppm respectively reduced the number of *B. cereus S. aureus* and *E. coli* as compared with control (Distilled water). However, the vegetable washing solution from herbs showed higher ability in reducing gram positive bacteria (*B. cereus* and *S. aureus*) than gram negative bacteria (*E. coli*).

Keywords: Inhibition, Pathogenic bacteria, Lettuce, Thai herb extracts

คำนำ

ในปัจจุบันการบริโภคผักกาดหอมได้รับความนิยมมาก เนื่องจากใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร เช่น สลัด แซนด์วิช แฮมเบอร์เกอร์ หรือรับประทานเป็นผักสดแกล้มกับอาหารรสจัด เช่น ยำ ลาบ สาคูไส้หมู หรือข้าวเกรียบปากหม้อ เป็นต้น ผักกาดหอมเป็นผักที่มีประโยชน์ต่อการบริโภค เนื่องจากเป็นแหล่งวิตามินและแร่ธาตุที่จำเป็น รวมทั้งมีกากใยอาหาร อย่างไรก็ตามผักที่บริโภคในรูปแบบสดอาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จากกระบวนการทางการเกษตร ซึ่งมีโอกาสทำให้ผักเกิดการเสื่อมเสียคุณภาพได้เร็วและส่งผลทำให้เกิดการเน่าเสียและก่อให้เกิดโรคในคนได้ มีงานวิจัยที่พบว่าผักกาดหอมปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli Aeromonas* spp. และ *Listeria* spp. (Szobo et al., 2000; Sagoo et al., 2001) ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาวิธีต่างๆ เพื่อยับยั้งหรือลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ รวมถึงลดพิษของสารเคมีที่ตกค้างและไข่พยาธิ เช่น การใช้ผงฟู น้ำเกลือ ด่างทับทิม และน้ำยาล้างผักเชิงการค้าที่มีส่วนประกอบของสาร sodium lauryl ether sulphate หรือ sodium bicarbonate เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาวิธีการล้างผักด้วยการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผัก เช่น การใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน ขิง กระเทียม มะกรูด ฟ้าทะลายโจร กะเพรา และทองพันชั่ง ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. hydrophila* (ทัศนีย์และจิตรา, 2559) สารสกัดจากหอมหัวใหญ่ ยับยั้งเชื้อ *S. aureus E. coil* และ *Salmonella* sp. (สุญาณี และคณะ, 2556) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ มลฑล (2560) พบว่าสารสกัดจากกรวยป่า และกระทกรกป่า มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้

พืชสมุนไพรไทย เช่น กระเทียม พริก หอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด ขิง ข่า และกระชาย เป็นส่วนประกอบของอาหารไทยที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยทั่วไปสมุนไพรเหล่านี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยเฉพาะการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านจุลินทรีย์ (สุนิดา และคณะ, 2560) กระเทียมและหอมแดง เป็นพืช

วงศ์ Alliaceae โดยมีสารกลุ่ม sulfur phenolic และ glycoside เป็นองค์ประกอบสำคัญ จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการล้างผักด้วยสารสกัดจากสมุนไพรมีแนวโน้มทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักลดลงได้ ซึ่งเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่หลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีในการล้างผัก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดจากสมุนไพรไทย เพื่อเป็นน้ำยาล้างผัก ต่อการลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับผักกาดหอมสดก่อนการบริโภคและเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้สมุนไพรไทยให้มีคุณภาพนอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ รวมทั้งส่งเสริมให้มีการบริโภคอาหารที่มีความปลอดภัย

