รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลร่วมของการควบคุมทางชีวภาพด้วยไอน้ำส้มสายชูหมักและไอเอธานอล ต่อเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* บนผักชี

Combination Effect of Bio-control of *Klebsiella pneumoniae* by Vaporized Fermented Vinegar and Ethanol on Coriander

นายวราวุฒิ ครูส่ง

นางสาวฐิตินันท์ ชยาวัชรกุล

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2555

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

TP

445

.V325W

เลขหมู่ 131177 T131177

เลขทะเบียน

รับ เมื่อ ปี 29 พ.ค. 2557

b.12611372

i.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ผลร่วมของการควบคุมทางชีวภาพด้วยไอน้ำส้มสายชูหมักและไอเอธานอลต่อเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* บนผักชี

แหล่งเงิน เงินรายได้คณะอุตสาหกรรมเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 75,000.- บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2554 ถึง เดือนกันยายน 2555

หัวหน้าโครงการ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ผู้ร่วมโครงการวิจัย นางสาวฐิตินันท์ ชยาวัชรกุล
นักศึกษาปริญญาโท สาขาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การพิสูจน์ยืนยันการปนเปื้อนบนผักชี พบว่า เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* (KP) เป็นแบคทีเรียหลักที่พบการปนเปื้อนถึง 93.3 เปอร์เซนต์ (จาก 30 ตัวอย่างที่ทำการทดสอบ) จากนั้นจึงนำเชื้อ KP มาทดสอบการยับยั้งด้วยน้ำส้มสายชูหมักหรือเอธานอลในระดับห้องปฏิบัติการด้วย agar overlay disc diffusion method และ direct *in vitro* method พบว่า ทั้งน้ำส้มสายชูหมัก (2.4 เปอร์เซนต์) และเอธานอล (18 เปอร์เซนต์) มีผลในการยับยั้งเชื้อได้สมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อศึกษาด้วยการรมไอของสารทั้งสองต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ KP ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า การรมไอน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (ความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์) หรือ ไอเอธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซนต์ (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์) ในระยะเวลา 50 นาที และ 15 นาที ตามลำดับ สามารถยับยั้งเชื้อ KP สมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เช่นเดียวกับใช้ระยะเวลาเพียง 15 นาที ในกรณีที่รมไอสารร่วมทั้งสองแบบพร้อมกัน (ความชื้นสัมพัทธ์จะประมาณ 63-64 เปอร์เซนต์) ต่อมาเมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับการรมไอในผักชีที่ถ่ายเชื้อ KP ปริมาณระดับทั่วไป (4.56 log CFU/g) และระดับสูง (6.40 log CFU/g) ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์) และปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 83 เปอร์เซนต์) ระหว่างการรมไอด้วยไอน้ำส้มสายชูหมัก ไอเอธานอล หรือไอร่วมของสารทั้งสอง พบว่า ในสภาพไม่ปรับความชื้นให้ผลต่อการยับยั้งเชื้อ KP ได้ดีกว่าสภาพที่ปรับความชื้น แต่ผลกระทบที่มีต่อลักษณะทางกายภาพของผักชีกลับสูงกว่ามาก ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงผลกระทบทั้งสองมิติจึงควรเลือกใช้ระยะเวลาที่เหมาะสมในการรมไอควรไม่เกิน 1 ชั่วโมง ด้วยไอน้ำส้มสายชูหมักเพียงอย่างเดียว อนึ่งจากการศึกษาโครงสร้างของใบผักชีด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน พบว่า รอยหยักของใบช่วยให้เกิดการเกาะติดของเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ ได้ง่าย อีกทั้งบริเวณปากใบช่วยป้องกันเชื้อแบคทีเรียเหล่านั้นจากภายหลังการล้างได้ซึ่งเป็นสาเหตุของความไม่ปลอดภัยของผู้บริโภคได้

คำสำคัญ : การควบคุมทางชีวภาพ เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ไอน้ำส้มสายชูหมัก ไอเอธานอล สภาพความชื้นอิ่มตัว ผักชี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Combination Effect of Bio-control of *Klebsiella pneumoniae* by Vaporized Fermented Vinegar and Ethanol on Coriander
Researcher: Assoc.Prof.Dr.Warawut Krusong and Ms.Thitinun Chayawatcharakul
Faculty: Agro-Industry

ABSTRACT

Confirmation test of contamination on coriander was investigated. Result showed that *Klebsiella pneumoniae* (KP) is a major contaminant at the ratio of 93.3% of 30 samples. Then, the study was carried out for inhibition of KP by fermented vinegar (FV) and ethanol using two methods concerning agar overlay disc diffusion method and direct *in vitro* method. Significantly complete inhibition of KP was obtained by 2.4% acetic acid in FV and 18% ethanol. The study of KP inhibition by vaporized FV containing 10% acetic acid, called "VFV", and vaporized ethanol (VE) from 95% ethanol were conducted. Results showed that VFV for 50 min and VE for 15 min are suitable for significantly complete inhibition of KP ($P \leq 0.05$). Both provided different relative humidity (RH) during vaporization process. The 77% RH for VFV and 37% RH for VE were obtained. Additionally, 15 min for simultaneous vaporization of both at 63-64% RH was successful for complete inhibition of KP. Application of vaporization processes of VFV, VE or both were conducted on inoculated coriander at general contamination level (4.56 log CFU/g) and high contamination level (6.40 log CFU/g). The moisture saturation control providing 83% RH was compared with non-moisture saturation control at 37% RH during vaporization of inoculated coriander. Higher KP inhibition result was obtained in the non-moisture saturation condition. But strong negative impact in quality of coriander, especially withered leave, was noticed. Under consideration of both inhibition impact of KP and quality of coriander, the VPV for 1 h under moisture saturation condition was recommended. Moreover, structure of coriander leave was further investigated for cause of accumulation of KP or other microbial contamination by scanning electron microscope. Many jagged edges on the coriander leave were observed. The attachment of microbial contaminants could be observed at these jagged edges. Moreover, stomata on coriander leave acts as protection area for microbial contamination during washing of that leaves and causes un-safe for consumer.

Keywords : bio-control, *Klebsiella pneumoniae*, vaporized fermented vinegar, vaporized ethanol, moisture saturation condition, coriander

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ บริษัท แอกโกรนิก้า จำกัด ที่ได้มอบน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพด (Corn Cider Vinegar) เพื่อใช้ในการวิจัยนี้ รวมถึงการวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555”

รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง
นางสาวฐิตินันท์ ชยาวัชรกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	2
1.5 สมมุติฐานงานวิจัย	3
1.6 กรอบแนวความคิดในการวิจัย	3
1.7 คำสำคัญของการวิจัย	4
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	5
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	14
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้	14
3.2 เชื้อจุลินทรีย์	14
3.3 การสำรวจยืนยันการปนเปื้อนของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ Faecal coliform ในผักชี	15
3.4 การเตรียมเซลล์ของเชื้อ *K. Pneumoniae*	15
3.5 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของน้ำส้มสายชูหมักหรือเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ	16
3.6 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของการรมไอน้ำส้มสายชูหมักหรือไอเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ	17
3.7 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของการรมไอน้ำส้มสายชูหมักหรือไอเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับผักชี	18
3.8 ศึกษาโครงสร้างผักชีต่อการปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมโดยวิธีปรับความชื้น ภายหลังการเก็บรักษา	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัย	21
4.1 ผลการสำรวจยืนยันการปนเปื้อนของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ Faecal coliform ในผักชี	21
4.2 ผลของน้ำส้มสายชูหมักหรือเอธานอลต่อการการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ	22
4.3 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของการรมไอน้ำส้มสายชูหมักหรือไอเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ	28
4.4 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของการรมไอน้ำส้มสายชูหมักหรือไอเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับผักชี	32
4.5 ศึกษาโครงสร้างผักชีต่อการปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมโดยวิธีปรับความชื้น ภายหลังการเก็บรักษา	47
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	53
5.1 สรุปผลการวิจัย	53
5.2 ข้อเสนอแนะ	54
บรรณานุกรม	55
ภาคผนวก	62
ภาคผนวก ก	62
ภาคผนวก ข	67
ภาคผนวก ค	69
ประวัตินักวิจัย	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	สายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบมากเป็น 3 อันดับแรกในผักชีจำนวน 30 ตัวอย่าง	21
4.2	ค่าเฉลี่ยของขนาดโซนยับยั้ง (inhibition zone) ของเชื้อ *K. pneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA และค่า pH ของน้ำส้มสายชูหมักที่มีระดับความเข้มข้นกรดอะซิติกต่างๆ	24
4.3	ค่า pH จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สัมผัสกับน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติกตั้งแต่ 1.0-3.0 เปอร์เซนต์ (v/v) โดยตรงเป็นเวลา 10 นาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส)	25
4.4	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การรอดและการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สัมผัสเอธานอลความเข้มข้นตั้งแต่ 10-20 เปอร์เซนต์ (v/v) เป็นเวลา 10 นาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส)	27
4.5	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) และความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์	29
4.6	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในการรมไออิ่มตัวเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) และความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์	29
4.7	จำนวนเซลล์รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ด้วยการรมไอของสารร่วมแบบพร้อมกันระหว่างไออิ่มตัวน้ำสมสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) ความชื้นสัมพัทธ์ 63-64 เปอร์เซนต์	31
4.8	จำนวนเซลล์รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. Pneumoniae* ด้วยไออิ่มตัวสารร่วมแบบลำดับของไออิ่มตัวน้ำสมสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส)	32
4.9	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไปและระดับสูงที่สัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์)	34
4.10	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไปและระดับสูงที่สัมผัสไออิ่มตัวของเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์)	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.11	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ถ่ายเชื้อในระดับทั่วไปที่สัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวของเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น	36
4.12	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ถ่ายเชื้อในระดับสูงที่สัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวของเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ ในระยะเวลาต่างๆ ที่ ทอุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น	38
4.13	จำนวนเซลล์รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* (KP) ในผักชีที่รมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีปรับความชื้น (83 เปอร์เซนต์)	39
4.14	จำนวนเซลล์รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* (KP) ในผักชีที่รมไออิ่มตัวของเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีปรับความชื้น (83 เปอร์เซนต์)	40
4.15	สรุปลักษณะปรากฏของผักชีหลังจากการสัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอทานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมในระยะเวลารวมต่างๆที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น	44
4.16	สรุปลักษณะปรากฏของผักชีหลังการสัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมในระยะเวลารวมต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีปรับความชื้น	45
4.17	การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอทานอล และไออิ่มตัวของสารร่วม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
4.1	ขนาดโซนยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ด้วยน้ำส้มสายชูหมักที่ระดับความเข้มข้นกรดอะซิติกต่างๆ (เปอร์เซนต์ v/v) เมื่อทำการทดสอบโดยวิธี Agar Overlay Disc Diffusion	23
4.2	เปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *K. pneumoniae* ที่รอดชีวิตจากการยับยั้งด้วยการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมบนผักชีในสภาพที่ปรับและไม่ปรับความชื้นระหว่างการรมไอ; เส้นกราฟสีดำ หมายถึง การรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก; สีชมพู หมายถึง การรมไออิ่มตัวเอธานอล; เส้นทึบ หมายถึง การรมโดยวิธีไม่ปรับความชื้น; เส้นประ หมายถึง การรมโดยวิธีปรับความชื้น	42
4.3	ลักษณะทางกายภาพของผักชีหลังการรมในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นในช่วงเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส): (ก) ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) (ความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์); (ข) ไออิ่มตัวของเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์)	43
4.4	ลักษณะทางกายภาพของผักชีภายหลังการรม: (ก) ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v): (ข)ไออิ่มตัวของเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) เป็นเวลา 0 1 2 3 และ 4 ชั่วโมงตามลำดับจากซ้ายไปขวา; (ค)ไออิ่มตัวของสารร่วมอย่างละ 0.5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีปรับความชื้น (83 เปอร์เซนต์)	46
4.5	โครงสร้างของใบผักชีและการเกาะติดของเชื้อ *K. pneumoniae* บนใบผักชีเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน (JSM-5410LV/JEOL/ Japan/SEM): (ก) ปากใบและร่องใบของผักชี (กำลังขยาย 500x); (ข) จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนที่ผักชี (กำลังขยาย 1,500x); (ค) การเกาะติดของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่บริเวณปากใบของผักชี (กำลังขยาย 7,500x) ที่อยู่ในกรอบสี่เหลี่ยมและวงกลม	48
4.6	ลักษณะปรากฏของผักชีที่ผ่านการรมไอและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3, 5 และ 7 วัน ตามลำดับจากซ้ายไปขวา: (ก) ไม่ผ่านการรมไอ (ควบคุม); (ข) ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก 1 ชั่วโมง; (ค) ไออิ่มตัวของเอทานอล 1 ชั่วโมง; (ง) ไออิ่มตัวสารร่วมอย่างละ 0.5 ชั่วโมง	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ผักชีเป็นหนึ่งในผักที่คนไทยนิยมบริโภคกันมาก อีกทั้งผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมรับประทานในลักษณะผักสดเท่านั้น อย่างไรก็ตามผู้บริโภคมักไม่ทราบว่าผักชีมีปัญหาการปนเปื้อนด้วยเชื้อ จุลินทรีย์โดยเฉพาะกลุ่มจากลำไส้ ผลกระทบที่เกิดขึ้นจะกลับมาสู่ปัญหาด้านสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะทำการศึกษาของเรื่องดังกล่าวเพื่อประโยชน์ในด้านความปลอด ภัยของอาหาร

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบในตระกูล Enterobacteriaceae สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ น้ำ ดิน ระบบหายใจ ทางเดินอาหารและอุจจาระของคนและสัตว์เลือดอุ่น รวมถึงในผัก ผลไม้ (O'Connor-Shaw และคณะ, 1995) ถึงแม้ไม่ได้จัดเชื้อ *Klebsiella* spp. เป็นแบคทีเรียก่อโรคอย่างชัดเจน แต่ก็เป็นแบคทีเรียฉวยโอกาสที่แฝงตัวและสามารถก่อโรคได้ (Sabota และคณะ, 1998; Rennie และคณะ, 1990) เมื่อมีปัจจัยสนับสนุนโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ เช่น คนชรา ผู้ป่วยที่รับการผ่าตัด หรือ ผู้ที่มีโรคประจำตัว เช่น โรคเบาหวาน โรคพิษสุราเรื้อรัง เป็นต้น (Boglione และคณะ, 2008; Umeh และ Berkowitz, 2009) เชื้อ *K. pneumoniae* เป็นสาเหตุสำคัญให้เกิดโรคติดเชื้อในระบบหายใจและทางเดินอาหาร เชื้อดังกล่าวยังเป็นปัญหาในการรักษามากเนื่องจากมีความดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายกลุ่ม ทำให้บางครั้งอาจรักษาไม่หายจนถึงขั้นเสียชีวิตได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Klebsiella* spp. สามารถถ่ายทอดลักษณะการดื้อยาไปสู่แบคทีเรียอื่นๆที่มีความใกล้เคียงกันได้อีกด้วย (พรพิมล พฤกษ์ประเสริฐ และคณะ, 2549)

โดยทั่วไปผักเกือบ 50 เปอร์เซ็นต์ จะพบเชื้อ *K. pneumoniae* ประมาณ 10^3 cfu/g มีรายงานว่าพบเชื้อ *Klebsiella* spp. ในผักสดหลายชนิดรวมถึงผักชีด้วย (Wright และคณะ, 1976; Soriano และคณะ, 2000, 2001; Rajvanshi, 2010) ผักชีเป็นผักที่นิยมรับประทานสดจึงมีโอกาสเป็นแหล่งของการรับแบคทีเรียที่ปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกายได้โดยตรงเนื่องจากในขั้นตอนการเพาะปลูกผักชีนั้นจะมีการรดน้ำและใช้ปุ๋ยคอก อย่างไรก็ตามในอุตสาหกรรมผักสดนิยมใช้คลอรีนในระดับความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัม/ลิตร ในการล้างเพื่อลดจุลินทรีย์หลังการเก็บเกี่ยว แต่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่เพียงพอต่อการกำจัดเชื้อก่อโรคในผักใบได้ (Beuchat และ Golden, 1998) นอกจากนี้การใช้สารประกอบคลอรีนอาจมีสารตกค้างซึ่งก่อมะเร็ง (Richardson และคณะ, 2000) ซึ่งจัดเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ และจากการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนบนผักชี พบว่าเชื้อ *K. pneumoniae* ในจำนวน 28 จาก 30 ตัวอย่าง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเน้นการลดเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีประกอบกับผักชีเป็นผักใบที่มีอายุสั้น เหี่ยวเฉาเร็ว การล้างและแช่ผักชีตามปกติอาจยังไม่เหมาะสมที่จะช่วยลดปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ปนเปื้อน ดังนั้นจึงควรศึกษาสารที่ปลอดภัยและวิธีการที่เหมาะสมในการลดปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีก่อนที่จะถึงมือผู้บริโภค

น้ำส้มสายชูหมักและเอธานอลต่างก็เป็นสารปลอดภัยที่สามารถใช้ในอาหารได้และสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียที่สำคัญได้ ปัจจุบันการศึกษาทดลองและนำมาประยุกต์ใช้เกี่ยวกับการรมไอในอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลไม้นั้นได้รับความสนใจมากขึ้น แต่ส่วนมากจะมุ่งเน้นที่การกำจัดเชื้อราที่ทำให้เสื่อมเสียและยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวเป็นหลัก โดยยังไม่มีผู้ใดศึกษาเกี่ยวกับการรมไอเพื่อลดเชื้อ *K. pneumoniae* มาก่อน ประกอบกับวิธีการรมไออาจจะไม่ทำให้ผักชีบอบช้ำ ดังนั้นการนำสารทั้งสองชนิดมารมไอผักชีเพื่อลดเชื้อ *K. pneumoniae* จึงถูกเลือกนำมาศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้ โดยหวังว่าน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการลดเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีในอุตสาหกรรมต่อไปได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาผลของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอล และผลร่วมของไออิ่มตัวทั้งสองต่อการลดเชื้อ *K. pneumoniae* บนผักชี

1.2.2 ศึกษาผลของโครงสร้างผักชีต่อการปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* และผลของการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีหลังผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วม ภายหลังการเก็บรักษา

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ทำการสำรวจยืนยันการปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* บนผักชีในท้องตลาด ทำการแยกเชื้อ *K. pneumoniae* จากผักชีและพิสูจน์เชื้อ จากนั้นทำการศึกษาผลกระทบเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูหรือเอธานอลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาการยับยั้งด้วยไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอล และผลร่วมของไออิ่มตัวทั้งสองที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยเลือกใช้น้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซ็นต์ และเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลาการรมไออิ่มตัวที่เหมาะสม ต่อมาทำการ ศึกษาผลของโครงสร้างผักชีต่อการปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* และ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ (การเน่าเสีย สี กลิ่น ความสดและน้ำหนัก) ของผักชีภายหลังผ่านการรมไอและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

เริ่มต้นทำการพิสูจน์ข้อเท็จจริงเกี่ยวกับการปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชี โดยการเก็บตัวอย่างผักชีในตลาดมาวิเคราะห์ สำหรับในการศึกษาต่อไปจะใช้เชื้อ *K. pneumoniae* บริสุทธิ์ที่แยกได้และผ่านการทดสอบว่าเป็นเชื้อ *K. pneumoniae* โดยใช้ชุดทดสอบ (test kid) จากนั้นเริ่มต้นการศึกษาถึงผลกระทบเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชู หรือ เอธานอลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาการยับยั้งด้วยไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอล และผลร่วมของไออิ่มตัวทั้งสอง ก่อนที่จะศึกษาถึงระยะเวลาที่เหมาะสมของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก หรือ ไออิ่มตัวของเอธานอล หรือ ไออิ่มตัวของสารร่วมทั้งสองชนิดต่อการยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งนี้การศึกษานี้เพื่อพิสูจน์ถึงผลกระทบโดยตรงต่อเชื้อ *K. pneumoniae* ของการรมไออิ่มตัวด้วยสารที่เลือกใช้ในการศึกษา จากนั้นจึงดำเนินการศึกษาการยับยั้งของไออิ่มตัวของสารทั้งสองหรือไออิ่มตัวของสารร่วมต่อเชื้อ *K. pneumoniae* บนผักชี โดยอาศัยการถ่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *K. pneumoniae* ลงไปโดยตรงบนผักชีก่อนที่นำไปผ่านการรมไออิ่มตัว โดยมุ่งเน้นที่ระยะเวลาในการรมไอเป็นสำคัญ ประเด็นสุดท้ายที่ดำเนินการวิจัย คือ การติดตามการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาผักชี (ไม่ผ่านการถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae*) ภายหลังจากการรมไออิ่มตัวของส้มสายชูหมัก หรือ ไออิ่มตัวของเอธานอล หรือ ไออิ่มตัวของสารร่วมทั้งสองสาร ทั้งนี้เพื่อพิจารณาถึงความเป็นไปได้ที่จะสามารถประยุกต์ในอุตสาหกรรมต่อไป