วิธีการวิจัย

1.การเตรียมสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียมและหอมแดงสด

นำสมุนไพรที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ พริกแห้ง (*Capsicum annuum* L.) กระเทียม (*Allium sativum* L.) และหอมแดงสด (*A. cepa* L. var. *aggregatum* G. Don) จากอำเภอยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ โดยกระเทียมและหอมแดง นำมาปอกเปลือก ล้างทำความสะอาด และผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมาหั่น ขนาด 3-5 มิลลิเมตร ส่วนพริกแห้ง เตรียมจากพริกสดที่สุกเต็มที่ แล้วนำพริกสดมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา จากนั้นนำไปตากแห้งด้วยแสงอาทิตย์ เป็นระยะเวลา 4 วัน หรือจนให้มีค่าความชื้นประมาณร้อยละ 8 และนำพริกแห้งมาเด็ดขั้วปั่นแบบหยาบ จากนั้นใส่ตัวอย่างละ 500 กรัม ในขวดสีชา แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร หรือจนน้ำกลั่นท่วมตัวอย่าง แล้วจึงเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้ตัวอย่างอ่อนนุ่ม แล้วนำมาคั้น เพื่อดึงสารออกมามากที่สุด จากนั้นกรองเอากากออกด้วยผ้ากรอง แล้วจึงนำสารสกัดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เพื่อให้ได้ส่วนที่ใสของสารสกัด แล้วนำส่วนที่ใสมากรองด้วยชุดกรองแบคทีเรียขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาละลายใน dimethyl sulfoxide (DMSO; Fisher Scientific, UK) ความเข้มข้นร้อยละ 20 (w/v) โดยเตรียม stock solution ของสารสกัดแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นร้อยละ 50 (w/v) เก็บสารสกัดใส่ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เพื่อรอทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและจุลินทรีย์ต่อไป

1.1 ร้อยละปริมาณของสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง (% Yield)

% Yield (dry basis) = (ปริมาณของสารที่สกัดได้ (กรัม)) ×100/(น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม))

1.2 ลักษณะปรากฏ วิเคราะห์ลักษณะปรากฏของสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง ด้วยสายตา และรายงานลักษณะปรากฏ (สี ความหนืด ความขุ่นและใส)ของสารสกัดที่สังเกตได้

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

2. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

2.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย เชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยโคโลนีเดี่ยวของเชื้อ แต่ละชนิดบนอาหารเลี้ยง NA ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร (shaker) ใช้ความเร็ว 240 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นเชื้อให้เจริญเติบโตได้ดี จากนั้นนำเชื้อที่เลี้ยงไว้ใน NB มาวัดค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับสารละลาย Mcfarland No. 0.5 ที่ความยาวคลื่น 625 nm. ซึ่งจะทำให้มีเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^8 CFU/ml จากนั้นเขี่ยเชื้อใน NA slant บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Wu et al., 2008) แล้วนำไปเก็บที่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การทดสอบ agar disc diffusion method ตามวิธีของ Muangkote et al. (2018b) นำเชื้อแต่ละชนิดที่ศึกษา (ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^8 CFU/ml spread บนอาหารวุ้น (15 มิลลิลิตร) ที่ทิ้งให้แข็งตัวแล้ว วางกระดาษกรอง Whatman No. 1 ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA แล้วปิเปตสารสกัดความเข้มข้น

ร้อยละ 5 (w/v) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง โดยมีชุดควบคุม คือ น้ำกลั่นปลอดเชื้อ จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งที่เกิดขึ้น รายงานผลเป็นหน่วยมิลลิเมตร

3. ประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักจากพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม

3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย เตรียมเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ที่ใช้ในการทดสอบตามข้อ 2.1

3.2 การเตรียมผักกาดหอม นำผักกาดหอมที่ใช้ทดสอบมาล้างด้วยสารละลาย sodium hypochlorite ความเข้มข้นที่ระดับ 25 ppm ตามวิธีของ กฤติยา และคณะ (2546) แช่ผักนาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด สะเด็ดผักให้แห้ง เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 การเตรียมน้ำยาล้างผัก นำสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียมและหอมแดง เจือจางด้วยน้ำให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 500 1,000 และ 1,500 ppm หยดสาร tween 20 ประมาณ 3-4 หยด เพื่อให้สารสกัดและน้ำผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักจากสุมนไพรต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* โดยการนำตัวอย่างผักกาดหอม แบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ถุง แต่ละถุงจะชั่งผักกาดหอม ถุงละ 50 กรัม ใส่ในถุงปลอดเชื้อ จากนั้นเติมเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ในแต่ละการทดลอง ที่ความเข้มข้น 10^8 CFU/g ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำแต่ละกลุ่มที่มีทั้งหมด 6 ถุง มาล้างด้วยน้ำยาล้างผักทั้ง 6 การทดลอง ดังต่อไปนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ผักกาดหอมสด เป็นกลุ่มควบคุม

ชุดการทดลองที่ 2 ผักกาดหอมสดล้างด้วยน้ำกลั่น เป็นกลุ่มควบคุม

ชุดการทดลองที่3 ผักกาดหอมสดล้างด้วยน้ำยาล้างผักเชิงการค้า (sodium hypochlorite) เป็นกลุ่มควบคุม

ชุดการทดลองที่ 4-6 สารสกัดสมุนไพรไทย คือ พริกแห้ง กระเทียมและหอมแดง แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 ppm

แช่ผักในแต่ละชุดการทดลอง นาน 10 นาที จากนั้นรินน้ำยาล้างผักชนิดต่างๆ ออก แล้วจึงเติมร้อยละ 0.85 ของ NaCl ปริมาตร 450 มิลลิลิตร ลงในถุง แล้วนำไปตีป่นด้วยเครื่อง stomacher นาน 1 นาที จากนั้นเจือจางในระดับที่เหมาะสม แล้ว spread plate ลงบนอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนีที่เหลือรอด รายงานผลในรูปของ logCFU/g

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Steel and Torrie, 1980)

ผลการวิจัย

1. คุณสมบัติทางกายภาพของสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง

ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง แสดงผลการทดลองในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพและร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง

Extraction Samples	Extraction yield (%)	Appearances	Color		
			L*	a*	b*
Dried chili	40.25	มีสีแดงเข้ม มีลักษณะขุ่นและข้นหนืด	10.45±0.17[c]	25.81±0.10[a]	0.27±0.27[c]
Garlic	45.02	มีสีเหลืองเข้ม มีลักษณะขุ่นและข้นหนืด	48.38±0.20[b]	2.83±0.05[c]	30.26±0.14[b]
Shallot	44.50	มีสีเหลืองเข้ม มีลักษณะขุ่นและข้นหนืด	54.69±0.71[a]	4.75±0.23[b]	38.23±0.20[a]

a,b...อักษรแนวตั้งที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาการสกัดตัวอย่างพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดงสด ด้วยการ maceration ก่อนการสกัดสาร พบว่าสารสกัดจากกระเทียมให้ปริมาณร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ซึ่งเท่ากับร้อยละ 45.02 รองลงมาคือ สารสกัดจากหอมแดง และพริกแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เนื่องจากในกระเทียมและหอมแดงส่วนใหญ่มีสารกลุ่มซัลเฟอร์ ที่มีขั้วและละลายได้ดีในน้ำ หรือตัวทำละลายที่มีขั้วสูง เพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีขั้วเป็นแรง didpole-dipole จึงทำให้สารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงมีปริมาณร้อยละผลผลิตที่สูงกว่าสารสกัดจากพริกแห้ง ในขณะที่สารสกัดจากพริกแห้งมีสารสำคัญที่อยู่ในกลุ่ม capsaicinoid ซึ่งมีคุณสมบัติที่ไม่มีขั้ว จึงทำให้ยากต่อการละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว โดยเฉพาะที่เป็นน้ำ สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุญาณี (2557) พบว่าการสกัดหอมหัวใหญ่ด้วยน้ำมีปริมาณร้อยละผลผลิตสูงกว่าสารสกัดจากกระเทียม ซึ่งเท่ากับ 41.60 และ 39.75 ตามลำดับ

ส่วนลักษณะปรากฏของสารสกัดจากพริกแห้ง พบว่า การสกัดมีผลทำให้สารสกัดจากพริกแห้งมีสีแดงเข้ม มีลักษณะขุ่นและข้นหนืด ในขณะที่กระเทียมและหอมแดง พบว่าการสกัดทำให้สารสกัดที่ได้มีสีเหลือง โดยเฉพาะสารสกัดจากกระเทียมจะมีสีเหลืองเข้มกว่าหอมแดง นอกจากนี้สารสกัดทั้งสองชนิดยังมีลักษณะขุ่นและข้นหนืด (ตารางที่ 1) และมีกลิ่นฉุนเฉพาะของพืชแต่ละชนิด

ค่าสีของสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง จะแสดงในรูปของค่า L*, a*, b* พบว่าสารสกัดจากหอมแดงมีค่าความสว่าง (L*) สูงกว่ากระเทียม และพริกแห้ง ส่วนค่า a* พบว่าสารสกัดจากพริกแห้งจะมีค่า a* เป็นบวกมากกว่าในสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง เนื่องจากพริกแห้งที่ใช้สกัดมีสีแดง ซึ่งเป็นสารแอนโทไซยานิน และเมื่อนำมาสกัดให้มีความเข้มข้นขึ้น สีแดงที่ได้จึงเป็นสีแดงเข้ม ส่งผลให้มีค่า a* สูงกว่าสารสกัดตัวอื่นๆ ในขณะที่ค่า b* พบว่าสารสกัดจากหอมแดงมีค่าเป็นสีเหลืองมากกว่าสารสกัดจากกระเทียม และพริกแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ซึ่งผลการทดลองมีความสอดคล้องกับลักษณะปรากฏที่ได้

2. ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยใช้สารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง ด้วยวิธี agar disc diffusion method ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 โซนการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง

Extraction Samples	Clear zone of bacteria (mm)		
	B. cereus	*S. aureus*	*E. coli*
Dried chili	8.60±0.90[c]	7.70±0.10[c]	6.00±0.10[c]
Garlic	12.10±1.00[a]	9.00±0.60[a]	7.10±0.42[a]
Shallot	10.70±0.40[b]	8.50±0.90[b]	6.50±0.33[b]

a,b...อักษรแนวตั้งที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 2 พบว่าสารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากกระเทียม พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ สารสกัดจากหอมแดง และพริกแห้ง ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Benkeblia (2004) พบว่ากระเทียมมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าหอมแดง หอมหัวใหญ่ และต้นหอมสด ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากกระเทียมมีปริมาณสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม organosulfur มากกว่าหอมหัวใหญ่ถึง 4 เท่า (Sagdic and Tornuk, 2012) และอาจมากกว่าหอมแดงด้วย นอกจากนี้ ชนิดของสารออกฤทธิ์ของกระเทียม เช่น diallyl sulphide, diallyl disulphide, diallyl trisulphide และ dithiins มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า mono sulphides, di sulphides, tri sulphides, thiophenes, zwiebelanes และ cepaenes ที่พบในหอมหัวใหญ่ (Corzo-Martinez et al., 2007) ส่วนสาเหตุที่สารสกัดจากพริกมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้น้อยกว่ากระเทียมและหอมแดง (ตารางที่ 2) อาจเนื่องมาจากสารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่ในพริกเป็นกลุ่ม phenolic ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้น้อยกว่ากลุ่ม organosulfur (Touba et al., 2012) ส่วนแบคทีเรียที่มีความไวต่อสารสกัดพบว่า *B. cereus* มีความไวต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด มากกว่าเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Muangkote et al. (2018a) พบว่าสารสกัดจากกระเทียม หอมแดงและพริกแห้งคั่วที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้น้อยที่สุด เนื่องจาก *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีชั้นของ lipopolysaccharide (LPS) ซึ่งจะกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันภายในเซลล์ โดยการสร้าง cytokines เพื่อป้องกันเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายได้ ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวมีความแตกต่างจากงานวิจัยของ Adegoke and Odesola (1996) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกระเทียมและตะไคร้ สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่าเชื้อ *S. aureus*

3. ประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักจากพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักจากสกัดพริกแห้ง โดยใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 0 500 1,000 และ 1,500 ppm ต่อการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม ในงานวิจัยนี้จะเติมเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นที่ระดับ 8 logCFU/ml or g ก่อนการทดลองล้างผักกาดหอม เพื่อทำสภาพให้ผักเกิดการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย พบว่า น้ำยาล้างผักจากสารสกัดพริกแห้งทุกความเข้มข้นสามารถลดปริมาณเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 3) เนื่องจากในสารสกัดจากพริก มีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม capsaicinoid (capsaicin และ dihydrocapsaicin) ซึ่งมีหน้าที่ในการต้านแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารได้ (Cichewicz and Thorpe, 1996) จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากพริกแห้ง ที่ความเข้มข้น 1,000 และ 1,500 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อ *B. cereus* ได้ดีกว่า *S. aureus* และ *E. coli* ตามลำดับ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ การใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากพริกแห้ง 1,500 ppm สามารถลดจำนวนแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ในผักกาดหอมได้ดีที่สุด รองลงมา คือ 1,000 และ 500 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ส่วนการล้างผักกาดหอมด้วยน้ำกลั่น พบว่ามีจำนวนเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* สูงกว่าการล้างด้วยสารสกัดจากพริกแห้ง และสาร Sodium hypochlorite ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดภายหลังจากการล้างด้วยน้ำยาล้างผักจากสารสกัดพริกแห้งต่อการลดปริมาณแบคทีเรียในผักกาดหอม