1.5 สมมุติฐานงานวิจัย

จากการศึกษาที่ผ่านมาของหัวหน้าคณะผู้วิจัย พบว่า ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก (vaporized fermented vinegar) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิด รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามมีคณะผู้วิจัยต่างๆ เสนอผลงานที่เกี่ยวกับประสิทธิภาพในการใช้ไอเอธานอล (vaporized ethanol) ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาเปรียบเทียบผลของไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวของเอธานอล รวมถึงการใช้ไออิ่มตัวของสารทั้งสองชนิดร่วมกัน โดยเลือกใช้เชื้อ *K. pneumoniae* เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร เนื่องจากเป็นหนึ่งของเชื้อแบคทีเรียที่มีแหล่งที่อยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์ นอกจากนี้แล้วยังเลือกใช้ผักชี เนื่องจากเป็นผักชนิดหนึ่งที่คนไทยนิยมบริโภคและมักบริโภคในลักษณะดิบจึงอาจเป็นแหล่งของการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคที่มีแหล่งจากลำไส้ได้ง่าย

1.6 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

ในการวิจัยเรื่องนี้มุ่งเน้นถึงการเลือกใช้สารอินทรีย์ (organic substances) เพื่อใช้เป็นสารฆ่าหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า “สารฆ่าเชื้อชีวภาพ (bio-sanitizer)” การมุ่งเน้นที่น้ำส้มสายชูหมัก เนื่องจากหัวหน้าผู้วิจัยได้ทำการศึกษาพัฒนาระบบการผลิตน้ำส้มสายชูหมักมาอย่างต่อเนื่องนับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 เป็นต้นมา จนสามารถพัฒนาถังหมักที่ส่งเสริมระบบการหมักแบบให้อากาศได้อย่างมีประสิทธิภาพและได้ยื่นจดสิทธิบัตรในนาม “สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง” ในชื่อสิ่งประดิษฐ์เรื่อง “กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศภายในถังหมัก” เมื่อวันที่ 13 ตุลาคม พ.ศ.2551 โดยสิ่งประดิษฐ์ดังกล่าวได้ผ่านการขอใช้สิทธิประโยชน์จากเอกชนแล้วถึงปัจจุบัน (กันยายน 2555) จำนวน 3 บริษัท การศึกษาในเรื่องนี้เป็นการศึกษาในอีกมิติหนึ่งของการใช้ประโยชน์ของน้ำส้มสายชูหมักซึ่งตามปกติจะมุ่งเน้นที่ระโยชน์ด้านการบริโภค แต่การศึกษานี้จะมุ่งเน้นที่ประโยชน์ด้านความปลอดภัยของอาหาร (food safety) สำหรับเอธานอล (ethanol) ก็จัดเป็นสารอินทรีย์ที่ผลิตจากเชื้อยีสต์ซึ่งปกติใช้ในการบริโภคในลักษณะเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ รวมถึงปัจจุบันมุ่งเน้นที่เป็นอีกแหล่งหนึ่งของพลังงานทางเลือกในลักษณะที่เรียกกันว่า “เอธานอลชีวภาพ (bio-ethanol)” สำหรับการศึกษานี้จะมุ่งเน้นของการประยุกต์ใช้ด้านความปลอดภัยของอาหาร ทั้งนี้เพราะเอธานอลในความเข้มข้น 70% จัดว่าเป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงและใช้กันอย่างกว้างขวาง อนึ่งในการประยุกต์ใช้ในธุรกิจอาหารจะต้องพิจารณาถึงผลกระทบด้านโสตสัมผัสของอาหาร (sensory effect) ด้วย เนื่องจากน้ำส้มสายชูหมักจะผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นเฉพาะตัวการตกค้างที่ตัวผลิตภัณฑ์อาจก่อให้เกิดการไม่ยอมรับของผู้บริโภคได้ง่าย ดังนั้นจึงเลือกศึกษาโดยใช้ไอของน้ำส้มสายชูหมักแทนเพื่อลดประเด็นปัญหาดังกล่าวลงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.7 คำสำคัญของการวิจัย

การควบคุมทางชีวภาพ ไอน้ำส้มสายชูหมัก ไอเอธานอล เชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงประสิทธิภาพของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอล และผลร่วมของไออิ่มตัวทั้งสองต่อการลดลงของเชื้อ *K. pneumoniae* และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหลังการรมไอบนผักชีที่อุณหภูมิห้องซึ่งคาดว่าจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อลดเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 ผักชี (Coriander)

ผักชีเป็นผักที่อยู่ในตระกูล Unbelliferae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Coriandrum sativa* Linn. มีชื่อพื้นบ้านว่า ผักชีไทย ผักชีลี ผักชีลา ผักหอม ผักชีไร่ ผักหอมน้อย และผักชี แตกต่างกันไปตามพื้นที่ปลูก มีชื่อภาษาอังกฤษว่า "Coriander" หรือ "Chinese Parsley" (ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ, 2547) ชื่อของผักชีมีที่มาจากภาษากรีกว่า " Koris " หมายถึงแมลงและเป็นที่รู้จักกันทั่วไปว่า cilantro มีต้นกำเนิดจากแถบเมดิเตอร์เรเนียนและตะวันออกกลาง หลายประเทศในเอเชียรู้จักเป็นเวลานับพันปีมาแล้ว (Chaudhry และ Tariq, 2006) และมีการนำไปประกอบอาหารอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น จีน เม็กซิโก อเมริกาใต้ อินเดีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

ผักชีเป็นผักที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน โดยส่วนของใบและก้านใบนิยมบริโภคเป็นผักสดหรือเครื่องเคียง ขณะที่กลิ่นหอมของเมล็ด ราก ใบ และต้นใช้เป็นเครื่องเทศในการประกอบอาหารได้หลายอย่าง ใช้ต้มเป็นน้ำซุป หรือ หมักเนื้อสัตว์ ทำให้มีกลิ่นหอม ดับกลิ่นคาว และทำให้รสชาติดี (ภัทราวดี ศรีปัญญา และ บุษกร ทองใบ, 2553) นอกจากนี้ใบของผักชียังมีสรรพคุณเป็นสมุนไพร เช่น ช่วยย่อยอาหาร บำรุงกระเพาะ เจริญอาหาร ขับลมขับพิษ แก้หวัด ขับเหงื่อ ลดน้ำตาลในเลือด แก้โรคหัด พอกทาแก้ผื่นคัน แก้ไฟลามทุ่ง แก้ตับอักเสบ ลดอาการปวดบวมตามข้อ ต้มดื่มแก้ไอ แก้หวัด อาหารเป็นพิษ แก้สะอึก กระตุ้นการทำงานของเลือดพลาสมาและกล้ามเนื้อ มีสารต้านมะเร็ง เป็นต้น (ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ, 2547)

ผักชีมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวเนื่องจากมีน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) ประกอบด้วย active phenolic compound ที่มี caffeic และ chloronic acid (Chaudhry และ Tariq, 2006) ซึ่งพบในทุกส่วนของต้นและพบมากที่สุดในเมล็ด (ลัดดาวัลย์ คำมะปะนา, 2551) น้ำมันหอมระเหยของผักชีอาจมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร เช่น *Salmonella* spp. ได้ (Chaudhry และ Tariq, 2006)

ผักชีที่จะส่งออกไปขายต่างประเทศจะต้องผ่านขั้นตอนการแช่ล้างน้ำที่ผสมคลอรีนตามอัตราส่วนเพื่อช่วยฆ่าเชื้อโรค เช่น น้ำ 250 ลิตร สามารถใช้ล้างผักชีได้ไม่เกิน 40 กิโลกรัม โดยแช่ตามเวลาที่กำหนด นำผักชีขึ้นใส่ในตะกร้าก่อนที่จะนำลงในถังสะบัดพร้อมทั้งตะกร้าเพื่อสะบัดน้ำก่อนนำไปจัดเก็บในห้องเย็น จากนั้นผักชีจะถูกลำเลียงลงสายพาน เพื่อให้พนักงานคัดคุณภาพ ตัดแต่ง ชั่งน้ำหนักและบรรจุใส่ถุงแล้วบรรจุลงกล่อง จัดเก็บในห้องเพื่อรอการขนส่ง ในการขนส่งจะทำการใส่เจลไอซ์ (gel ice) และปิดฝาลังเพื่อรักษาอุณหภูมิ (พีเค สยาม, มปป.)

2.1.1.1 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในผักชี

ผักชีมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งอาจมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียบางชนิดได้ แต่จากการทดลองสกัดน้ำเมล็ดผักชีด้วยการต้มในน้ำกลั่น 15 นาที พบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ได้ (Chaudhry และ Tariq, 2006) ต่อมาเอกชัย สร้อยน้ำและคณะ (2550) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง *Klebsiella* spp. ที่แยกได้จากน้ำนมโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ จากสมุนไพร 7 ชนิด ได้แก่ พลู บัวบก เปลือกมังคุด กระเจี๊ยบแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฝรั่ง ดาวเรือง และหญ้าลูกใต้ พบว่า พลูและกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่สกัดด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella* spp. โดยพลูทำให้ *Klebsiella* spp. ลดลง $46.4x10^5$ cfu/ml ส่วนกระเจี๊ยบแดงทำให้เชื้อ *Klebsiella* spp. ลดลง $36x10^5$ cfu/ml อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้อบเชยและ cumin ก็สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *K. pneumonia* ได้ดี (Agaoglu และคณะ, 2007)

2.1.1.2 การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในผักชี

ผักชีมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนเริ่มต้นค่อนข้างสูงทั้งตอนที่เป็นเมล็ดพันธุ์ และเมื่อเจริญเป็นต้นสมบูรณ์แล้วก็ตาม เนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกแบบสัมผัสดินประกอบกับมีลักษณะใบที่หงิกงอไม่เรียบแบนซึ่งเป็นสภาพที่เพิ่มการเกาะติดของจุลินทรีย์ได้ง่าย (ภัทราวดี ศรีปัญญา และ บุษกร ทองใบ, 2553)

ในต่างประเทศมีความกังวลเพิ่มขึ้นเรื่องความปลอดภัยของการบริโภคผักชี มีรายงานการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. และ *Shigella* spp. บนตัวอย่างผักชี 1.6 เปอร์เซ็นต์ (Food and Drug Administration, 1999) ขณะที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 19.5-20 เปอร์เซ็นต์ (Beuchat, 1996) อีกทั้งยังมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Yersinia* spp. และ *Listeria monocytogenes* (Kamat และคณะ, 2003) อีกด้วย นอกจากนี้แล้วยังตรวจพบแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง 10^6-10^8 cfu/g เชื้อรา 10^3-10^4 cfu/g aerobic mesophilic bacteria count เฉลี่ย 7.0±0.12 $\log_{10}$cfu/g และโคลิฟอร์ม (Kamat และคณะ, 2003) ซึ่งโคลิฟอร์มที่พบในผักชีได้แก่เชื้อ *K. pneumoniae* และ *Citrobacter koseri* (Shahid และคณะ, 2009) รวมถึงแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae 6 $\log_{10}$cfu/g (Wang และคณะ, 2004)

สำหรับประเทศไทยผักชีที่ปลูกในประเทศไทย พบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 7.6 $\log_{10}$cfu/g ปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มมีค่ามากกว่า 1,100 MPN/g (รัชพล พรรษา และ สราวุธ มณี, 2549) และ 5.74 $\log_{10}$ cfu/g (ภัทราวดี ศรีปัญญา และ บุษกร ทองใบ, 2553)

2.1.1.3 การลดเชื้อจุลินทรีย์บนผักชี

สารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีการแนะนำให้ใช้ในการล้างผัก ได้แก่ สารประกอบคลอรีน เช่น โซเดียมคลอไรด์และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ โดยจะมีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *Salmonella* spp. มากขึ้นเมื่อมีปรับสภาวะกรด-ด่างของน้ำล้างให้เท่ากับ 4 (วราภา มหากาญจนกุล และคณะ, 2544) หรือ สารเคมีที่ไม่ใช่กลุ่มคลอรีน ได้แก่ ส่วนผสมของเปอร์ออกซีแอซีติกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อผักทางการค้า นอกจากนี้ยังมีการใช้กรดต่างๆ เช่น กรดอะซิติก กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริกและกรดแลคติก รวมถึงการใช้โอโซนและรังสี (สุดสายชล ทองหอม และ นันทวัน กรัตพงศ์, 2552) สำหรับประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ของสารเหล่านี้ขึ้นอยู่กับ ชนิดของสาร ความเข้มข้นที่ใช้ ระยะเวลาสัมผัส (contact time) และอุณหภูมิของสาร (วราภา มหากาญจนกุล และคณะ, 2544) นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงลักษณะทางกายภาพของผักที่อาจจะช่วยให้เชื้อจุลินทรีย์ยึดเกาะติดได้ง่าย เช่น ลักษณะผิวของใบที่ขรุขระ มีร่องและรูเปิดตามธรรมชาติ ลักษณะดังกล่าวนี้จะทำให้การชะล้างด้วยน้ำในระหว่างขั้นตอนการล้างทำได้ยากขึ้นกว่าในผิวเซลล์ผัก-ผลไม้ที่เรียบ จึงทำให้เหลือการตกค้างของจุลินทรีย์อยู่ (Harris และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอุตสาหกรรมส่งออกผักนิยมใช้คลอรีนช่วงความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการล้างเพื่อลดจุลินทรีย์หลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากคลอรีนมีต้นทุนต่ำ แต่ความเข้มข้นดังกล่าวไม่เพียงพอต่อการกำจัดเชื้อก่อโรคในผักใบได้ (Beuchat และ Golden, 1998) แต่การใช้สารประกอบคลอรีนอาจมีสารตกค้าง เช่น Trihalomethanes และ chloramines ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งและอาจส่งผลต่อสุขภาพผู้บริโภคได้ และเกิดการกัดกร่อน (Ölmez และ Kretzschmar, 2009) อีกทั้งคลอรีนยังส่งผลต่อโครงสร้างความสมบูรณ์ของใบผักซึ่งทำให้เกิดการเน่าเสียในที่สุด (Kamat และคณะ, 2003)

2.1.2 แบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae*

เชื้อ *Klebsiella* ตั้งชื่อตาม Edwin Klebs นักจุลชีววิทยาชาวเยอรมันในศตวรรษที่ 19 เป็นแบคทีเรียแกรมลบในตระกูล Enterobacteriaceae และจัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4-0.8 x 1.2-2.4 ไมโครเมตร รูปร่างเป็นรูปท่อน มีแคปซูลเป็นโพลีแซกคาไรด์หนา ไม่มีแฟลกเจลล่า ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีใหญ่เยิ้มและเหนียว สามารถหมักน้ำตาลแลกโตสได้ (O'Connor-Shaw และคณะ, 1995) ให้โคโลนีลักษณะเป็นเมือกขนาด 4-6 มิลลิเมตร สีชมพู และเกิดการตกตะกอนเกลือน้ำดีรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mc Conkey agar (De la Maza, 2004) และสามารถเจริญบน Violet Red Bile agar ได้เช่นกัน

ปัจจุบันเชื้อ *Klebsiella* มี 7 สปีชีส์ (Umeh และ Berkowitz, 2009)ได้แก่ *K. pneumoniae, K. ozaenae, K. rhinoscleromatis, K. oxytoca, K. planticola, K. terrigena* และ *K. ornithinolytica* โดยเชื้อ *K. pneumoniae* เป็นสปีชีส์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์มากที่สุด

เชื้อ *Klebsiella* เจริญได้ในสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส จัดเป็นเชื้อประจำถิ่นพบในช่องปาก หลอดลม ผิวหนังและลำไส้ (Umeh และ Berkowitz, 2009)

2.1.2.1 การก่อโรค

เชื้อ *K. pneumoniae* เป็นแบคทีเรียฉวยโอกาส (opportunistic pathogen) เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่หลบซ่อนตัวอยู่ (invasive pathogen) โคโลนีขนาดใหญ่ที่เกิดจากการสร้างแคปซูลโพลีแซกคาไรด์หรือเมือก (แอนติเจน K) ขนาดใหญ่ ทำให้เชื้อสามารถป้องกันตัวเองจากการทำลายจากเม็ดเลือดขาว (phagocytosis) ในร่างกายได้ (Umeh และ Berkowitz, 2009) เชื้อ *Klebsiella* มีแอนติเจนที่ผิวที่ทำให้ก่อโรคได้ทั้ง 2 ชนิด คือ O แอนติเจน และ K แอนติเจน (Umeh และ Berkowitz, 2009) นอกจากนี้ยังเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบได้มากเป็นอันดับสองรองจากเชื้อ *E. coli* จึงจัดว่าเป็นเชื้อก่อโรคพื้นฐานที่สำคัญของผู้ที่อยู่ในโรงพยาบาลและผู้ป่วยที่เป็นโรครุนแรง (Haryani และคณะ, 2007) ทำให้เกิดโรคทางระบบทางเดินหายใจ ทางเดินปัสสาวะ หรือทางเดินอาหาร (Boglione และคณะ, 2008; Umeh และ Berkowitz, 2009) นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นสาเหตุของโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบที่พบมากในวัยกลางคนในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และตะวันออกเฉียงเหนือ มีอัตราการตายสูง 30-40 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า K1 และ K2 เป็นซีโรไทป์ที่แพร่หลายที่สุดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และประเทศไต้หวัน (Boglione และคณะ, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.2 การปนเปื้อน *K. pneumoniae*

เชื้อ *K. pneumoniae* สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ น้ำ ดิน ระบบหายใจ ทางเดินอาหารและอุจจาระของคนและสัตว์เลือดอุ่นรวมถึงในผักและผลไม้ ทำให้เกิดการแพร่กระจายของโรค และก่อให้อาหารเกิดการเน่าเสีย โดยทั่วไปตรวจพบในผักเกือบ 50 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณ 10^3 cfu/g นอกจากนี้ยังตรวจพบในอุจจาระของโคนมได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Munoz และคณะ, 2006) แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีโอกาสปนเปื้อนมากับปุ๋ยคอกที่ใช้ปลูกผักได้สูง

มีรายงานการตรวจพบเชื้อ *K. pneumoniae* ในอาหารหลายชนิด เช่น ผักที่ใช้ทำสลัด (Wright และคณะ, 1976; Rajvanshi, 2010; Soriano และคณะ, 2000; Soriano และคณะ, 2001) มอซซาเรลล่าชีส (Massa และคณะ, 1992) อาหารทะเล (Singh และ Kulshreshtha, 1992) และอาหารทั่วๆไป (Haryani และคณะ, 2007) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานความเป็นพิษเนื่องจากการผลิตเอนเทอโรท็อกซินที่ปนเปื้อนในแฮมเบอร์เกอร์ (Sabota และคณะ, 1998) และไก่งวง (Rennie และคณะ, 1990) จนทำให้เกิดอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบ ท้องเสียอย่างรุนแรงและอาการอื่น ๆ หลังจากบริโภคอาหารดังกล่าวมาแล้ว

ในแง่บวกพบว่าเชื้อ *K. pneumoniae* สายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค (non-virulent strain) ที่มีปะปนอยู่ในเทมเป้มีบทบาทในการสร้างวิตามินบี 12 ในเทมเป้ (Adam และ Moss, 2000)