Treatments	Total viable count (logCFU/ml or g)		
	B. cereus	*S. aureus*	*E. coli*
Fresh lettuce (Control)	8.23±0.07[a]	8.26±0.05[a]	8.25±0.04[a]
Distilled water	6.00±0.08[b]	6.26±0.21[b]	6.20±0.08[b]
Sodium hypochlorite	2.52±0.08[f]	2.64±0.12[f]	2.85±0.06[f]
500 ppm	5.71±0.02[c]	5.62±0.02[c]	5.43±0.03[c]
1,000 ppm	4.67±0.01[d]	4.91±0.01[d]	5.04±0.01[d]
1,500 ppm	4.13±0.05[e]	4.35±0.02[e]	4.89±0.01[e]

a,b...อักษรแนวตั้งที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักจากสารสกัดกระเทียม ที่ความเข้มข้น 0 500 1,000 และ 1,500 ppm ต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม พบว่าน้ำยาล้างผักจากสารสกัดกระเทียม ความเข้มข้น 1,500 ppm มีประสิทธิภาพลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 4) โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก (*B. cereus* และ *S. aureus*) ในขณะที่ เชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ พบว่ามีจำนวนเชื้อที่เหลือรอดมากที่สุด ภายหลังจากการล้างด้วยสารสกัดจากกระเทียมที่ ความเข้มข้น 1,000 และ 1,500 ppm เนื่องจากสารในกลุ่ม organosulfur (dially thiosulfinate หรือ allicin) ที่พบในกระเทียมมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างกว้างขวาง โดยพบว่าจะออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Muangkote et al., 2018a) เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบจะมีผนังเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่ม lipopolysaccharide จึงทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีความแข็งแรงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก และทำให้สารสกัดแทรกซึมเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียได้ยาก

ตารางที่ 4 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดภายหลังจากการล้างด้วยน้ำยาล้างผักจากสารสกัดกระเทียมต่อการลดปริมาณแบคทีเรียในผักกาดหอม

Treatments	Total viable count (logCFU/ml or g)		
	B. cereus	*S. aureus*	*E. coli*
Fresh lettuce (Control)	8.23±0.07[a]	8.26±0.05[a]	8.25±0.04[a]
Distilled water	6.00±0.08[b]	6.26±0.21[b]	6.20±0.08[b]
Sodium hypochlorite	2.52±0.08[f]	2.64±0.12[f]	2.85±0.06[f]
500 ppm	5.42±0.02[c]	5.18±0.04[c]	5.20±0.03[c]
1,000 ppm	4.66±0.03[d]	4.80±0.02[d]	5.01±0.01[d]
1,500 ppm	3.50±0.06[e]	3.62±0.02[e]	4.91±0.01[e]

a,b...อักษรแนวตั้งที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักจากสารสกัดหอมแดง ที่ความเข้มข้น 0 500 1,000 และ 1,500 ppm ต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในผักกาดหอมให้ผลการทดลองในทำนองเดียวกับกระเทียม โดยพบว่าน้ำยาล้างผักจากสารสกัดหอมแดง ที่ความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับ สามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ได้น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับการล้างผักด้วยสาร sodium hypochlorite (ตารางที่ 5) อย่างไรก็ตามการล้างผักกาดหอมด้วยสารสกัดจากหอมแดงจะสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำกลั่น เนื่องจากหอมแดงมีสาร thiosulphinate, mono, di sulphides, thiophenes di, tri sulphides, cepaenes และ zwiebelanes ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีซัลเฟอร์ สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารได้ (Corzo-Martinez et al., 2007)

ตารางที่ 5 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดภายหลังจากการล้างด้วยน้ำยาล้างผักจากสารสกัดหอมแดงต่อการลดปริมาณแบคทีเรียในผักกาดหอม

Treatments	Total viable count (logCFU/ml or g)		
	B. cereus	*S. aureus*	*E. coli*
Fresh lettuce (Control)	8.23±0.07[a]	8.26±0.05[a]	8.25±0.04[a]
Distilled water	6.00±0.08[b]	6.26±0.21[b]	6.20±0.08[b]
Sodium hypochlorite	2.52±0.08[f]	2.64±0.12[f]	2.85±0.06[f]
500 ppm	5.20±0.04[c]	5.37±0.06[c]	5.23±0.07[c]
1,000 ppm	4.36±0.07[d]	4.39±0.01[d]	4.91±0.01[d]
1,500 ppm	3.00±0.07[e]	3.08±0.04[e]	4.81±0.01[e]