2.1.2.3 การปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผัก

เชื้อ Microflora หลักที่พบในผักส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจาก pH ของผักหลายชนิดอยู่ในช่วงที่จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคสามารถเจริญได้ (Beuchat, 2002) ปัจจัยที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน ได้แก่ คุณภาพน้ำ การใช้ปุ๋ยคอก การเลี้ยงสัตว์ในบริเวณแปลงเพาะปลูกหรือบริเวณบรรจุ และสุขภาพของผู้ปฏิบัติงานตั้งแต่ขั้นตอนการปลูก การบรรจุ การผลิต การขนส่ง การกระจายสินค้า (Pinto และคณะ, 2006) การเสียหายทางกายภาพ เช่น รูรั่วหรือรอยช้ำ จะสนับสนุนการเพิ่มจำนวนของเชื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเก็บรักษานอกตู้เย็น (Harris และคณะ, 2003)

2.1.3 น้ำส้มสายชูหมัก

น้ำส้มสายชูหมักมีลักษณะเป็นของเหลวใส ส่วนใหญ่มีสีชา มีกลิ่นตามวัตถุดิบที่เลือกใช้ นิยมใช้เป็นสารให้กลิ่นรสเปรี้ยว อีกทั้งเป็นกรดที่เหมาะสมในการรักษาคุณภาพอาหารยิ่งกว่ากรดชนิดใดๆ จึงจัดเป็นสารประเภท General Recognized as Safe (GRAS) เพราะไม่มีพิษต่อร่างกาย ปกตินิยมใช้ทั่วไปในครัวเรือน มีองค์ประกอบสำคัญทางเคมีเป็นกรดอะซิติกหรือกรดน้ำส้ม ซึ่งเป็นกรดอ่อน มีโครงสร้างทางเคมีเช่นเดียวกับกรดอะซิติก (CH_3COOH) น้ำส้มสายชูหมักทั่วไปจะมีกรดอะซิติกประมาณ 4.2-6 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นกับ วัตถุประสงค์ในการซื้อ-ขาย แต่ถ้าใช้ในระดับอุตสาหกรรมส่วนใหญ่จะกำหนดไว้ที่กรด 10 เปอร์เซนต์

ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักนั้น แบคทีเรียอะซิติกที่สำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแอลกอฮอล์หรือเอธานอลให้เป็นกรดอะซิติกในสภาพที่มีอากาศ คือ เชื้อ *Acetobacter* โดยเฉพาะ *A. aceti* ที่สามารถผลิตกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมักได้สูงถึง 10-12 เปอร์เซ็นต์ โดยวัตถุดิบที่ใช้มีหลากหลายชนิด เช่น แอปเปิ้ล ข้าว ข้าวโพดอ่อน กล้วยสุก เศษเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปมะม่วง มะม่วง น้ำมะพร้าว น้ำหางนม หัวหอมสายพันธุ์ญี่ปุ่น อ้อย เป็นต้น (วราวุฒิ ครูส่ง และคณะ, 2553) ความเข้มข้นของกรดอะซิติกขึ้นอยู่กับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของวัตถุดิบที่นำมาผลิตและกระบวนการที่ใช้ น้ำส้มสายชูหมักยังคงส่วนประกอบของเกลือแร่ วิตามิน ไฟเบอร์ เอ็นไซม์และสารอินทรีย์อื่นๆ นอกจากนี้ยังให้กลิ่นหอมที่เฉพาะตัวของวัตถุดิบที่ใช้หมักอีกด้วย สำหรับค่า pH ของน้ำส้มสายชูหมักขึ้นอยู่กับปริมาณไฮโดรเจนไอออนในสารละลาย โดยถ้า pH ลดลง 1 หน่วยจะมีความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนเพิ่มขึ้น 10 เท่า (Boatwright, n.d.)

2.1.3.1 ผลของน้ำส้มสายชูต่อการการยับยั้งแบคทีเรียในผัก

กลไกการออกฤทธิ์ของกรดอินทรีย์จะทำลายเชื้อแบคทีเรียด้วยการแพร่สู่เซลล์ทำให้ภายในเซลล์จุลินทรีย์นั้นมีค่า pH ลดลงซึ่งส่งผลต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมภายในเยื่อหุ้มเซลล์ และเป็นสาเหตุให้เซลล์ตายในที่สุด (Chang และ Fang, 2007; Beuchat และ Golden, 1998)

กรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ 75 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการเจริญ 24 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสารอาหารแม้ว่าจะมีน้ำตาลสูงก็ตาม (Yu และ Saddler, 1982)

2.1.4 เอธานอล

เอธานอลจัดเป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง ขณะเดียวกันจัดเป็นสารฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพปานกลางไม่สามารถทำลายสปอร์ของแบคทีเรียได้ แต่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความ สำคัญ เช่น เชื้อวัณโรคและไวรัสได้ เอธานอลพบได้ทั่วไปในพืชและมีความเข้มข้นสูงขึ้นในเนื้อเยื่อเมื่อมีการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน พืชทนระดับเอธานอลได้สูงโดยเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ และช่วยชะลอการเหี่ยวของเนื้อเยื่อ (Corcuff และคณะ, 1996) จากการทดลองจุ่มผลเบอร์รี่ในเอธานอล พบว่า ทำให้เกิดการตกค้างของเอธานอลในปริมาณต่ำมาก จึงไม่ส่งผลต่อลักษณะปรากฏและรสชาติ (Lichter และคณะ, 2003)

2.1.4.1 ผลของเอธานอลต่อการยับยั้งแบคทีเรียในผักและผลไม้

เอธานอลถูกใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารทั่วไป มีสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Larson และ Morton, 1991) เอธานอลที่มีความเข้มข้นมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ถึง 45 เปอร์เซ็นต์ หลังการเจริญ 24 ชั่วโมงเมื่อเลี้ยงในสารอาหารแม้ว่าจะมีน้ำตาลสูงก็ตาม (Yu และ Saddler, 1982)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2.1 การลดเชื้อจุลินทรีย์บนผักชี

ภัทราวดี ศรีปัญญา และ บุษกร ทองใบ (2553) รายงานว่าการล้างผักชีด้วยน้ำกลั่นสามารถลดปริมาณโคลิฟอร์มจาก 5.47 $\log_{10}$ cfu/g ลงไปได้ 0.98 $\log_{10}$ cfu/g แต่หลังการเก็บรักษากลับพบว่าปริมาณโคลิฟอร์มมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อย ๆ โดยในวันที่ 8 เป็น 5.22 $\log_{10}$ cfu/g และวันที่ 12 เพิ่มเป็น 7.47 $\log_{10}$cfu/g ส่วน Kamat และคณะ (2003) รายงานการแช่ผักชีด้วยคลอรีน 250 ppm นาน 10 นาที ไม่สามารถยับยั้ง fecal coliform หรือ coliform ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วราภา มหากาญจนกุล และคณะ (2544) รายงานการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรท์ 50 ppm สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 200 ppm และสารผสมเปอร์ออกซีแอซีติก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 80 ppm ในการลดปริมาณเซลล์ *E. coli* ในผักชี พบว่า สารละลายโซเดียมคลอไรด์และสารผสมเปอร์ออกซีแอซีติกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมาคือ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ แต่ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิด ทำให้สีผักชีคล้ำเนื่องจากใบมีขนาดเล็กและบาง โดยที่กลิ่นผักไม่เปลี่ยน ลักษณะใบผักที่หงิกงอของผักชีทำให้สารฆ่าเชื้อเข้าไปทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ยากกว่าปกติ แต่ตามข้อกำหนดด้านความปลอดภัยในอาหารของ Regulation (EU) No. 378:2002 ไม่อนุญาตให้ใช้โอโซน คลอรีนไดออกไซด์ เปอร์ออกซีแอซีติก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในกระบวนการผลิตอาหาร (Ölmez และ Kretzschmar, 2009)

2.2.2 การปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผัก

Rajvanshi (2010) รายงานปริมาณแบคทีเรียรวมในผักชี แครอทและแตงกวา พบว่าผักชีมีปริมาณแบคทีเรียรวมมากที่สุดคือ $1.38x10^4$ cfu/ml หลังการล้างด้วยน้ำประปาและแบคทีเรียรวมลดลงเหลือประมาณ $0.834x10^4$ cfu/ml (37.6 เปอร์เซ็นต์) หลังการล้างด้วยน้ำประปาอุ่น 40 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาวิเคราะห์แยกชนิดของแบคทีเรีย พบว่า ในผักชีมี *Bacillus* spp. มากที่สุดคือ 13 ไอโซเลทและ *Klebsiella* spp. 3 ไอโซเลท จากทั้งหมด 44 ไอโซเลท

2.2.3 ผลของน้ำส้มสายชูต่อการการยับยั้งแบคทีเรียในผัก

วชิราภรณ์ เทียมพันธ์ (2545) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูที่มีกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ต่อการทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *E. coli* บนผักกาดหอม พบว่าสารละลายของน้ำส้มสายชูที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดได้มากกว่า 2 log ที่เวลา 15 และ 30 นาที และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่าประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น สามารถทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ประมาณ 3 log ในเวลา 15-30 นาที ถึงแม้ว่าความเข้มข้นของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูสูงขึ้นจะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *E. coli* เพิ่มขึ้นด้วย แต่กลับส่งผลเชิงคุณภาพของผักกาดหอม โดยที่ความเข้มข้นที่ 2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สีและความสดของผักกาดหอมเปลี่ยนแปลงไป ขณะที่ความเข้มข้นเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ แช่ผักเป็นเวลา 15 นาที ทำให้ขอบใบของผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลอ่อน เมื่อทิ้งไว้นานขึ้นจะเห็นรอยสีน้ำตาลชัดขึ้น

Etsuzo1 และคณะ (1998) กล่าวถึงปฏิกิริยาการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำส้มสายชูหมักที่ผ่านการทดสอบกับแบคทีเรียต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร พบว่า การเจริญของแบคทีเรียทุกสายพันธุ์จะถูกยับยั้งด้วยน้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 0.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการยับยั้งจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีโซเดียมคลอไรด์หรือกลูโคสด้วย อย่างไรก็ตามการทดสอบดังกล่าวเป็นการทดสอบในระยะ growth phase ซึ่งเป็นระยะที่เซลล์มีความไวและตายง่ายกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระยะอื่นๆทั้งนี้ปฏิกิริยาการการยับยั้งเชื้อ *E. coli* O157:H7 ของน้ำส้มสายชูหมักจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น และนอกจากนี้ยังพบว่าการรวมกันของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำส้มสายชูหมักและโซเดียมคลอไรด์จะมีประสิทธิภาพในการป้องกันอาหารเป็นพิษจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารได้สูงขึ้น

2.2.4 ผลของเอธานอลต่อการยับยั้งแบคทีเรียในผักและผลไม้

Beuchat (1997) ศึกษาการใช้เอธานอลฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ในเมล็ดถั่วงอก โดยทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการทำลาย *Salmonella* spp. 5 ซีโรวาร์ ที่ปนเปื้อนในเมล็ดถั่วงอก โดยศึกษาเปรียบเทียบกับแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น $3.3x10^7$ cfu/ml พบว่า โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1 เปอร์เซ็นต์ และเอธานอล 70-80 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำลายเชื้อที่ผิวนอกของเมล็ดได้ แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อ *Salmonella* spp. ที่อยู่ชั้นผิวภายในได้ ขณะที่แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ หรือโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มี available chlorine 1,800 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเอธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เชื้อ *Salmonella* spp. ลดลงได้มากกว่า 1,000 เท่าหลังจากแช่ 10 นาที ซึ่งเหมาะสมกับการใช้เป็นทางเลือกในการทำลาย *Salmonella* spp. ได้ แต่ยังไม่สามารถทำลายเชื้อ *Salmonella* spp. ที่อยู่ชั้นผิวภายในให้หมดได้ ส่วนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 6 เปอร์เซ็นต์ ก็ให้ผลได้ดีเช่นกันแต่ยากเรื่องการจัดการ เนื่องจากทำให้ผู้ปฏิบัติการเกิดการระคายเคืองที่ผิวหนังได้

Pinto และคณะ (2006) ศึกษาผลของการจุ่มเอธานอลต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ในผลองุ่นไร้เมล็ด พบว่า สามารถลดเชื้อลงได้ประมาณ 1.30 $\log_{10}$ cfu/g ขณะที่น้ำที่ใช้เป็นสารควบคุม ทำให้เชื้อลดลงเพียง 0.47 $\log_{10}$cfu/g สำหรับผลของความเข้มข้นของเอธานอลต่อ *E. coli* พบว่า การจุ่มเอธานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที ทำให้เชื้อ *E. coli* เริ่มต้นในผลองุ่นที่มีประมาณ 10^4 cfu/g ลดลงถึง 2 $\log_{10}$cfu/g อย่างไรก็ตามการทดลองมีความแปรปรวนสูงมากทั้งภายในและระหว่างกลุ่มทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างทางกายวิภาคขององุ่นแต่ละกิ่ง

2.2.5 การรมไอ

การรมด้วยไอกรดอะซิติกเป็นวิธีที่ได้รับการนำเสนอเพื่อใช้ในการฆ่าเชื้อในบริเวณที่มีพื้นผิวกว้างของผลไม้และมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ในผัก (Tripathi และ Dubey, 2004) ส่วนหนึ่งเพื่อทดแทนการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในการควบคุมการแพร่ของเชื้อรา *Botrytis cinerea* หลังการเก็บเกี่ยวซึ่งจากการศึกษาของ Sholberg และคณะ (2004) พบว่า การรมไอกรดอะซิติก 2 หรือ 4 mgl^{-1} เพื่อควบคุมการเน่าเสียของ แอปเปิ้ล องุ่น เชื้อรา กีวี ลูกแพร มะเขือเทศ จากเชื้อรา *B. cinerea* ได้

2.2.5.1 การรมไอน้ำส้มสายชูหมัก

การรมไอน้ำส้มสายชูหมักที่มีกรดอะซิติก 4-6 เปอร์เซ็นต์ สามารถป้องกันการเน่าเสียของผลไม้และมีความปลอดภัยและยังคงประสิทธิภาพมากกว่าการรมไอกรดอะซิติก (Sholberg และคณะ, 2004) โดยยังคงให้ประสิทธิภาพในการป้องกันการเน่าเสียเมื่อรม 20 ครั้งหรือมากกว่านั้น (Sholberg และคณะ, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จิราวรรณ ยี่สิบแสน (2552) รายงานการลด *S.* Enteridiidis บนผิวเปลือกไข่ด้วยน้ำส้มสายชูหมัก โดยเปรียบเทียบวิธีการจุ่ม การสเปรย์และการรมไอ ณ อุณหภูมิห้อง พบว่า วิธีการรมไอน้ำส้มสายชูหมักไม่ทำให้ลักษณะทางกายภาพของไข่เสียหาย แต่จะใช้เวลาในการฆ่าเชื้อนานที่สุด โดยการรมไอน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ ใช้เวลา 6 ชั่วโมงและ 5 ชั่วโมง ตามลำดับ และไม่พบการปนเปื้อนหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (31 ± 1 องศาเซลเซียส)

ภัทราพรรณ จรูญรัตนสกุล (2553) ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *B. cinerea* บนผิวสตอเบอร์รี่สดด้วยการสเปรย์และการรมไอน้ำส้มสายชูหมัก พบว่า วิธีการรมไอน้ำส้มสายชูหมักซึ่งมีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที ณ อุณหภูมิห้อง สามารถลดการเสื่อมเสียของสตรอเบอร์รี่สดจากเชื้อรา *B. cinerea* ได้ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ โดยที่จะเริ่มแสดงการเสื่อมเสียในวันที่ 9 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่วิธีสเปรย์จะเริ่มแสดงการเสื่อมเสียในวันที่ 7 ส่วนชุดควบคุมจะเริ่มแสดงการเสื่อมเสียในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิดังกล่าว และผลการศึกษาด้านประสาทสัมผัสพบว่า น้ำส้มสายชูหมักกลิ่นสตรอเบอร์รี่ซึ่งมีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 10 เปอร์เซ็นต์ จากสตรอเบอร์รี่สด 20 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับสตรอเบอร์รี่ที่ไม่ได้รมไอ ซึ่งให้ผลการยอมรับดีกว่าวิธีสเปรย์

ตวงพร โรจนวงศ์ และคณะ (2545) ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการติดเชื้อและการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสบนมะละกอพันธุ์ฮาวายหลังการเก็บเกี่ยว โดยใช้ไอน้ำส้มสายชูที่หมักจากน้ำแอปเปิ้ล น้ำส้มสายชูกลั่นและกรดน้ำส้ม ปริมาตร 5 มิลลิลิตร พบว่า สามารถลดการเน่าเสียจาก 100 เปอร์เซ็นต์ เป็น 3.4 6.9 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.2.5.2 การรมไอเอธานอล

Corcuff และคณะ (1996) รายงานการรมไอเอธานอลโดยใช้เอธานอลที่มีความเข้มข้น 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ในภาชนะบรรจุ 3 ลิตร มีความเข้มข้นของเอธานอลในบรรยากาศ 500 1,000 และ 2,500 ppm (±10-15 เปอร์เซ็นต์) ในสภาวะป้องกันการรวมตัวของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และการขาดออกซิเจน ความชื้นสัมพัทธ์ใกล้เคียง 100 เปอร์เซ็นต์ ปรับความสมดุลระหว่างเอธานอลในน้ำและอากาศ 3-5 ชั่วโมง หลังจากปิดภาชนะ ใช้เวลาในการรม 12 และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน โดยเปลี่ยนสารละลายเมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน พบว่ามีเพียงเอธานอลที่มีความเข้มข้น 2,500 ppm ในบรรยากาศบนบล็อกโคลี่เท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (คำนวณดัชนีความรุนแรงของเชื้อราจากการให้คะแนนโดยใช้รัศมีของโคโลนีเป็นเกณฑ์)นอกจากนี้ยังทำให้ผักยังคงความเขียวได้นานกว่าเมื่อเปรียบ เทียบกับชุดควบคุมอย่านัยสำคัญทางสถิติ แต่เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เนื่องจากมีเอธานอลในเนื้อเยื่อสูง

กฤษฎา บุตรพลอย และ ดนัย บุณยเกียรติ (2545) รายงานการรมไอระเหยของเอธานอลบนส้มเขียวหวานที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง สามารถชะลอการเข้าไปทำลายของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ทำให้เกิดโรคเน่าราสีเขียวได้นาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.25 วัน โดยไม่ทำให้เกิดบาดแผลที่ผิวซึ่งจะส่งผลต่อการเปลี่ยนสีของผิวส้ม และไม่ส่งผลต่อปริมาณวิตามินซีในส้ม

Lihandra (2007) รายงานผลการรมไอเอธานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที ในผลพีช พบว่า สามารถป้องกันเชื้อราได้ถึง 30 วัน ภายหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หรือ ที่อุณหภูมิห้อง โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งสามารถป้องกันได้เพียง 2-3 วัน แต่ทำให้เกิดสีน้ำตาลอย่างรุนแรง ในทางตรงกันข้ามเมื่อรมไอเอธานอลที่ 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถป้องกันได้ 10 วัน เมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และ 2 วันเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่ทำให้เกิดสีน้ำตาล เมื่อเปรียบเทียบกับการจุ่มผลพีชในเอธานอลความเข้มข้น 20 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ประสิทธิภาพไม่ดีเท่ากับการรมไอเอธานอล แต่ไม่ทำให้เกิดสีน้ำตาลและเกิดการเน่าเสียหลังการเก็บรักษา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

Daifas และคณะ (2007) รายงานผลของไอเอธานอลต่อการควบคุมการเจริญและสร้างสารพิษของ *Clostridium butulinum* ในผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี่ที่มีความชื้นสูง (crumpet) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยผลิตภัณฑ์บรรจุในถุงที่มีอัตราการแลกเปลี่ยนเอธานอล 0.21 $g/m^2/day$ โดยใช้ไอเอธานอล ที่มีชื่อทางการค้าว่า Ethicap 2 4 และ 6 กรัม กับถุงผ้าที่อิ่มตัวด้วย 2 4 และ 6 กรัมของเอธานอล 95เปอร์เซ็นต์ พบว่า Ethicap 4 และ 6 กรัม กับ ถุงผ้าที่อิ่มตัวด้วย 2 4 และ 6 กรัมของเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถควบคุมการเจริญและสร้างสารพิษของ *C. butulinum* ได้อย่างสมบูรณ์ คือ มากกว่า 21 วัน

Siddiqui และคณะ (2005) ศึกษาการรมไอเอธานอลบริสุทธิ์และไอกรดอะซิติก เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและการรมไอน้ำ เป็นเวลา 15 นาที พบว่าทุกวิธีมีผลต่อการลดการสร้างโคโลนีของเชื้อราและสามารถทำลายเชื้อ coliform ที่ผิวของผลฝรั่งได้ ทั้งนี้การรมไอเอธานอลบริสุทธิ์ให้ผลดีที่สุดโดยเป็นวิธีเดียวที่สามารถยืดอายุผลฝรั่ง ทำให้เสียน้ำหนักน้อยและเนื้อยังแน่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้

3.1.1 ผักชี

ผักชีสดที่ใช้ในการศึกษาซื้อจากตลาดสดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง จ.กรุงเทพมหานคร โดยเมื่อซื้อเสร็จจะทำการศึกษาภายใน 6 ชั่วโมง เนื่องจากผักชีจะเหี่ยวง่าย

3.1.2 อุปกรณ์ทดลอง

ประกอบด้วย หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (SS-245/Tomy/Japan) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Dragon 3002/Mettler Toledo/Switzerland) ตู้อบฆ่าเชื้อ (UL50/Memmert/Germany) ตู้บ่มเพาะเชื้อ (B30/Memmert/Germany) ตู้เขี่ยเชื้อ (BS24 9BP/Bio safety/UK) เครื่องเขย่าผสม(G-560 E/Scientific/U.S.A) เครื่องตีป่น (BA 7021/Seward/UK) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างหรือ pH (CG841/Schott gerate/Germany) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (JSM-5410LV/JEOL/ Japan/SEM) ชุดกล่องรมไอปริมาตร 0.015 ลบ.ม.และเครื่องปั๊ม

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

ประกอบด้วย Tryptic Soy Agar (TSA/Himedia/India); Tryptic Soy Broth (TSB /Himedia/India); Lauryl Sulfate Tryptose broth (LST/ Merck/Germany) Brillient Green Bile (BGB/Merck/Germany); EC broth (Merck/Germany); MacConkey Agar (MCA/Hi media/India); Mueller Hinton Agar (MHA)/Himedia/India) และ Buffer Peptone Water (BPW/Merck/Germany)

3.1.4 สารเคมี

ประกอบด้วยน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพด (corn cider vinegar/เข้มข้น 10 เปอร์เซนต์/My Garden/ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท แอกโกรนิก้า จำกัด) แอลกอฮอล์ 70เปอร์เซนต์ และ 90 เปอร์เซนต์ (Sigma/Malaysia) ชุดทดสอบสำเร็จรูป rapid ID 32 E (BioMerieux/France) สำหรับกลุ่ม Entero bacteriaceae; Klebsiella Selective Supplement (Carbinicillin/Fluka/Switzerland) และ Myo-inositol (Fluka/Switzerland)

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่แยกได้จากตัวอย่างผักชี ผ่านการตรวจยืนยันด้วย rapid ID 32 E (BioMerieux) ก่อนใช้งานจะนำเชื้อมาเขี่ยลงบนในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA slant บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น stock culture ทำการถ่ายเชื้อเดือนละหนึ่งครั้งระหว่างทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การสำรวจยืนยันการปนเปื้อนของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ Faecal coliform ในผักชี

เก็บตัวอย่างผักชีจากตลาดมีนบุรี (เขตมีนบุรี) ตลาดหัวตะเข้ และตลาดนิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง (เขตลาดกระบัง) รวม 30 ตัวอย่าง เก็บรักษาในถุงพลาสติกที่สะอาดและปราศจากเชื้อ และควบคุมอุรหภูมิในระหว่างการขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการทดลองให้ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และดำเนินการตรวจสอบภายหลังจากเก็บตัวอย่างภายในเวลา 6 ชั่วโมง ด้วยวิธีดังนี้

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างผักชี

นำผักชีมาผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เพื่อกำจัดเศษดินและสิ่งแปลกปลอมออกในเบื้องต้น ผึ่งให้แห้งในถาดที่วางในตู้เขี่ยเชื้อ จากนั้นนำมาตัดออกเป็นท่อน ๆ โดยใช้ทั้งใบ ลำต้นและราก

นำส่วนต่าง ๆ ๆของผักชีมาชั่งน้ำหนัก 25 กรัม เติมสารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 250 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร (ten fold dilution) ทำการเจือจางสิบเท่า (ten fold dilution) โดยปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฟอสเฟต

3.3.2 การวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

นำตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมจากข้อ 3.3.1 มาตรวจหา coliform และ faecal coliform ด้วยวิธี presumtive coliform และ presumptive faecal coliform ตามลำดับ หาค่า MPN ตามวิธีการของ USDA (2011) แล้วนำเชื้อจาก dilution สุดท้ายมา streak ลงบน MCA เพื่อดูลักษณะโคโลนีและการหมักน้ำตาลแลกโตส นำโคโลนีที่ตรวจพบไปทดสอบด้วย Rapid ID 32 E สำหรับกลุ่ม Enterobacteriaceae (BioMerieux) เพื่อยืนยันว่าเป็นเชื้อ *K. pneumoniae* จากนั้นจึงเก็บเชื้อไว้ใน TSA slant ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

ทำการสรุปผลการสำรวจยืนยันเป็นเปอร์เซ็นต์ *K. pneumoniae* ที่พบในผักชี อนึ่งได้ทำการทดสอบสมบัติของเชื้อทางชีวเคมีโดยทดสอบ IMVIC test และ MCA เพื่อยืนยันความบริสุทธิ์ของเชื้อ *K. pneumoniae* ก่อนนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.4 การเตรียมเซลล์ของเชื้อ *K. Pneumoniae*

3.4.1 การเตรียมเซลล์

ทำการเขี่ยเชื้อ *K. pneumoniae* บริสุทธิ์จากอาหาร TSA slant ลงในอาหาร TSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาถ่ายเชื้อลงใน TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลง TSB 10 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อที่ได้ซ้ำอีกครั้ง จะได้เชื้อที่มีความเข้มข้นของเซลล์เป็น 9 log CFU/ml ยืนยันความเข้มข้นของเซลล์ที่ได้โดยการตรวจนับโคโลนีด้วยวิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA เลือกนับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่อยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การทดสอบยืนยันความบริสุทธิ์ของเซลล์ *K. pneumoniae* ที่เตรียม

นำเชื้อ *K. pneumoniae* ที่เตรียมจากข้อ 3.4.1 มาทดสอบคุณสมบัติของเชื้อทางชีวเคมีโดยทดสอบ IMVIC test และ MCA เพื่อยืนยันความบริสุทธิ์ของเชื้อ *K. pneumoniae* ก่อนนำมาใช้ในการทดลอง

3.5 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของน้ำส้มสายชูหมักหรือเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ

ทำการศึกษาในสองลักษณะซึ่งเป็นการศึกษาผลกระทบของน้ำส้มสายชูหมักหรือเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ประกอบด้วย ผลกระทบทางอ้อม (indirect impact) โดยอาศัยการแพร่กระจายของสารทั้งสองในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อเชื้อ *K. pneumoniae* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อและผลกระทบทางตรง (direct impact) โดยอาศัยการสัมผัสโดยตรงของเชื้อ *K. pneumoniae* กับสารทั้งสองในหลอดทดลอง

3.5.1 ความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยอ้อมด้วยการกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Indirect impact by agar overlay disc diffusion method)

นำน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ มาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 1 2 3 4 และ 5 เปอร์เซนต์ วิเคราะห์หาค่า pH ในแต่ละความเข้มข้น จากนั้นนำเชื้อ *K. pneumoniae* ที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 มาเจือจางด้วยสารละลาย เปปโตน (ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์) ให้อยู่ในระดับ 7 log CFU/ml หาความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ตามวิธีของ Yeesibsan and Krusong (2009) โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA 10 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้แข็งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA 5 มิลลิลิตร ที่มีการเติมสารละลายเชื้อ *K. pneumoniae* 20 ไมโครลิตร ทำการ pour plate เพื่อให้เซลล์กระจายทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที เขียนระบุตำแหน่งที่วางแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.00 มิลลิเมตร ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อคีบแผ่นกระดาษกรองที่ปราศจากเชื้อวางตรงตำแหน่งที่ระบุ หยดน้ำส้มสายชูหมักที่จะทดสอบแต่ละความเข้มข้น 0 1 2 3 4 5 และ 10 เปอร์เซนต์ ลงบนกระดาษกรอง ทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นนำไปบ่ม โดยหงายจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดยใช้เวอร์เนียร์แคลลิปเปอร์วัดโซนยับยั้งซึ่งมีลักษณะใส (inhibition zone) รอบแผ่นกระดาษกรองที่หยดน้ำส้มสายชูหมัก ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.5.2 ความเข้มข้นของเอธานอลที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยอ้อมด้วยการกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Indirect impact by agar overlay disc diffusion method)

นำเอธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซนต์ มาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 70 80 และ 90% ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.5.1 โดยใช้เอธานอลที่เตรียมขึ้นแทนน้ำส้มสายชูหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.5.3 ความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยตรงในหลอดทดลอง (Direct impact by *in vitro* test tube method)

นำน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ เตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก ในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมซึ่งได้ผลจากข้อ 3.5.1 ให้มีช่วงห่างหลอดทดลองละ 0.1 เปอร์เซนต์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยการคำนวณปริมาตรจากน้ำส้มสายชูหมักซึ่งมีกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ และมีปริมาตรรวมทั้งหมด 10 มิลลิลิตร ต่อ 1 หลอดทดลอง นำเชื้อ *K. pneumoniae* ที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 มาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน (ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์) ให้อยู่ในระดับ 10^7 CFU/ml จากนั้นปิเปตสารละลายเชื้อ *K. pneumoniae* ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแต่ละความเข้มข้น จะทำให้ได้เชื้อในหลอดทดลองอยู่ในระดับ 6 log CFU/ml (ดัดแปลงจาก Kudkeaew และ Krusong, 2007) บ่มหลอดทดลองที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0 และ 10 นาที ตามลำดับ ทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธี pour plate บนอาหาร TSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.5.4 ความเข้มข้นของเอธานอลต่อการการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยตรงในหลอดทดลอง (Direct impact by *in vitro* test tube method)

ทำการเตรียมสารละลายเอธานอลจากเอธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซนต์ ในช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมซึ่งได้ผลจากข้อ 3.5.2 โดยมีช่วงห่างหลอดทดลองละ 1 เปอร์เซนต์ ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.5.3

3.6 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของการรมไอน้ำส้มสายชูหมักหรือไอเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ

3.6.1 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำเชื้อ *K. pneumoniae* ที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 มาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน (ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์) ดูดสารละลายเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA เกลี่ยเชื้อด้วยวิธี Spread plate ให้ได้เชื้อในจานเพาะเชื้อประมาณ 4 log CFU/plate นำไปวางในอุปกรณ์รมไอที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำส้มสายชูหมัก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์) รมเป็นเวลา 0 10 20 30 40 และ 50 นาที ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลาตามกำหนดจึงนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่รมไอแล้วผึ่งให้แห้งในตู้ laminar flow เป็นเวลา 5 นาที บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานอาหารเชื้อที่รมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักในเวลาต่าง ๆ เปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้รมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก (ตัวอย่างควบคุม) ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยนำระยะเวลาที่ทำให้เชื้อ *K. pneumoniae* ในจานเลี้ยงเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ไปพิจารณาใช้ในการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักในผักชีต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
131177

3.6.2 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวเอธานอลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับข้อ 3.6.2 แต่นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปวางในกล่องที่อิ่มตัวด้วยไอเอธานอล (ความเข้มข้น 95 เปอร์เซนต์) รมเป็นเวลา 0 5 10 15 และ 20 นาที ตาม ลำดับ

3.6.3 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวสารร่วม (น้ำส้มสายชูหมักและเอธานอล) ต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการทดลองโดยแบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ (1) การรมไออิ่มตัวสารร่วม (น้ำส้มสายชูหมักและเอธานอล) แบบพร้อมกัน (2) การรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักแล้วตามด้วยไออิ่มตัวเอธานอล และ (3) การรมไออิ่มตัวเอธานอลตามด้วยไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ทำการติดตามการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานเพาะเชื้อโดยทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับข้อ 3.6.1

การรมไออิ่มตัวของสารร่วมแบบตามลำดับ ทำโดยนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปวางรมไอในกล่องที่อิ่มตัวด้วยสารรมชนิดหนึ่งตามเวลาที่เหมาะสมของสารชนิดนั้น เมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนด จึงนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นไปรมต่อทันทีในกล่องที่อิ่มตัวด้วยไอของสารอีกชนิดหนึ่งของสารชนิดนั้นจากการทดลองก่อนหน้า ทั้งนี้ระยะเวลาในการรมไอตามผลการทดลองที่ได้จากข้อ 3.6.1 หรือ 3.6.2

การรมไออิ่มตัวสารร่วมแบบพร้อมกัน ทำโดยปล่อยไอจากน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดซิติก 10% และไออิ่มตัวจากเอทานอล 95% เข้าไปในกล่องจนอิ่มตัว จากนั้นจึงนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปวางรมไออิ่มตัวเป็นเวลา 0 5 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ

ทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการรมไออิ่มตัวสารร่วมทั้ง 3 วิธีที่ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดีที่สุด เพื่อนำไปใช้ในการรมไอผักชีขั้นต่อไป

3.7 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของการรมไอน้ำส้มสายชูหมักหรือไอเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับผักชี

การศึกษาที่ใช้กับผักชีนี้จะใช้สภาพที่ผักชีถูกปนเปื้อนด้วยเชื้อ *K . pneumoniae* ใน 2 ระดับ คือ สภาพที่ปริมาณเชื้อปนเปื้อนที่พบโดยทั่วไป (4 log CFU/ml) และสภาพที่มีปริมาณเชื้อปนเปื้อนสูง (6 log CFU/ml) นอกจากนี้แล้วเนื่องจากผักชีจะเกิดการเหี่ยวเฉาที่รวดเร็ว ดังนั้นในการศึกษาจึงเลือกสภาพที่มีการปรับและไม่ปรับความชื้นในระหว่างการรมไอด้วย

3.7.1 สร้างการปนเปื้อนเซลล์ *K. pneumoniae* ในผักชี

ในการสร้างการปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีอาศัยวิธีการที่ดัดแปลงจาก ภัทราวดี ศรีปัญญา (2552) ดังมีรายละเอียดดังนี้

3.7.1.2 คัดเลือกผักชีที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ล้างผักชีด้วยน้ำปลอดเชื้อ ครั้งละ 5 นาที โดยทำการล้าง 2 ครั้ง จากนั้นสะบัดน้ำเบา ๆ ผึ่งให้แห้งบนตะแกรงในตู้ laminar flow เป็นเวลา 30 นาที

3.7.1.3 จุ่มแช่ผักชีในถุงพลาสติกที่มีในถุงพลาสติกที่มีสารละลายเชื้อ *K. pneumoniae* (ที่มีปริมาณเริ่มต้น 5 และ 7 log CFU/g) เป็นเวลา 2 นาที สะบัดน้ำเบา ๆ จากนั้นผึ่งให้แห้งบนตะแกรงในตู้ laminar flow เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง 10 นาทีหรือจนกว่าจะไม่เห็นหยดน้ำติดที่ผัก จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้เชื้อ *K . pneumoniae* ติดที่ผัก 4 และ 6 log CFU/g ตามลำดับ เพื่อเป็นตัวแทนเชื้อระดับที่พบทั่วไปตามธรรมชาติและในระดับสูง ตามลำดับ

3.7.1.4 ตรวจนับปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* เช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 โดยเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ล้างด้วยตัวอย่างควบคุมที่ล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อ

3.7.2 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้น

3.7.2.1 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้น

ทำการเตรียมผักชี ตามข้อ 3.7.1.2 วางผักชีในกล่องที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำส้ม สายชูหมักที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ โดยเพิ่มระยะเวลาขึ้นเป็น 1 2 3 และ 4 ชั่วโมงตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ laminar flow 5 นาที นำไปตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเชื้อเหลือรอดเช่นเดียวกับข้อ 3.7.1.4 โดยดูดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิเมตร ลงบน MCIC เกลี่ยเชื้อด้วย Spread plate technique บ่มที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ตรวจนับปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* โดยนับเฉพาะโคโลนีที่เป็นลักษณะของเชื้อ *K. pneumoniae* จากอาหาร MCIC โดยเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่สร้างการปนเปื้อนแต่ไม่ได้รมไอเป็นตัวอย่างควบคุม เพื่อทราบถึงระยะเวลาที่ทำให้ *K. pneumoniae* ในผักชีลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.7.2.2 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวเอธานอลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้น

ทำการทดลองในลักษณะเดียวกับข้อ 3.7.1.1 แต่รมไออิ่มตัวเอทานอล 95 เปอร์เซนต์

3.7.2.3 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวสารร่วมต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้น

ทำการทดลองในลักษณะเดียวกับข้อ 3.7.1.1 แต่รมไออิ่มตัวสารทั้งสองชนิดโดยใช้วิธีการรมที่เหมาะสม (จากข้อ 3.6.3) โดยรมสารแต่ละชนิดในระยะเวลาที่เหมาะสมจากผลข้อ 3.6.1 และ 3.6.2

3.7.3 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีปรับความชื้น

ทำลักษณะเดียวกับข้อ 3.7.2 แต่การเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 1.5 ลิตรไว้ที่ก้นกล่องรมเพื่อเพิ่มความชื้นในกล่องรม

3.7.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วม ต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีปรับและไม่ปรับความชื้น

3.7.5 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของผักชีหลังการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมในผักชีโดยวิธีปรับและไม่ปรับความชื้นต่อความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้

3.8 ศึกษาโครงสร้างผักชีต่อการปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมโดยวิธีปรับความชื้น ภายหลังการเก็บรักษา

3.8.1 โครงสร้างของผักชีต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae*

ศึกษาโครงสร้างของผักชีที่มีผลต่อการปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (SEM) โดยศึกษาโครงสร้างของใบผักชีตามธรรมชาติที่มีผลต่อการเกาะติดของเชื้อ *K. pneumoniae* และการเกาะติดของเชื้อหลังการล้างด้วยน้ำเปล่า 1 ครั้ง

3.8.2 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมโดยวิธีปรับความชื้น ภายหลังการเก็บรักษา

ศึกษาลักษณะทางกายภาพของผักชี ได้แก่ การเน่าเสีย สี กลิ่น ความสดและลักษณะทั่วไป ในรูปคะแนน (ดัดแปลงจาก ภัทราวดี ศรีปัญญา, 2552) หลังผ่านการรมไอที่อุณหภูมิห้อง บรรจุผักชีในถุงพลาสติกโพลีโพพิลีนใส ขนาด 5x14 นิ้ว ไม่เจาะรูและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 3 5 7 ตามลำดับ ระดับคะแนนของกลิ่นแบ่งเป็นหลังรมไอทันทีและผ่านการล้างหลังการรมไอ ทั้งนี้เปรียบเทียบกับผักชีควบคุมที่ผ่านการล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อแต่ไม่ผ่านการรมไอและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.9 การออกแบบแผนการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

ทำการออกแบบแผนการทดลองแบบ Complete Ramdomized Design (CRD) ในระดับห้องปฏิบัติการ ขณะที่ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Ramdomized Block Design (RCBD) ในการศึกษาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวเอธานอลบนผักชี ส่วนแผนการทดลองแบบ Factorials in RCBD สำหรับการทดสอบปัจจัยในการรมไออิ่มตัวของสารร่วมในระดับห้องปฏิบัติการและในผักชี นำผลการทดสอบที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS Version11.5 จากนั้นนำค่าเฉลี่ยมาทำการเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ผลการสำรวจยืนยันการปนเปื้อนของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* และ Faecal coliform ในผักชี