a,b...อักษรแนวตั้งที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สรุป

การสกัดสารสำคัญจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดงสด ด้วยการ maceration ก่อนการสกัดสาร ทำให้สารสกัดจากพริกมีสีแดงเข้ม มีลักษณะข้นและข้นหนืด ในขณะที่สารสกัดจากกระเทียมและหอมแดงมีสีเหลืองเข้ม มีความข้นและข้นหนืดสอดคล้องกับค่าสี L* a* b* พบว่า ค่าความสว่าง (L*) ของสารสกัดจากพริกแห้งมีค่าน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง สอดคล้องกับค่าความเป็นสีแดง (a*) พบว่าสารสกัดจากพริกแห้งมีค่า a* สูงกว่าสารสกัดจากกระเทียมและหอมแดง ในขณะที่ค่า b* พบว่าสารสกัดจากหอมแดงมีค่าเป็นสีเหลืองมากกว่าสารสกัดจากกระเทียม และพริกแห้ง ตามลำดับ ส่วนปริมาณร้อยละผลผลิต พบว่าสารสกัดจากกระเทียมมีค่าปริมาณร้อยละผลผลิตสูงที่สุด รองลงมา คือ หอมแดง และพริกแห้ง ตามลำดับ และผลการศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* พบว่า สารสกัดจากพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* โดยเฉพาะสารสกัดจากกระเทียมมีประสิทธิภาพการยับยั้งดีกว่าสารสกัดจากหอมแดง และพริกแห้ง ตามลำดับ นอกจากนี้เชื้อ *B. cereus* มีความไวต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิดมากกว่าเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ตามลำดับ

ส่วนผลการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างผักจากพืชสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนในผักกาดหอม พบว่าน้ำยาล้างผักจากสารสกัดพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง ที่ความเข้มข้น 500 1,000 และ 1,500 ppm สามารถลดจำนวนเชื้อ *B. cereus S. aureus* และ *E. coli* ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำกลั่น อย่างไรก็ตาม น้ำยาล้างผักจากสารสกัดพริกแห้ง กระเทียม และหอมแดง จะมีประสิทธิภาพต่อการลดจำนวนของเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ

เอกสารอ้างอิง

กฤติยา เลี่ยวชวลิต เสริมสิริ วิจัยวรกิจ ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ และประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์. 2546. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการล้างผักด้วยสารไตรโซเดียมฟอสเฟต คลอรีนและการใช้โอโซน ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 วันที่ 3-7 กุมภาพันธ์ 2546 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ทัศนีย์ นวลชัย และ จิตรา ดวงแก้ว. 2559. ผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อ *Aromonas hydrophila*. แก่นเกษตร. 44(ฉบับพิเศษ1), 124-129.

มณฑล วิสุทธิ์. (2560). ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกลุ่ม Staphylococci ของสารสกัดจากพืชท้องถิ่นบางชนิดในจังหวัดนครราชสีมา. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 45(4), 805-816.

สุญาณี มงคลตรีรัตน์ อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2556. ประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดกระเทียมและหอมหัวใหญ่. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 44(2), 437-440.

สุญาณี มงคลตรีรัตน์. 2557. ประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมและหอมหัวใหญ่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สุนิดา เมืองโคตร ทวีรัตน์ วิจิตรสุนทรกุล วาริช ศรีละออง เฉลิมชัย วงษ์อารี และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. 2560. ผลของอุณหภูมิการคั่วกระเทียม หอมแดง และพริกแห้ง ต่อฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *Aspergillus niger*. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 19(3), 89-100.

Adegoke, G., and B. A. Odesola. 1996. Storage of maize and cowpea and inhibition of microbial agents of biodeterioration using the powder and essential oil of lemon grass (*Cymbopogon citratus*). International Biodeterioration & Biodegradation. 37(1-2), 81-84.

Benkeblia, N. 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). LWT- Food Science and Technology. 37(2), 263-268.

Cichewicz, R. H., and P. A. Thorpe. 1996. The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum species*) and their uses in Mayan medicine. Journal of Ethnopharmacology, 52(2), 61-70.

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

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.

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

Sagoo, S. K., C. L. Little, and R. T. Mitchell. 2001. The microbial examination of ready-to-eat organic vegetables from retail establishments in the United Kingdom. Letters in Applied Microbiology. 33(6), 434-439.

Szabo, E. A., K. J. Scurrah, and J. M. Burrows. 2000. Survey for psychrotrophic bacterial pathogens in minimally processed lettuce. Letters in Applied Microbiology. 30(6), 456-460.

Steel, R.G.D., and J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. New York: McGraw-Hill.

Touba, E.P., M. Zakaria, and E. Tahereh. 2012. Anti-fungal activity of cold and hot water extracts of spices against fungal pathogens of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) *in vitro*. Microbial Pathogenesis. 52(2), 125-129.

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.