ในการสำรวจยืนยันข้อมูลของการปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae* รวมทั้งแบคทีเรียในกลุ่ม Coliform และ Faecal coliform บนผักชี โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างผักชีที่จำหน่ายอยู่ในเขตมีนบุรีและลาดกระบัง จำนวน 30 ตัวอย่าง ทำการทดสอบด้วยวิธี presumptive coliform ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Brillient Green Bile (BGB) และทดสอบวิธี presumtive feacal coliform ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว EC broth ในระดับการเจือจางที่ 10^{-2} 10^{-3} และ 10^{-4} พบว่า จำนวนตัวอย่างผักชีที่มีโคลิฟอร์มเกิน 11,000 MPN/g มีจำนวนถึง 22 ตัวอย่าง และในจำนวนนี้เป็น Faecal coliform ที่มีปริมาณมากกว่า 11,000 MPN/g ถึง 16 ตัวอย่าง

เมื่อนำเชื้อจากระดับการเจือจางสุดท้ายของอาหารเลี้ยงเชื้อ BGB และ EC broth ไป streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey Agar (MCA) หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จึงนำโคโลนีลักษณะต่างๆ ที่พบไปทดสอบทางชีวเคมี โคลีฟอร์มที่ได้จากวิธี presumptive coliform และ presumtive feacal coliform เฉลี่ยพบว่าเป็นเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), (93.3 เปอร์เซนต์) *Pseudomonas* spp. (43.3 เปอร์เซนต์) และ *Citrobacter freundii* (23.3 เปอร์เซนต์) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 แต่เชื้อ *Pseudomonas* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบทั่วไปในผักและสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ แต่ไม่ใช่กลุ่ม Coliform เนื่องจากไม่สามารถหมักน้ำตาลและสร้างแก๊ส (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) ส่วนเชื้อ *C. freundii* เป็นโคลิฟอร์มที่พบไม่สูงมาก จากการทดสอบทั้ง 2 วิธีชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียกลุ่ม Coliform ที่พบมากที่สุดในผักชี คือ เชื้อ *K. pneumoniae* ซึ่งเป็น Faecal coliform สำหรับเชื้อ *K. pneumoniae* ดังกล่าวนี้ได้ทำการยืนยันผลการทดสอบด้วยชุดทดสอบ Rapid ID 32 E สำหรับกลุ่ม Enterobacteriaceae (BioMerieux, France) ที่มีการจำแนกเชื้อโดยใช้โปรแกรมซอฟแวร์ประมวลผล ซึ่งระบุว่าเป็น *K. pneumoniae* ssp. pneumoniae ที่ความเชื่อมั่น 96.7 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 4.1 สายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบมากเป็น 3 อันดับแรกในผักชีจำนวน 30 ตัวอย่าง

แบคทีเรีย	จำนวนตัวอย่างที่พบจากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว		ปริมาณแบคทีเรียที่ตรวจพบในตัวอย่าง (เปอร์เซนต์)	การทดสอบยืนยัน
	BGB*	EC**		
Klebsiella pneumoniae	28/30	28/30	93.3	API rapid ID 32 E
Pseudomonas spp.	15/30	11/30	43.3	Catalase/ Oxidase test
Citrobacter freundii	8/30	6/30	23.3	API rapid ID 32 E

*BGB = Brillient Green Bile broth ; **EC = EC broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการหาปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) และ MacConkey Agar (MCA) พบมีจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักชีเท่ากับ 6.56-7.95 CFU/g โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.27 (±0.03) log CFU/g โดยพบว่าเป็นเชื้อ *K. Pneumoniae* เท่ากับ 3.00-6.02 log CFU/g (คิดเป็น 43.4-84.0 เปอร์เซนต์ของจุลินทรีย์ทั้งหมด) หรือคิดเป็นค่าเฉลี่ย 4.52 (±0.69) log CFU/g (ซึ่งคิดเป็น 62.2 เปอร์เซนต์ของแบคทีเรียทั้งหมด) สอดคล้องกับงานวิจัยของ รัชพล พรรษา และ สราวุธ มณี (2549) รายงานว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักชีเท่ากับ 7.6 log CFU/g และ ภัทราวดี ศรีปัญญา และ บุษกร ทองใบ (2553) ที่ตรวจพบ Coliform 5.74 log CFU/g รวมถึงยังสอดคล้องกับรายงานของ Wright และคณะ (1976) Soriano และคณะ(2000, 2001) และ Rajvanshi (2010) ที่รายงานว่า ผักโดยทั่วไปจะตรวจพบเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ถึงเกือบ 50 เปอร์เซนต์ของผัก รวมทั้งปริมาณที่ตรวจพบประมาณ 10^3 CFU/g

จากการนับโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MCIC (MacConkey Agar supplemented with inositol and carbinicillin) พบว่า สามารถตรวจพบเชื้อ *K. pneumoniae* เฉลี่ย 4 log CFU/g ในผักชี โดยเมื่อแยกส่วนต่าง ๆ ของผักชีออกเป็น ใบ ก้านและราก ยังพบว่าเชื้อ *K. pneumoniae* ที่พบในแต่ละส่วนมีปริมาณ 4.28 4.80 และ 4.84 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* ที่พบจะผันแปรตามฤดูกาลด้วย โดยปกติมักจะมีการตรวจพบในปริมาณสูงในช่วงฤดูฝน (Golberg และคณะ, 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าการแช่หรือล้างผักชีทำให้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อ *K. pneumoniae* ลดลงได้เพียงปริมาณหนึ่งเท่านั้น

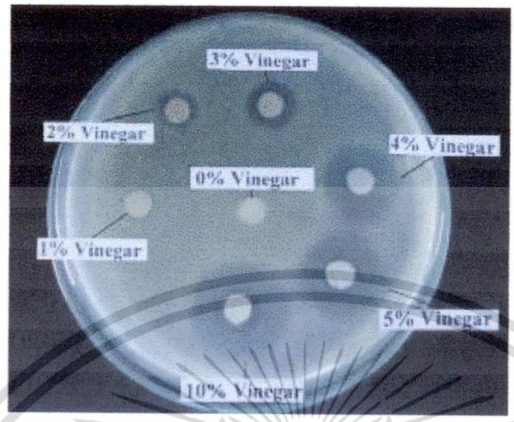
4.2 ผลของน้ำส้มสายชูหมักหรือเอธานอลต่อการการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ

4.2.1 ผลของความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักที่เหมาะสมต่อการการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยอ้อมด้วยการกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Indirect Impact by agar overlay disc diffusion method)

หลักการที่ใช้ในการศึกษานี้อาศัยการแพร่ของกรดอะซิติกที่มีอยู่ในน้ำส้มสายชูหมักที่เติมลงบนกระดาษกรองที่วางไว้บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ที่มีปริมาณของสารละลายเชื้อเริ่มต้นเฉลี่ย 7.7 log CFU/ml โดยศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูหมักที่ระดับความเข้มข้นกรดอะซิติก 7 ระดับ คือ 0 1 2 3 4 5 และ 10 เปอร์เซนต์ (v/v) อาศัยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (inhibition zone) เพื่อบ่งบอกถึงความสามารถของระดับของความเข้มของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมักที่สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ในระดับสูงสุด ทั้งนี้ผลการยับยั้งแสดงดังภาพที่ 4.1 พบว่าน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติกต่ำ 0 และ 1 เปอร์เซนต์ (v/v) ไม่เกิดโซนยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* แต่เมื่อทดสอบด้วยน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติกตั้งแต่ 2 ถึง 5 เปอร์เซนต์ (v/v) และ 10 เปอร์เซนต์ (v/v) พบโซนยับยั้งที่มีความกว้างเพิ่มขึ้นตามลำดับจนถึงน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติกสูงสุด โดยระดับความเข้มข้น 2 3 4 5 และ 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ทำให้เกิดโซนยับยั้งที่มีขนาดความกว้าง 9.33 11.68 14.23 17.61 และ 21.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางกระดาษกรอง 6.00 มิลลิเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งผลการเกิดโซนยับยั้งระดับความเข้มข้นกรดอะซิติกตั้งแต่ 2 ถึง 5% (v/v) และ 10 เปอร์เซนต์ (v/v) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.1 ขนาดโซนยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ด้วยน้ำส้มสายชูหมักที่ระดับความเข้มข้นกรดอะซิติกต่างๆ (เปอร์เซนต์ v/v) เมื่อทำการทดสอบโดยวิธี Agar Overlay Disc Diffusion

ตารางที่ 4.2 แสดงถึงค่าเฉลี่ยของโซนยับยั้ง (inhibition zone) ของเชื้อ *K. pneumoniae* เนื่องจากกรดอะซิติกที่มีในน้ำส้มสายชูหมักที่ใช้ พบว่า น้ำส้มสายชูหมักระดับความเข้มข้นกรดอะซิติกที่สูงสุด 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ซึ่งเป็นความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักตั้งต้นให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ คือ 21.22 มิลลิเมตร ในขณะที่น้ำส้มสายชูหมักระดับความเข้มข้นกรดอะซิติก 1 เปอร์เซนต์ (v/v) ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ซึ่งผลการยับยั้งที่ได้นี้แตกต่างจากกรณีของเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ที่ศึกษาโดย Yeesibsan and Krusong (2009) ทั้งนี้อาจเนื่องจากความแข็งแรงของผนังเซลล์ของเชื้อ *K. pneumoniae* มากกว่าเชื้อ *S.* Enteritidis อย่างไรก็ตามน้ำส้มสายชูหมักระดับความเข้มข้นกรดอะซิติก 5 เปอร์เซนต์ (v/v) สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* (โซนยับยั้งเท่ากับ 17.61 มิลลิเมตร) ได้ใกล้เคียงกับเชื้อ *S.* Enteritidis (โซนยับยั้งเท่ากับ 17.71 มิลลิเมตร) ซึ่งรายงานของ Yeesibsan and Krusong (2009) ดังกล่าว

เนื่องจากที่ความเข้มเข้มข้นกรดอะซิติก 2 เปอร์เซนต์ (v/v) ส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* โดยอ้อมด้วยการกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อตามที่ระบุในวิธีนี้ จัดเป็นผลการศึกษาเบื้องต้น อีกทั้งผลการยับยั้งที่ระดับความเข้มเข้มข้นกรดกรดอะซิติกเท่ากับ 1 2 และ 3 เปอร์เซนต์ (v/v) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ประกอบกับค่า pH ของน้ำส้มสายชูในช่วงความเข้นข้นดังกล่าวอยู่ในช่วง 3-4 ซึ่งแสดงว่ากระอะซิติกยังไม่ได้อยู่ในสภาพที่แตกตัว ดังนั้นเพื่อให้การศึกษาถึงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ของน้ำส้มสายชูหมักที่ระดับความเข้มข้นกรดอะซิติกที่เหมาะสม จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมักที่ใช้อย่างละเอียดในช่วง 1-3 เปอร์เซนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(v/v) ในระดับหลอดทดลองอีกครั้ง เพื่อยืนยันถึงสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ต่อไป

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยของขนาดโซนยับยั้ง (inhibition zone) ของเชื้อ *K. pneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA และค่า pH ของน้ำส้มสายชูหมักที่มีระดับความเข้มข้นกรดอะซิติกต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมัก (เปอร์เซนต์)	ค่า pH	ขนาดโซนยับยั้ง* (มิลลิเมตร)
0	6.9	$6.00^{f} \pm 0.00$
1	4.0	$6.00^{f} \pm 0.00$
2	3.6	$9.33^{e} \pm 0.39$
3	3.4	$11.68^{d} \pm 0.24$
4	2.8	$14.23^{c} \pm 0.52$
5	2.7	$17.61^{b} \pm 0.38$
10	2.5	$21.22^{a} \pm 0.92$

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของขนาดโซนยับยั้งที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

4.2.2 ผลของความเข้มข้นของเอธานอลที่เหมาะสมต่อการการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยอ้อมด้วยการกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Indirect impact by agar overlay disc diffusion method)

เช่นเดียวกับในการศึกษาของผลของน้ำส้มสายชูหมักตามที่ระบุในหัวข้อ 4.2.1 ในการศึกษาในหัวข้อนี้จะใช้หลักการแพร่ของเอธานอลที่เติมลงบนกระดาษกรองซึ่งวางไว้บนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA แต่จากการศึกษาหลาย ๆ ครั้ง พบว่า เอธานอลเป็นสารที่ระเหยได้เร็วและง่าย ดังนั้นจึงไม่ปรากฏโซนยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในทุกระดับความเข้มข้นของเอธานอลที่ใช้ในการศึกษา จึงสรุปได้ว่าวิธีการนี้ไม่เหมาะสมต่อการหาความเข้มข้นของเอทานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae*

4.2.3 ผลของความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักต่อการการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยตรงในหลอดทดลอง (Direct impact by *in vitro* test tube method)

ผลของการถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.26 log CFU/ml ในอาหาร TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติกตั้งแต่ 1-3 เปอร์เซนต์ (v/v) (จากผลการศึกษาข้อ 4.2.1) โดยเพิ่มความเข้มข้นของกรดอะซิติกระดับละ 0.1 เปอร์เซนต์ (v/v) กำหนดให้ระยะเวลาในการสัมผัสเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยตรง (direct contact) นาน 10 นาที ผลการทดลองที่ได้แสดงในตารางที่ 4.3 พบว่า การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างไรก็ตามผลการทดลองที่ได้ยังยืนยันว่าที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์ ยังไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้เช่นเดียวกับที่พบในข้อ 4.2.1

ตารางที่ 4.3 ค่า pH จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สัมผัสกับน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติกตั้งแต่ 1.0-3.0 เปอร์เซนต์ (v/v) โดยตรงเป็นเวลา 10 นาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส)

ความเข้มข้นของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมัก (เปอร์เซนต์)	pH	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/ml)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0.0	7.25	$6.26^{a} \pm 0.02$	0.0
1.0	4.03	$6.22^{a} \pm 0.05$	0.7
1.1	3.96	$6.20^{a} \pm 0.04$	0.9
1.2	3.93	$6.18^{ab} \pm 0.04$	1.4
1.3	3.89	$6.14^{ab} \pm 0.09$	1.9
1.4	3.86	$6.10^{ab} \pm 0.10$	2.6
1.5	3.82	$6.07^{ab} \pm 0.09$	3.0
1.6	3.80	$6.02^{ab} \pm 0.16$	3.8
1.7	3.77	$6.01^{ab} \pm 0.17$	4.1
1.8	3.74	$5.94^{ab} \pm 0.22$	5.1
1.9	3.71	$5.84^{b} \pm 0.16$	6.8
2.0	3.69	$5.23^{c} \pm 0.43$	16.4
2.1	3.67	$4.58^{d} \pm 0.20$	26.9
2.2	3.64	$2.86^{e} \pm 0.02$	54.4
2.3	3.61	$0.33^{f} \pm 0.58$	94.7
2.4	3.59	ND^{f}	100.0
2.5	3.57	ND^{f}	100.0
2.6	3.56	ND^{f}	100.0
2.7	3.54	ND^{f}	100.0
2.8	3.51	ND^{f}	100.0
2.9	3.50	ND^{f}	100.0
3.0	3.49	ND^{f}	100.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.3 ยังพบว่า เมื่อความเข้มข้นกรดอะซิติกสูงขึ้น 2 เปอร์เซนต์ (v/v) สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ถึง 1 log cycle (16.4 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) ในขณะที่เมื่อความเข้มข้นกรดอะซิติกสูงถึง 2.2 เปอร์เซนต์ (v/v) ทำให้เชื้อลดลงอย่างฉับพลันเหลือ 2.86 log CFU/ml (54.4 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) และที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 2.4 เปอร์เซนต์ (v/v) ขึ้นไปสามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Yu และ Saddler (1982) ที่รายงานว่ากรดอะซิติกจะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* เมื่อมีความเข้มข้นกรดอะซิติกมากกว่า 1 เปอร์เซนต์ (v/v) และสอดคล้องกับรายงานของสร้อยสุดา พรภักดีวัฒนาและคณะ (2549) ที่รายงานว่าน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 2.0 เปอร์เซนต์ สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ซึ่งอยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae ได้ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์มเช่นเดียวกับเชื้อ *K. pneumoniae*

ในกรณีที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติกเพิ่มมากขึ้น ย่อมมีผลทำให้ค่า pH ลดลงและพบว่าทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *K. pneumoniae* สูงขึ้น (ดังแสดงในตารางที่ 4.3) ซึ่งสามารถระบุได้ว่าในสภาพที่อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB มีค่า pH ที่ต่ำกว่า 3.59 สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์

เนื่องจากกรดอะซิติกเป็นกรดอินทรีย์หรือกรดอ่อนที่แตกตัวได้ไม่หมด ผลการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของกรดอะซิติกจึงขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์ของกรดที่ไม่แตกตัว (undissociated form) เมื่อความเข้มข้นกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นจะมีปริมาณกรดที่ไม่แตกตัวสูงขึ้น (Adams และ Hall, 1988) ซึ่งกรดอะซิติกที่ไม่แตกตัวนี้เป็นปัจจัยหลักในการทำลายเชื้อ *K. pneumoniae* โดยโมเลกุลของกรดอะซิติกที่ไม่แตกตัวสามารถละลายในไขมัน (lipophilic Layer) ที่อยู่ในชั้นผนังเซลล์ แล้วเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เข้าไปในเซลล์แล้วแตกตัวเป็นประจุลบและประจุบวก ในขณะที่กรดในรูปที่แตกตัวจะไม่สามารถผ่านไปได้ (Mills และคณะ, 2009 ; Roe และคณะ, 1998 ; Garbutt, 1997) อนึ่งประจุลบมีบทบาทในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ค่า pH ภายในเซลล์ลดลง ส่งผลต่อการเมทาบอลิซึมทำให้การทำงานของเอนไซม์และโปรตีน รวมทั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอผิด ปกติและเกิดแรงดัน ยิ่งภายนอกเซลล์มีค่า pH ต่ำมากเท่าใดยิ่งทำให้เซลล์ทำงานหนักในการใช้พลังงานขับไล่ประจุออกจากเซลล์ ถ้าค่า pH ในเซลล์ลดลงถึงจุด ๆ หนึ่ง การเจริญของจุลินทรีย์จะช้าลงและเกิดการยับยั้งกลไกการทำงานของเซลล์ และถ้าเซลล์ซ่อมแซมให้กลับสู่สภาพเดิมไม่ได้จะทำให้เซลล์ถูกทำลายในที่สุด (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545 ; Mills และคณะ, 2009 ; Roe และคณะ, 1998 ; Garbutt, 1997) ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของกรดสูงขึ้นทำให้ปริมาณของกรดที่ไม่แตกตัวเพิ่มขึ้นส่งผลให้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น

4.2.4 ความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักต่อการการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* โดยตรงในหลอดทดลอง (Direct impact by *in vitro* test tube method)

ผลของการถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ที่มีปริมาณเริ่มต้น 6.24 log CFU/ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมเอธานอลความเข้มข้น 10-20 เปอร์เซนต์ (v/v) โดยเพิ่มความเข้มข้นละ 1เปอร์เซนต์ (v/v) โดยกำหนดให้เชื้อ *K. pneumoniae* สัมผัสโดยตรง (direct contact) กับเอธานอล เป็นเวลา 10 นาที แสดงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 พบว่า เชื้อ *K. pneumoniae* ถูกยับยั้งลงเรื่อย ๆ เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น โดยที่เอธานอลที่ระดับความข้มข้น 10-11 เปอร์เซนต์ (v/v) สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ลงได้ 1 log cycle (ประมาณ 16 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) ในขณะที่เอทานอลความเข้มข้น 16 เปอร์เซนต์ (v/v) ทำให้เชื้อ *K. pneumoniae* ลดลงเหลือ 3.11 log CFU/ml (50.2 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) ส่วนเอทานอลความเข้มข้น 17 เปอร์เซนต์ (v/v) ทำให้เชื้อ *K. pneumoniae* ลดลงอย่างฉับพลันเหลือ 0.20 log CFU/ml (96.8 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) และที่เอทานอลความเข้มข้น 18 เปอร์เซนต์ (v/v) ขึ้นไปให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) อนึ่งผลการทดลองที่ได้นี้แตกต่างรายงานของ Yu และ Saddler (1982) ที่สรุปว่าเอธานอลที่ความเข้มข้นมากกว่า 1 % (w/v) จะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* 45 เปอร์เซนต์ หลังการเจริญ 24 ชั่วโมงเมื่อเลี้ยงในสารอาหารแม้ว่าจะมีน้ำตาลสูงก็ตาม

ตารางที่ 4.4 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การรอดและการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สัมผัสเอธานอลความเข้มข้นตั้งแต่ 10-20 เปอร์เซนต์ (v/v) เป็นเวลา 10 นาที ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส)

ความเข้มข้นแอลกอฮอล์ (เปอร์เซนต์)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/ml)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0	$6.24^{a} \pm 0.17$	0.0
10	$5.28^{b} \pm 0.10$	15.4
11	$5.27^{b} \pm 0.10$	15.6
12	$5.15^{b} \pm 0.14$	17.4
13	$5.02^{b} \pm 0.13$	19.6
14	$4.72^{b} \pm 0.22$	24.3
15	$3.97^{c} \pm 0.86$	36.3
16	$3.11^{d} \pm 0.31$	50.2
17	$0.20^{e} \pm 0.35$	96.8
18	ND^{e}	100.0
19	ND^{e}	100.0
20	ND^{e}	100.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามปกติแล้วเอทานอลมีสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากเป็นสารที่ทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนส่งผลให้โปรตีนเสียสภาพ เมื่อเอธานอลแตกตัวเข้าไปในชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์จะก่อให้เกิดการแยกตัวออกจากน้ำเพิ่มมากขึ้นและยังคงติดอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการต้านการซึมผ่านของน้ำเข้าสู่เยื่อหุ้มซลล์ (Corcuff และคณะ, 1995) ทำให้เกิดการเสียน้ำของเซลล์ (dehydration effect) ซึ่งส่งผลต่อการรอดของจุลินทรีย์ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2538) และความเข้มข้นของเอธานอลที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *K. pneumoniae* สูงขึ้นด้วย

4.3 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของการรมไอน้ำส้มสายชูหมักหรือไอเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ

4.3.1 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการศึกษาการรมไอน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* นี้ได้เลือก ใช้ปริมาณของเชื้อ *K. pneumoniae* เริ่มต้นที่ 4.10 log CFU/ml เนื่องจากเป็นปริมาณที่มักพบปนเปื้อนในผัก นอกจากนี้ในการรมไอยังมุ่งเน้นที่ไอที่อิ่มตัวในอุปกรณ์ที่ใช้ในการรมไอเพื่อให้มั่นใจว่าไอของสารที่ใช้ในการศึกษาอยู่ในสภาพที่จะส่งผลกระทบต่อเชื้อ *K. pneumoniae* จริงๆ สำหรับการศึกษาการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ *K. pneumoniae* นั้นพบว่า ในบรรยากาศในอุปกรณ์รมไอมีความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์เมื่อวัดด้วยเครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์แบบดิจิตัล สำหรับผลการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* แสดงในตารางที่ 4.5 ซึ่งพบว่าในระยะเวลาการรมไอต่าง ๆตั้งแต่ 0 10 20 30 40 และ 50 นาที นั้น ยิ่งเชื้อ *K. pneumoniae* บนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อสัมผัสไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักนานขึ้นประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* จะเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยการรมไออิ่มตัวเป็นระยะเวลา 20 นาทีขึ้นไปจะเริ่มมีผลต่อการยับยั้งเชื้อเพิ่มมากขึ้น การรมไออิ่มตัวเป็นระยะเวลา 40 นาทีทำให้เชื้อลดลงเหลือ 2.71 log CFU/ml (34 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) และการรมไออิ่มตัวเป็นระยะเวลา 50 นาทีเป็นต้นไปให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง)

4.3.2 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวเอธานอลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษาระยะเวลาการรมไออิ่มตัวเอทานอลจากจานเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของเชื้อ *K. pneumoniae* เริ่มต้น 4.04 log CFU/ml ในบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์ ณ อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยใช้ระยะเวลาสัมผัสไอ 0 5 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ พบว่า ยิ่งสัมผัสไออิ่มตัวเอธานอลนานเท่าใดประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* จะเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยการรมไออิ่มตัวเอธานอลเป็นระยะเวลา 10 นาที ทำให้เชื้อ *K. pneumoniae* ลดลงเหลือ 3.44 log CFU/ml (11 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) และการรมไออิ่มตัวเอธานอลเป็นระยะเวลา 15 นาที เป็นต้นไปให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) และความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์

ระยะเวลารมไอ (นาที)	จำนวนเซลล์รอดชีวิต* (log CFU/ml)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0	$4.10^{a} \pm 0.04$	0.0
10	$3.96^{a} \pm 0.11$	3.3
20	$3.70^{b} \pm 0.09$	9.6
30	$3.00^{c} \pm 0.15$	26.9
40	$2.71^{d} \pm 0.20$	34.0
50	ND^{e}	100.0
60	ND^{e}	100.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 4.6 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในการรมไออิ่มตัวเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) และความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์

ระยะเวลารมไอ (นาที)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/ml)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0	$4.04^{a} \pm 0.02$	0.0
5	$3.87^{b} \pm 0.03$	4.3
10	$3.44^{c} \pm 0.15$	11.0
15	ND^{d}	100.0
20	ND^{d}	100.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อสังเกตุโคโลนีที่พบในจานเพาะเชื้อเมื่อรมไออิ่มตัวเอธานอลนาน 5 นาที พบว่า โคโลนีมีขนาดเล็กลงมากเมื่อเปรียบเทียบกับจานเพาะเชื้อควบคุมที่ไม่ผ่านการรมไออิ่มตัวเอธานอล ทั้งนี้อาจเนื่องจากในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นต่ำจะทำให้แบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างเป็นท่อนจะเปลี่ยนรูปร่างซึ่งส่งผลให้ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนแปลงไปด้วย (Goffau และ Yang, 2009)

4.3.3 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวสารร่วม (น้ำส้มสายชูหมักและเอธานอล) ต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการรมไออิ่มตัวสารร่วมแบบพร้อมกันนั้น อาศัยการปล่อยไอจากน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไอจากเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ เข้าไปในอุปกรณ์รมไอจนเกิดสภาวะอิ่มตัวซึ่งทำให้มีความชื้นสัมพัทธ์ 63-64 เปอร์เซนต์ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) ทั้งนี้ปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* เริ่มต้นบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.08 log CFU/ml ควบคุมการรมไอเป็นระยะเวลา 0 5 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ สำหรับผลของการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* แสดงในตารางที่ 4.7 พบว่า การรมไออิ่มตัวเป็นระยะเวลา 5 นาทีไม่ส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ($P \geq 0.05$) ขณะที่การสัมผัสไออิ่มตัวเป็นระยะเวลา 10 นาที เริ่มส่งผลต่อการยับยั้งโดยทำให้เชื้อ *K. pneumoniae* ลดลงเหลือ 3.65 log CFU/ml (10.6 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) เมื่อเพิ่มระยะเวลาการรมไออิ่มตัวเป็นระยะเวลา 15 นาที เป็นต้นไปให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) เนื่องจากเอธานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ดีกว่าน้ำส้มสายชูหมัก (จากผลการทดลองข้อ 4.3.1 และข้อ 4.3.2) ประกอบกับระยะเวลาที่ใช้ในการสัมผัสไออิ่มตัวของอาหารเชื้อค่อนข้างสั้น ดังนั้นการรมไออิ่มตัวของสารร่วมวิธีนี้ให้ผลไม่แตกต่างกับการรมไออิ่มตัวเอธานอลเพียงอย่างเดียว จึงไม่นำไปประยุกต์ใช้กับการรมผักชีในขั้นตอนต่อไป

ในการศึกษาผลของการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ด้วยการรมไออิ่มตัวของสารร่วมแบบตามลำดับได้แบ่งออกเป็น 2 วิธี ประกอบด้วย (1) วิธีการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก (ความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์) ตามด้วยไออิ่มตัวของเอธานอล (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์) และ (2) วิธีการรมไออิ่มตัวของเอธานอลตามด้วยไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ทั้งนี้กำหนดให้ระยะเวลาของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเท่ากับ 20 30 40 และ 50 นาที และไออิ่มตัวเอธานอลเท่ากับ 5 10 และ 15 นาที เมื่อนำจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติจากแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD (4×3) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.8 พบว่าไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักมีผลร่วมต่อการยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* และลำดับในการรมไออิ่มตัวของสารร่วมดังกล่าวก่อนหรือหลังไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) และการรมไอ อิ่มตัวของสารร่วมโดยการใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 40 นาทีร่วมกับการรมไออิ่มตัวเอธานอลเป็นเวลา 10 นาที ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* จากจำนวนเชื้อตั้งต้น 4.03 log CFU/ml ได้อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 จำนวนเซลล์รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ด้วยการรมไอของสารร่วมแบบพร้อมกันระหว่างไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) ความชื้นสัมพัทธ์ 63-64 เปอร์เซนต์

ระยะเวลาในการรมไอ (นาที)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/ml)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0	$4.08^{a} \pm 0.09$	0.0
5	$4.01^{a} \pm 0.12$	1.6
10	$3.65^{b} \pm 0.13$	10.6
15	ND^{c}	100.0
20	ND^{c}	100.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากผลในตารางที่ 4.8 แสดงว่า การรมไออิ่มตัวของสารร่วมแบบตามลำดับ โดยการใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 40 นาทีร่วมกับการรมไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 10 นาที มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์เช่นเดียวกับการใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 50 นาที และการใช้ไออิ่มตัวเอธานอลเป็นเวลา 15 นาที

การรมไออิ่มตัวสารร่วมโดยการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 40 นาทีร่วมกับการรมไออิ่มตัวเอธานอล 10 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญและมีข้อได้เปรียบกว่าการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักหรือเอธานอลในประเด็นของการลดค่าใช้จ่าย เนื่องจากเอธานอลมีต้นทุนที่สูงกว่า ระเหยหมดไปง่ายกว่า และการสัมผัสไออิ่มตัวของสารชนิดเดียวเป็นระยะเวลานานอาจมีผลกระทบกับโครงสร้างผักชีได้ ดังนั้นวิธีการรมไออิ่มตัวสารร่วมดังกล่าวจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถนำไปใช้ศึกษาต่อในการรมผักชีขั้นต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 จำนวนเซลล์รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. Pneumoniae* ด้วยไออิ่มตัวสารร่วมแบบลำดับของไออิ่มตัวน้ำสมสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส)

ระยะเวลารมไอ (นาที)		จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/ml)		จำนวนเซลล์เฉลี่ยที่รอดชีวิต* (log CFU/ml)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
สาร V	สาร E	ลำดับ A	ลำดับ B		
0	0	$4.03^{ns} \pm 0.03$	$4.04^{ns} \pm 0.10$	$4.04^{a} \pm 0.02$	0.0
20	5	$3.44^{ns} \pm 0.12$	$3.53^{ns} \pm 0.05$	$3.49^{b} \pm 0.10$	13.6
	10	$3.31^{ns} \pm 0.12$	$3.33^{ns} \pm 0.05$	$3.32^{c} \pm 0.84$	17.8
	15	ND	ND	ND^{f}	100.0
30	5	$3.15^{ns} \pm 0.08$	$3.21^{ns} \pm 0.17$	$3.18^{d} \pm 0.12$	21.3
	10	$2.52^{ns} \pm 0.09$	$2.61^{ns} \pm 0.10$	$2.57^{e} \pm 0.10$	36.4
	15	ND	ND	ND	100.0
40	5	$2.70^{ns} \pm 0.09$	$2.55^{ns} \pm 0.11$	$2.63^{e} \pm 0.12$	34.9
	10	ND	ND	ND^{f}	100.0
	15	ND	ND	ND^{f}	100.0
50	5	ND	ND	ND^{f}	100.0
	10	ND	ND	ND^{f}	100.0
	15	ND	ND	ND^{f}	100.0

V หมายถึง ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v)

E หมายถึง ไออิ่มตัวของเอทานอล 95 เปอร์เซนต์

A หมายถึง การรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักตามด้วยไออิ่มตัวเอธานอล

B หมายถึง การรมไออิ่มตัวเอธานอลตามด้วยไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ^{ns} ที่ระบุตามแนวนอน หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.4 การศึกษาและเปรียบเทียบผลของการรมไอน้ำส้มสายชูหมักหรือไอเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับผักชี

4.4.1 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.1 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้น

ขั้นตอนแรกของการศึกษา คือ การถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ลงในผักชี โดยเลือกทำการศึกษาในปริมาณเชื้อ 2 ระดับ คือ ระดับทั่วไป (4.44 log CFU/g) และระดับสูง (6.17 log CFU/g)

จากผลการศึกษาที่แสดงในตารางที่ 4.9 พบว่า ในกรณีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไปลงบนผักชี เมื่อนำไปผ่านการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้ 19.7, 42.8, 47.2 และ 92.2% ตามลำดับ การรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ประมาณ 1 log CFU/g ในขณะที่เมื่อรมไออิ่มตัวที่เวลา 2 และ 3 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเซลล์ได้ประมาณ 2 log CFU/g โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ส่วนการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำให้เชื้อ *K. pneumoniae* เหลือรอดเพียง 0.33 log CFU/ml ซึ่งคิดเป็น 92.2 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง

สำหรับกรณีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับสูงลงบนผักชี เมื่อนำมาผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ 6.7 17 23.7 และ 27% ตามลำดับ การรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ประมาณ 1 log CFU/g ส่วนการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้ 23.7 และ 27% ตามลำดับโดยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) แต่สูงกว่าผลการยับยั้งที่ 2 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

จากผลการศึกษาที่ได้ช่วยยืนยันว่า ยิ่งการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักบนผักชีเป็นระยะเวลานานขึ้น ก็ยิ่งส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้มากขึ้นด้วย การรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักโดยวิธีที่ไม่ปรับความชื้นในระหว่างการรมไอนี้ สามารถใช้ได้ผลดีในกรณีที่ผักชีมีการปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae* อยู่ในระดับทั่วไป

4.4.1.2 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวเอธานอลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้น

เมื่อนำผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไป (4.56 log CFU/g) ไปผ่านการรมไออิ่มตัวของเอธานอล พบว่า เมื่อรมไออิ่มตัวของเอทานอลเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้ 30.3 47.4 100 และ 100 เปอร์เซนต์ตามลำดับ การรมไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้มากกว่า 1 log CFU/g อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่การรมไอที่เวลา 2 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเซลล์ได้ประมาณ 2 log CFU/g ส่วนการรมไอเป็นเวลา 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ทั้งนี้ดังแสดงในตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไปและระดับสูงที่สัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์)

ระยะเวลารมไอ (ชั่วโมง)	การปนเปื้อนระดับทั่วไป		การปนเปื้อนระดับสูง	
	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0	$4.44^{a} \pm 0.22$	0.0	$6.17^{A} \pm 0.12$	0.0
1	$3.46^{b} \pm 0.33$	19.7	$5.81^{B} \pm 0.08$	6.7
2	$2.68^{c} \pm 0.12$	42.8	$5.08^{C} \pm 0.11$	17.0
3	$2.37^{c} \pm 0.25$	47.2	$4.62^{D} \pm 0.11$	23.7
4	$0.33^{d} \pm 0.58$	92.2	$4.56^{D} \pm 0.17$	27.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

ในกรณีผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับสูง (6.40 log CFU/g) พบว่า เมื่อรมไออิ่มตัวเอธานอลเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ 21 43.6 49.3 และ 53% ตามลำดับ ทั้งนี้การรมไออิ่มตัวของเอธานอล 1 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้มากกว่า 1 log CFU/g เล็กน้อย ในขณะที่เมื่อรมไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 2 และ 3 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเซลล์ได้ประมาณ 3 log CFU/g โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ส่วนการรมไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญถึง 53.0 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง ดังผลที่แสดงในตารางที่ 4.10

จากตารางที่ 4.10 สามารถสรุปได้ว่า การรมไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นระยะเวลานาน จะส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามการรมไออิ่มตัวของเอทานอลบนผักชีในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นในระหว่างการรมไอนี้จะมีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพถ้าผักชีนั้นมีการปนเปื้อนอยู่ในระดับทั่วไปหรือต่ำกว่า ผลที่ได้นี้มีลักษณะเช่นเดียวกับผลการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก นอกจากนี้แล้วจะสังเกตได้ว่าถ้าผักชีมีเชื้อ *K. pneumoniae* ปนเปื้อนในระดับทั่วไป เราสามารถใช้การรมด้วยไออิ่มตัวเอธานอลเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในการยับยั้งเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไปและระดับสูงที่สัมผัสไออิ่มตัวของเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์)

ระยะเวลาสัมผัสไอ (ชั่วโมง)	การปนเปื้อนระดับทั่วไป		การปนเปื้อนระดับสูง	
	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)	จำนวนเซลล์ที่ รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0	$4.56^{a} \pm 0.22$	0.0	$6.40^{A} \pm 0.36$	0.0
1	$3.15^{b} \pm 0.15$	30.3	$5.19^{B} \pm 0.09$	21.0
2	$2.47^{c} \pm 0.21$	47.4	$3.58^{C} \pm 0.38$	43.6
3	ND^{d}	100.0	$3.34^{C} \pm 0.11$	49.3
4	ND^{d}	100.0	$2.83^{D} \pm 0.26$	53.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

4.4.1.3 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวสารร่วมต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้น

จากผลการทดลองในข้อ 4.4.1.1 และ ข้อ 4.4.1.2 พบว่า ระยะเวลาที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* สูงสุดของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและเอธานอลเท่ากับ 4 และ 3 ชั่วโมงตามลำดับ ดังนั้นในการศึกษาระยะเวลาในการรมไออิ่มตัวของสารร่วมทั้งสองจึงคำนึงระยะเวลาสูงสุดของไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเกณฑ์ซึ่งหมายความว่าผลรวมของเวลาในการรมไออิ่มตัวของสารร่วมทั้งสองควรไม่เกิน 3-4 ชั่วโมง

เมื่อทำการรมผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไป (4.38 log CFU/g) ด้วยไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 0.5 1 และ1.5 ชั่วโมง ร่วมกับไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 0.5 1 และ 1.5 ชั่วโมง ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นและใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD (3×3) พบว่าการใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวของเอธานอลอย่างละ 0.5 ชั่วโมงให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* 27.9 เปอร์เซนต์ ในขณะที่การใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวของเอทานอลอย่างละ 1 ชั่วโมง ให้ผลในการยับยั้งสูงถึง 87 เปอร์เซนต์ อนึ่งการใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 0.5 ชั่วโมงร่วมกับไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง (คิดเป็นเวลารวมเท่ากับ 2 ชั่วโมง) และการใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมงร่วมกับไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง (คิดเป็นเวลารวมเท่ากับ 2.5 ชั่วโมง) ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* อย่างสมบูรณ์ (100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) ดังผลที่แสดงในตารางที่ 4.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ถ่ายเชื้อในระดับทั่วไปที่สัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวของ เอทานอล 95 เปอร์เซนต์ ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น

ระยะเวลาสัมผัสไอ (ชั่วโมง)		จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
น้ำส้มสายชูหมัก	เอทานอล		
0	0	$4.38^{a} \pm 0.22$	0.0
0.5	0.5	$3.16^{b} \pm 0.09$	27.9
	1	$2.00^{c} \pm 0.30$	54.3
	1.5	ND^{d}	100.0
1	0.5	$1.90^{c} \pm 0.17$	56.6
	1	$0.57^{d} \pm 0.98$	87.0
	1.5	ND^{d}	100.0
1.5	0.5	$1.80^{c} \pm 0.17$	58.9
	1	ND^{d}	100.0
	1.5	ND^{d}	100.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

สำหรับผลของการรมไอผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับสูง (6.24 log CFU/g) ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นโดยใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 0.5 1 1.5 และ 2 ชั่วโมง ร่วมกับไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 0.5 1 1.5 และ 2 ชั่วโมง และใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD (4×4) พบว่า การใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวของเอธานอลอย่างละ 0.5 ชั่วโมงให้ผลในการยับยั้งเชื้อ 28 เปอร์เซนต์ เช่นเดียวกับในผักชีที่มีการถ่ายเชื้อในระดับทั่วไป การใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวของเอธานอลอย่างละ 2 ชั่วโมงให้ผลดีที่สุดในการรมไออิ่มตัวสารร่วมให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* (81.9 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีปรับความชื้น

วิธีปรับความชื้นในระหว่างการรมไออาศัยการเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 1.5 ลิตรไว้ที่ก้นอุปกรณ์รมไอเพื่อเพิ่มความชื้นในอุปกรณ์รมไอ

4.4.2.1 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีปรับความชื้น

เมื่อนำผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไป (4.74 log CFU/g) ไปผ่านการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก พบว่า เมื่อรมไอเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ 20.9 30.5 35.6 และ 47.3 เปอร์เซนต์ตามลำดับ การรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ประมาณ 1 log CFU/g ในขณะที่การรมไอเป็นเวลา 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเซลล์ได้ประมาณ 2 log CFU/g ดังแสดงในตารางที่ 4.13 ระยะเวลา 1 ชั่วโมงที่ผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไปสัมผัสกับไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักให้ผลในการยับยั้งที่ไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่ปรับความชื้น (19.7 เปอร์ เซนต์; ตารางที่ 4.9) แต่เมื่อระยะเวลาสัมผัสไออิ่มตัวเพิ่มขึ้นเป็น 2 3 หรือ 4 ชั่วโมง จะพบความแตกต่างของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* โดยพบว่าวิธีการที่ปรับความชื้นในระหว่างการรมไอมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำกว่าในวิธีการที่ไม่ปรับความชื้น กล่าวคือ จาก 30.5 35.6 และ 47.3 เปอร์เซนต์ของการยับยั้งของวิธีการที่ปรับความชื้น (ตารางที่ 4.13) เป็น 42.8 47.2 และ 92.2 เปอร์เซนต์ของการยับยั้งของวิธีการที่ไม่ปรับความชื้น (ตารางที่ 4.9) ตามลำดับ

ในกรณีของผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับสูง (6.43 log CFU/g) พบว่าเมื่อรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ 7.9 13.5 25.0 และ 25.5 เปอร์เซนต์ตามลำดับ การรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 2 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้เกือบ 1 log CFU/g ขณะที่การรมไอที่เวลา 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเซลล์ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) โดยมีเชื้อ *K. pneumoniae* ที่รอดชีวิตอยู่ถึง 4.98 และ 4.71 log CFU/g ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.13 นอกจากนี้เมื่อ เปรียบเทียบกับวิธีการไม่ปรับความชื้น (ตารางที่ 4.9) พบว่า วิธีการปรับความชื้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ใกล้เคียงกับวิธีไม่ปรับความชื้น กล่าวคือ จาก 7.9 13.5 25.0 และ 25.5 เปอร์เซนต์ของการยับยั้งของวิธีการที่ปรับความชื้น (ตารางที่ 4.13) เป็น 6.7, 17, 23.7 และ 27 เปอร์เซนต์ของการยับยั้งของวิธีการที่ไม่ปรับความชื้น (ตารางที่ 4.9) ซึ่งแตกต่างจากผลของผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ระดับทั่วไป

จากผลการศึกษาที่ได้รับสามารถสังเกตได้ว่า การรมไอผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไปด้วยไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักในสภาพที่ปรับความชื้นในระหว่างการรมจะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งได้สูงกว่าการรมไอบนผักชีที่มีการถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับสูงเช่นเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีที่ถ่ายเชื้อในระดับสูงที่สัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวของ เอธานอล 95 เปอร์เซนต์ ในระยะเวลาต่างๆ ที่ ทอุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น

ระยะเวลารมไอ (ชั่วโมง)		จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
น้ำส้มสายชูหมัก	เอทานอล		
0.0	0.0	$6.24^{a} \pm 0.24$	0.0
0.5	0.5	$4.49^{b} \pm 0.14$	28.0
	1.0	$3.42^{def} \pm 0.20$	45.2
	1.5	$2.98^{fg} \pm 0.11$	52.2
	2.0	$2.06^{hi} \pm 0.10$	67.0
1.0	0.5	$4.28^{bc} \pm 0.34$	31.4
	1.0	$3.21^{ef} \pm 0.03$	48.6
	1.5	$2.53^{gh} \pm 0.10$	59.5
	2.0	$1.83^{i} \pm 0.16$	70.7
1.5	0.5	$3.39^{cd} \pm 0.23$	45.7
	1.0	$2.96^{fg} \pm 0.13$	52.6
	1.5	$2.44^{gh} \pm 0.19$	60.9
	2.0	$1.70^{i} \pm 0.00$	72.8
2.0	0.5	$3.58^{de} \pm 0.14$	42.6
	1.0	$2.89^{fg} \pm 0.38$	53.7
	1.5	$2.23^{hi} \pm 0.21$	64.3
	2.0	$1.13^{j} \pm 0.98$	81.9

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 จำนวนเซลล์รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* (KP) ในผักชีที่รมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีปรับความชื้น (83 เปอร์เซนต์)

ระยะเวลารมไอ (ชั่วโมง)	การปนเปื้อนเชื้อ KP ระดับทั่วไป		การปนเปื้อนเชื้อ KP ระดับสูง	
	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0	$4.74^{a} \pm 0.06$	0.0	$6.43^{A} \pm 0.14$	0.0
1	$3.75^{b} \pm 0.13$	20.9	$5.82^{B} \pm 0.30$	7.9
2	$3.29^{c} \pm 0.16$	30.5	$5.58^{B} \pm 0.24$	13.5
3	$3.05^{d} \pm 0.09$	35.6	$4.98^{C} \pm 0.16$	25.0
4	$2.50^{e} \pm 0.17$	47.3	$4.71^{C} \pm 0.05$	25.5

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

กับที่พบในผลการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักด้วยวิธีไม่ปรับความชื้น การปรับความชื้นในการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักจากเดิม 77 เปอร์เซนต์ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้น เป็น 83 เปอร์เซนต์ในสภาพที่ปรับความชื้น

4.4.2.2 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวเอธานอลต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีปรับความชื้น

เมื่อนำผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไป (4.54 log CFU/g) มาผ่านการรมไออิ่มตัวของเอธานอลในสภาพที่ปรับความชื้น พบว่า เมื่อรมไออิ่มตัวเอธานอลเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้ 20.5 34.2 38.2 และ 48.2 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.14 เมื่อนำผลที่ได้เปรียบเทียบกับผลที่ได้สภาพที่ไม่ปรับความชื้น พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ต่ำลง กล่าวคือ จาก 20.5 34.2 38.2 และ 48.2 เปอร์เซนต์ของการยับยั้งของวิธีการที่ปรับความชื้น (ตารางที่ 4.14) เป็น 30.3 47.4, 100 และ 100 เปอร์เซนต์ของการยับยั้งของวิธีการที่ไม่ปรับความชื้น (ตารางที่ 4.10) อย่างไรก็ตามวิธีการรมไออิ่มตัวของเอธานอลในสภาพที่ปรับความชื้นนี้ให้ผลการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ใกล้เคียงกับการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักในวิธีเดียวกัน (20.9, 30.5, 35.6 และ 47.3 เปอร์เซนต์ของการยับยั้งตามที่แสดงในตารางที่ 4.13) ผลที่ได้เช่นนี้แสดงว่าความชื้นอาจเป็นปัจจัยที่สำคัญในการอยู่รอดของเซลล์ของเชื้อ *K. pneumoniae* มากกว่าปัจจัยชนิดของไอสาร ณ สภาวะการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับกรณีของผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับสูง (6.43 log CFU/g) ก่อนที่จะนำไปผ่านการรมไออิ่มตัวของเอธานอลในสภาพที่ปรับความชื้น พบว่า เมื่อรมไออิ่มตัวเอธานอลเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง สามารถยับยั้งเชื้อได้ 17.0 18.1 20.0 และ 21.6 เปอร์เซนต์ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) ดังผลที่แสดงในตารางที่ 4.14 แสดงว่า การรมไออิ่มตัวเอธานอลโดยวิธีปรับความชื้นในผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ระดับสูงนี้มีผลในการยับยั้งเชื้อที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีไม่ปรับความชื้น (21, 43.6, 49.3 และ 53 เปอร์เซนต์ของการยับยั้งตามที่แสดงในตารางที่ 4.13)

การรมไออิ่มตัวเอธานอลในสภาพที่ปรับความชื้นในระหว่างรมไอผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับทั่วไปให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งได้สูงกว่าการรมไอบนผักชีที่ถ่ายเชื้อในระดับสูงซึ่งเป็นผลการศึกษาเช่นเดียวกับที่พบในการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักในสภาพที่ปรับความชื้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการปรับความชื้นในการรมไอเอทานอลจากเดิม 37 เปอร์เซนต์ (ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้น) เปลี่ยนเป็น 83 เปอร์เซนต์ (ในสภาพที่ปรับความชื้น) ความชื้นที่เพิ่มขึ้นส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อลดลงเช่นเดียวกับในกรณีของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก

ตารางที่ 14.14 จำนวนเซลล์รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* (KP) ในผักชีที่รมไออิ่มตัวของเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีปรับความชื้น (83 เปอร์เซนต์)

ระยะเวลารมไอ (ชั่วโมง)	การปนเปื้อนเชื้อ KP ระดับทั่วไป		การปนเปื้อนเชื้อ KP ระดับสูง	
	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต* (log CFU/g)	การยับยั้ง (เปอร์เซนต์)
0	$4.54^{a} \pm 0.34$	0.0	$6.46^{A} \pm 0.46$	0.0
1	$3.54^{b} \pm 0.33$	20.5	$5.36^{B} \pm 0.06$	17.0
2	$2.99^{bc} \pm 0.35$	34.2	$5.29^{B} \pm 0.19$	18.1
3	$2.90^{c} \pm 0.09$	38.2	$5.22^{B} \pm 0.34$	20.0
4	$2.37^{c} \pm 0.59$	48.2	$5.06^{B} \pm 0.12$	21.6

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตที่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

4.4.1.3 ระยะเวลาการรมไออิ่มตัวสารร่วมต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีปรับความชื้น

เมื่อนำผักชีที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* มาผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) และไออิ่มตัวของเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ อย่างละ 0.5 ชั่วโมง พบว่า ในปริมาณเชื้อ *K. pneumoniae* บนผักชีที่ถ่ายเชื้อระดับทั่วไปและระดับสูงมีปริมาณเท่ากับ 4.38 (±0.02) และ 6.16 (±0.03) log CFU/g ตามลำดับ ภายหลังจากรมไออิ่มตัวของสารร่วมตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาพที่กำหนดมีเชื้อเหลือรอด 3.50 (±0.11) และ 4.50 (±0.11) log CFU/g ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* คิดเป็น 20.2 เปอร์เซนต์ และ 27.0 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ อนึ่งวิธีปรับความชื้นระหว่างการรมไอผักชีให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ใกล้เคียงกับวิธีไม่ปรับความชื้น (27.9 และ 28 เปอร์เซนต์ของการยับยั้ง ตามลำดับ)

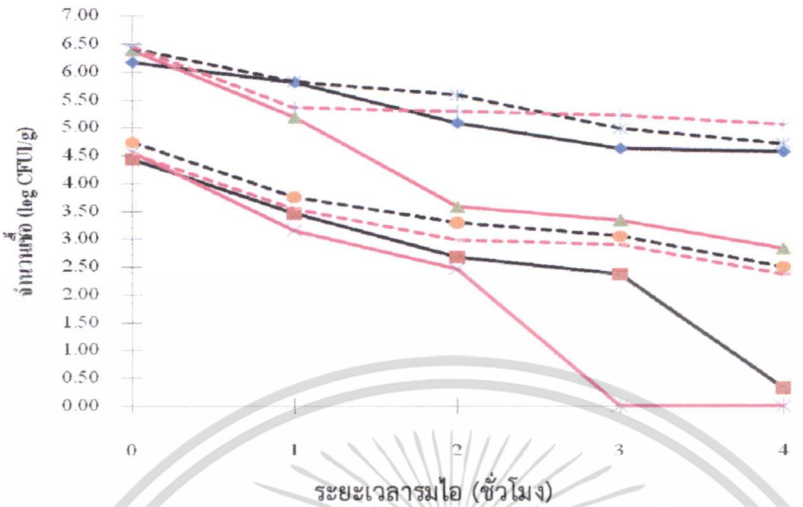
4.4.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วม ต่อการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในผักชีโดยวิธีปรับและไม่ปรับความชื้น

จากผลการทดลองที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าผลการยับยั้งจากการศึกษาที่มีการถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* บนผักชี ทั้งระดับทั่วไป (4 log CFU/g) และระดับสูง (6 log CFU/g) ให้ผลในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารทั้งสองชนิดในการรมไอ พบว่า การรมไออิ่มตัวของเอธานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ดีกว่าการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก และวิธีการปรับเพิ่มความชื้นในระหว่างการรมไออิ่มตัวของสารทั้งสองชนิดทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K.pneumoniae* ลดลง ดังสรุปแสดงในภาพที่ 4.2

ตามปกติแล้วความชื้นเป็นปัจจัยหนึ่งสำคัญที่มีความสำคัญผลต่อการอยู่รอด การเจริญ รูปร่าง การสร้างสปอร์ การสร้างไบโอฟิล์มและการต้านสารปฏิชีวนะของเซลล์จุลินทรีย์ (Goffau และ Yang, 2009) ไอของสารที่อิ่มตัวปริมาตรหนึ่งในบรรยากาศปิด (อยู่ในอุปกรณ์รมไอที่ปิดสนิท) ซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ (30±1 องศาเซลเซียส) จะมีค่าความชื้นสัมพัทธ์คงที่ค่าหนึ่ง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าความชื้นสัมพัทธ์ในระหว่างการรมไอจึงจำเป็นต้องควบคุมที่อุณหภูมิที่ทดลองนั้น นอก จากนี้แล้วแบคทีเรียแกรมลบโดยทั่วไปเจริญจะได้ดีในช่วงความชื้นสัมพัทธ์ 85-95% (Goffau และ Yang, 2009) จึงเป็นไปได้ว่าวิธีปรับเพิ่มความชื้นในการรมไออิ่มตัวของสารทั้งสองชนิดที่ทำการ ศึกษากลับเอื้อให้เชื้อ *K. pneumoniae* เจริญได้ดีขึ้น จึงทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ในระหว่างการรมไออิ่มตัวลดลง อีกทั้งอาจเนื่องจากความเข้มข้นของสารในสถานะไอถูกเจือจางลงด้วยไอน้ำที่เพิ่มขึ้นในบรรยากาศอีกด้วย

ในสภาพของการปรับความชื้นในระบบที่ทำการศึกษานั้น อาศัยการเติมน้ำปลอดเชื้อที่ก้นอุปกรณ์รมไอ จึงทำให้ระบบการรมไอนั้นมีความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้นเป็น 83 เปอร์เซนต์ เท่ากันในทั้ง3 สภาพการรมไอที่ทำการศึกษา อนึ่งจากผลการศึกษา พบว่า การรมไออิ่มตัวของเอธานอลในสภาพที่ปรับความชื้นให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ลดลงจากสภาพที่ไม่ปรับความชื้นอย่างมาก ในขณะที่การรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักในสภาพที่ปรับความชื้นทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งลดลงจากเดิมเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากความต่างของความชื้นสัมพัทธ์ระหว่างวิธีการปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 83 เปอร์เซนต์) และไม่ปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์) ทำให้ไออิ่มตัวเอธานอลถูกแทนที่ด้วยไอน้ำมากกว่าในไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักซึ่งเปลี่ยนจากความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์ เป็น 83 เปอร์เซนต์ เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 เปรียบเทียบจำนวนเชื้อ *K. pneumoniae* ที่รอดชีวิตจากการยับยั้งด้วยการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมบนผักชีในสภาพที่ปรับและไม่ปรับความชื้นระหว่างการรมไอ; เส้นกราฟสีดำ หมายถึง การรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก; สีชมพู หมายถึง การรมไออิ่มตัวเอธานอล; เส้นทึบ หมายถึง การรมโดยวิธีไม่ปรับความชื้น; เส้นประ หมายถึง การรมโดยวิธีปรับความชื้น

4.4.4 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของผักชีหลังการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมในผักชีโดยวิธีปรับและไม่ปรับความชื้นต่อความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้

ลักษณะทางกายภาพของผักชีหลังผ่านการรมไอจัดเป็นประเด็นสำคัญต่อการประยุกต์ ใช้การรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอล หรือ การรมไอของสารร่วมกับผักชี เนื่องจากถ้าลักษระปรากฏของผักชีเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมากจะส่งผลกระทบต่อการยอมรับของผู้บริโภค

4.4.4.1 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของผักชีหลังการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมในผักชีโดยวิธีไม่ปรับความชื้นต่อความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้

ในกรณีของผักชีที่ผ่านการสัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้น ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ 77 เปอร์เซนต์ พบว่าผักชีเริ่มเป็นสีเหลืองและอ่อนนิ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 ของการสัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก และลักษณะปรากฏดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการสัมผัสไอที่เพิ่มขึ้นดังแสดงในภาพที่ 4.3 (ก) ทั้งนี้อาจเนื่องจากไอกรดอะซิติกในน้ำส้ม สายชูหมักไปมีผลกับคลอโรฟิลล์และโครงสร้างของผักชี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการสัมผัสไออิ่มตัวของเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้น ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ 37 เปอร์เซนต์ พบว่า ผักชีสูญเสียความสดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 ของการสัมผัสไออิ่มตัวของเอธานอล และการสูญเสียดังกล่าวจะเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการสัมผัสไอที่นานขึ้นทั้งนี้ดังภาพที่ 4.3 (ข) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Suzuki และคณะ (2004) ที่รายงานถึงการเกิดกลิ่นที่ผิดปกติ ความอ่อนนิ่ม และสีเขียวที่เข้มขึ้นในบล็อคโคลี่หลังการเก็บรักษาด้วยผงเอทานอล 6 กรัม และ 12 กรัม ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เพราะเอธานอลมีผลทำให้ประจุของโพแทสเซี่ยมผ่านได้มากขึ้น ทำให้ปากใบเปิด (Satler และ Thimann, 1980) สิ่งนี้อาจเป็นเหตุผลให้ผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของเอธานอลมีลักษณะทางกายภาพของใบที่แห้งกรอบเนื่องจากการสูญเสียน้ำทางใบ รวมทั้งกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์อาจเกิดจากเอทานอลและอะซิทอลดีไฮด์ (acetaldehyde) ที่สะสมในปริมาณสูงในเนื้อเยื่อพืช (Suzuki และคณะ, 2004) สำหรับ สีเขียวที่เข้มขึ้นอาจเนื่องจากสารระเหยหรือประจุสารบางอย่างที่เกิดจากการระเหยของเอธานอลช่วยชะลอการสูญเสียคลอโรฟิลล์และอัตราการหายใจ (Corcuff และคณะ, 1996)

(ก) ผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักในสภาพที่ไม่ได้ปรับความชื้น

(ข) ผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของเอธานอลในสภาพที่ไม่ได้ปรับความชื้น

ภาพที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพของผักชีหลังการรมในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นในช่วงเวลาต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส): (ก) ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) (ความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์); (ข) ไออิ่มตัวของเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทางกายภาพของผักชีภายหลังผ่านการสัมผัสไออิ่มตัวของสารร่วม (ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและเอธานอล) ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้น พบว่า ลักษณะทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไอของสารทั้งสองแล้วเช่นเดียวกับการรมด้วยไออิ่มตัวเอธานอลเพียงชนิดเดียว และการเปลี่ยนแปลงจะเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการสัมผัสไอที่นานขึ้นดังแสดงในตารางที่ 4.15 เนื่องจากไออิ่มตัวเอทานอลส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพที่รุนแรงกว่า

การรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอทานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นส่งผลต่อลักษณะปรากฏในผักชีอย่างรุนแรงทั้งสี กลิ่น ความอ่อนนิ่ม เหี่ยวเฉาที่ไม่พึงปรารถนา เนื่องจากความเข้มข้นของไอสารในบรรยากาศค่อนข้างสูงจึงส่งผลต่อโครงสร้างผักได้มาก นอกจากนี้ผักชีเป็นผักที่ต้องการความชื้นสูง แต่ไอของสารทั้งสองชนิดทำให้ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศลดลง ผักชีเกิดการสูญเสียความชื้นจึงเหี่ยวเฉาง่าย การปรับปรุงเรื่องการเพิ่มความชื้นในขณะรมไออิ่มตัวจึงเป็นสิ่งถูกนำมาพิจารณาเพื่อปรับปรุงความเสียหายที่เกิดขึ้น

ตารางที่ 4.15 สรุปลักษณะปรากฏของผักชีหลังจากการสัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอทานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมในระยะเวลารวมต่างๆที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีไม่ปรับความชื้น

ระยะเวลารมไอ (ชั่วโมง)	ไออิ่มตัว น้ำส้มสายชูหมัก	ไออิ่มตัว เอทานอล	ไออิ่มตัว สารร่วม
0	++++	++++	++++
1	+++	++	++
2	++	++	++
3	+	+	+
4	+	+	+

++++ คือ ผักไม่เหี่ยว ใบและก้านเขียวสด; +++ คือ ผักเหี่ยวเล็กน้อย สีของใบและก้านเริ่มเปลี่ยนบ้าง คิดเป็นประมาณ 20 เปอร์เซนต์ของทั้งหมด; ++ คือ ผักเหี่ยว สีของใบและก้านเปลี่ยนคิดเป็นประมาณ 60 เปอร์เซนต์ของทั้งหมด; + คือ ผักเหี่ยว สีของใบและก้านเปลี่ยน คิดเป็นประมาณ 100 เปอร์เซนต์ของทั้งหมด

4.4.4.2 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของผักชีหลังการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมักไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมในผักชีโดยวิธีปรับความชื้นต่อความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้

ลักษณะทางกายภาพของผักชีหลังผ่านการสัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v) โดยวิธีปรับความชื้นซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศเพิ่มขึ้นจาก 77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซนต์ เป็น 83 เปอร์เซนต์ พบว่า สีเหลืองและความอ่อนนุ่มของผักชีเริ่มปรากฏให้เห็นช้าในช่วงชั่วโมงที่ 2 (บางส่วน) ของการสัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 3 และ 4 ตามระยะเวลาการสัมผัสไอที่นานขึ้นดังแสดงในภาพที่ 4.4 (ก) แสดงว่าการรมไออิ่มตัวของน้ำสายชูหมักเป็นเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง โดยวิธีปรับความชื้นอาจสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการรมต่อไปได้ ลักษณะทางกายภาพของผักชีภายหลังผ่านการสัมผัสไออิ่มตัวเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) ในสภาพปรับความชื้นระหว่างการรมไอทำให้มีความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศเพิ่ม ขึ้นจาก 37 เปอร์เซนต์ เป็น 83 เปอร์เซนต์ พบว่า สีเขียวและความแห้งเหี่ยวของผักชียังคงปรากฏให้เห็นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 ของการสัมผัสไออิ่มตัวเอธานอล และเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการสัมผัสไอนานขึ้นดังแสดงภาพที่ 4.4 (ข) แต่น้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับการรมไออิ่มตัวเอธานอลในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นระหว่างการรมไอ (ภาพที่ 4.3 ข) แสดงว่าระยะเวลา 1 ชั่วโมงอาจนานเกินไปต่อการรมไออิ่มตัวของเอธานอลโดยวิธีปรับความชื้นในแง่ของลักษณะทางกายภาพ ดังนั้นจึงลดเวลาให้เหลือ 0.5 ชั่วโมงในการประยุกต์ใช้ต่อไป

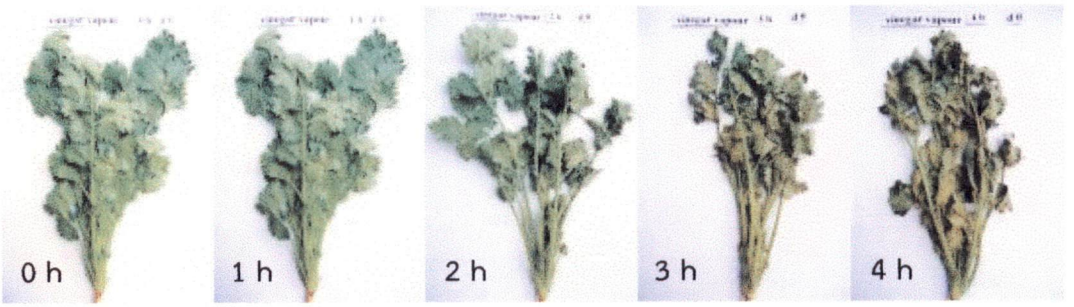
สำหรับผลการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวของเอธานอลต่อลักษณะปรากฏของผักชีภายหลังการรมไอ ถูกนำมาพิจารณาในขั้นตอนการรมไออิ่มตัวของสารร่วมทั้งสองชนิด ให้เป็นการรมไออิ่มตัวของสารอย่างละ 0.5 ชั่วโมงเพียงกรณีเดียว ซึ่งผลที่ได้แสดงในภาพที่ 4.4 (ค) สำหรับตารางที่ 4.16 เป็นสรุปลักษณะปรากฏของผักชีหลังการสัมผัสไออิ่มตัวในสภาพที่มีการปรับความชื้น

ตารางที่ 4.16 สรุปลักษณะปรากฏของผักชีหลังการสัมผัสไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอลและไออิ่มตัวสารร่วมในระยะเวลารวมต่างๆ ณ อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีปรับความชื้น

ระยะเวลารมไอ (ชั่วโมง)	ไออิ่มตัว น้ำส้มสายชูหมัก	ไออิ่มตัว เอทานอล	ไออิ่มตัว สารร่วม
0	++++	++++	++++
0.5	++++	+++	++++
1	++++	++	++++
2	+++	+	++
3	++	+	+
4	+	+	+

++++ คือ ผักไม่เหี่ยว ใบและก้านเขียวสด; +++ คือ ผักเหี่ยวเล็กน้อย สีของใบและก้านเริ่มเปลี่ยนบ้าง คิดเป็นประมาณ 20 เปอร์เซนต์ของทั้งหมด; ++ คือ ผักเหี่ยว สีของใบและก้านเปลี่ยนคิดเป็นประมาณ 60 เปอร์เซนต์ของทั้งหมด; + คือ ผักเหี่ยว สีของใบและก้านเปลี่ยน คิดเป็นประมาณ 100 เปอร์เซนต์ของทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) ผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักในสภาพที่ปรับความชื้น

(ข) ผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของเอธานอลในสภาพที่ปรับความชื้น

(ค) ผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของสารร่วมในสภาพที่ปรับความชื้น

ภาพที่ 4.4 ลักษณะทางกายภาพของผักชีภายหลังการรม: (ก) ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (v/v): (ข)ไออิ่มตัวของเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ (v/v) เป็นเวลา 0 1 2 3 และ 4 ชั่วโมงตามลำดับจากซ้ายไปขวา; (ค)ไออิ่มตัวของสารร่วมอย่างละ 0.5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (30±1 องศาเซลเซียส) โดยวิธีปรับความชื้น (83 เปอร์เซนต์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอทานอลหรือไออิ่มตัวของสารร่วมโดยวิธีปรับความชื้น ทำให้ความรุนแรงทางกายภาพที่ปรากฏกับผักชีลดลง การรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1 ชั่วโมงให้ผลต่อลักษณะทางกายภาพที่ดีที่สุดของการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ขณะที่ผลการรมไออิ่มตัวของเอธานอลเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชี้ให้เห็นถึงลักษณะทางกายภาพที่ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป ดังนั้นจึงได้ทำการลดระยะเวลาการรมไออิ่มตัวเหลือเพียง 0.5 ชั่วโมง ของแต่ละสารซึ่งให้ผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพของผักชีน้อยที่สุด อีกทั้งยังกล่าวได้ว่าวิธีปรับความชื้นของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักมีความเหมาะสมที่จะนำ ไปประยุกต์ใช้มากกว่าการรมไออิ่มตัวของเอธานอล เนื่องจากยังรักษาสภาพทางกายภาพไว้ได้ในชั่วโมงต้นๆของการรมไอ

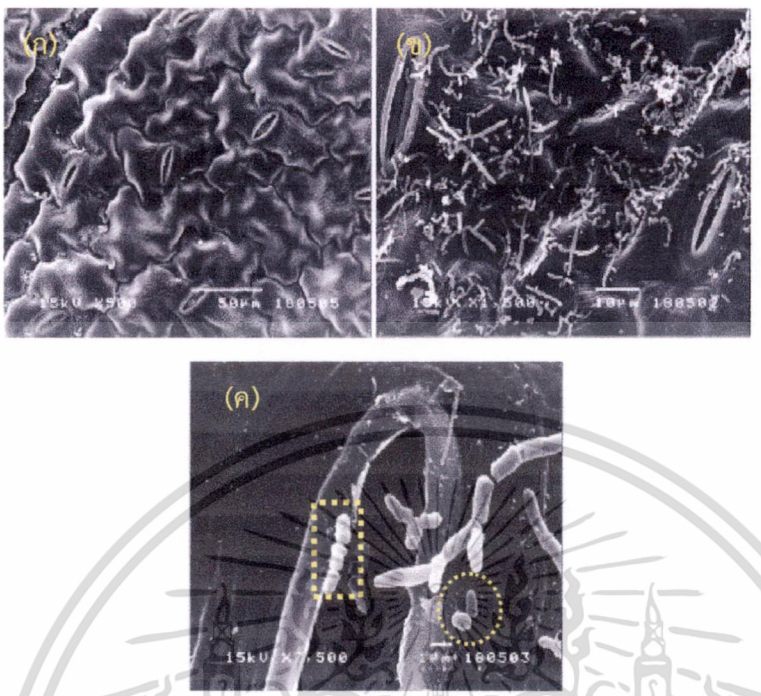
4.5 ศึกษาโครงสร้างผักชีต่อการปนเปื้อนเชื้อ *K. pneumoniae* และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวเอธานอลและไออิ่มตัวของสารร่วมโดยวิธีปรับความชื้น ภายหลังการเก็บรักษา

4.5.1 โครงสร้างของผักชีต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae*

ผลการศึกษาโครงสร้างของใบผักชีที่มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae* ตามธรรมชาติด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (SEM) พบว่า ใบผักชีมีปากใบและร่องอยู่ระหว่างปากใบเป็นจำนวนมากดังแสดงในภาพที่ 4.5 (ก) ซึ่งมีผลต่อการเกาะติดของเชื้อ *K. pneumoniae* เมื่อใช้กำลังขยายเพิ่มขึ้นเป็น 1,500 เท่า สามารถพบว่าผักชีมีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์หลากหลายชนิด หากมีปริมาณมากจะยากต่อการกำจัดให้หมดได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการเกาะติดของเชื้อไม่ได้มีมากบริเวณปากใบ แต่กลับพบมากบริเวณร่องหยักของใบรวมถึงเส้นใบ ดังแสดงในภาพที่ 4.5 (ข) สำหรับภาพที่ 4.5 (ค) แสดงถึงเซลล์ของ *K. pneumoniae* ที่เกาะอยู่บริเวณปากใบ (กรอบสี่เหลี่ยมและกรอบวงกลม)

จากภาพที่ 4.5 สังเกตได้ว่าบริเวณที่เชื้อ *K. pneumoniae* ยึดเกาะกับผักชี ได้แก่ บริเวณพื้นผิวใบโดยเฉพาะบริเวณปากใบ เนื่องจากสามารถป้องกันเชื้อ *K. pneumoniae* ให้หลุดออกจากการล้างหรือถูกทำลายด้วยสารฆ่าเชื้อ (Golberg และคณะ, 2011) อนึ่ง Golberg และคณะ (2011) ได้รายงานจากการศึกษาถึงภาพถ่าย SEM ของเชื้อ *S.* Typhimurium ที่ย้อมติดสารเรืองแสงในใบสมุนไพรต่างๆ 7 ชนิด พบว่า ใบคื่นไช่ย (parsley) ซึ่งเป็นสมุนไพรในตระกูลเดียวกับผักชีมีปากใบขนาดเล็กกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปากใบ Arugula (ตระกูลเดียวกับพวกผักสลัด) และกระเพรา กลุ่มเชื้อจะเกาะที่ผิวใบเกือบทั้งหมด และพบได้น้อยที่ชั้นภายใน (1.9 ± 3.3 เปอร์เซนต์) ซึ่งต่างจากใบ Arugula และกระเพราที่พบการเกาะติดเชื้อ *S.* Typhimurium ในระดับสูง และปานกลาง ตามลำดับ ถึงแม้ว่าเชื้อ *S.* Typhimurium จะมีแฟลกเจลล่าซึ่งใช้ในการเคลื่อนที่ โดยอธิบายว่าอาจเกี่ยวข้องกับการถูกยับยั้งการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย และ/หรือ การเคลื่อนที่เข้าหาหรือออกจากสารเคมี (chemotaxis) ต่อปากใบ จากข้อมูลนี้อาจกล่าวได้ว่าเชื้อ *K. pneumoniae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไม่มีแฟลกเจลล่าเกาะอยู่ที่บริเวณผิวใบเป็นส่วนใหญ่ อาจไม่สามารถเข้าไปยังชั้นผิวภายในของผักชีได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 โครงสร้างของใบผักชีและการเกาะติดของเชื้อ *K. pneumoniae* บนใบผักชีเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน (JSM-5410LV/JEOL/ Japan/SEM): (ก) ปากใบและร่องใบของผักชี (กำลังขยาย 500x); (ข) จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนที่ผักชี (กำลังขยาย 1,500x); (ค) การเกาะติดของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่บริเวณปากใบของผักชี (กำลังขยาย 7,500x) ที่อยู่ในกรอบสี่เหลี่ยมและวงกลม

4.5.2 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอธานอล และไออิ่มตัวของสารร่วมโดยวิธีปรับความชื้น ภายหลังการเก็บรักษา

ในการติดตามลักษณะทางกายภาพของผักชี ในประเด็นของการเน่าเสีย สี กลิ่นก่อนและหลังล้าง ความสดและลักษณะทั่วไป ได้อาศัยระดับคะแนนตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก ภัทราวดี ศรีปัญญา (2552) หลังผ่านการรมไอที่อุณหภูมิห้องและบรรจุในถุงพลาสติกโพลีโพพิลีนใส ขนาด 5x14 นิ้ว ไม่เจาะรู และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 3 5 และ 7 โดยเปรียบ เทียบกับผักชีที่ไม่ผ่านการรมไอในสภาพการเก็บรักษาเดียวกัน (ตัวอย่างควบคุม) ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ผลของการเก็บรักษาแสดงดังภาพที่ 4.6 และตารางที่ 4.17

ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ผ่านการรมไอ พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพตลอดการเก็บ 7 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4.6 (ก)

ผักชีที่รมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีระดับคะแนนการเน่าเสีย ความเต่ง สี และลักษณะทั่วไปเช่นเดียวกับชุดควบคุมในวันแรกของการรมไอ โดยความเต่ง (ความอ่อนนิ่มของก้านใบ) สี (เหลืองและน้ำตาล) และลักษณะทั่วไปมีความเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นแต่ไม่ทำให้เกิดการเน่าเสียตลอดการเก็บรักษา 7 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4.6 (ข) ส่วนกลิ่นของน้ำส้มสายชูหมักที่ตกค้างในผักชีอยู่ในระดับปานกลางหลังรมทันทีและลดลงเมื่อนำมาล้างในวันแรกของการรมไอ ลักษณะ

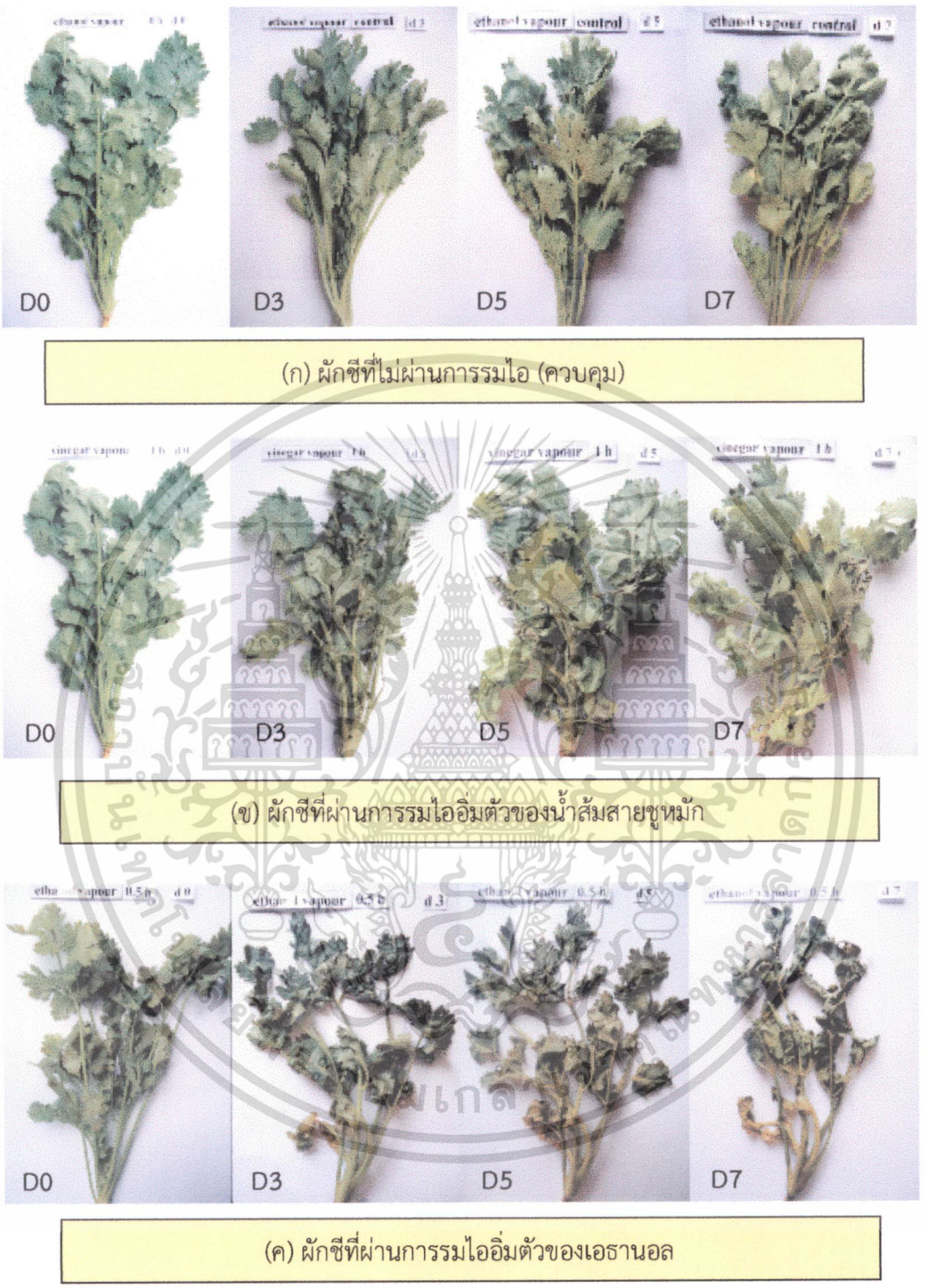
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั่วไปมีอายุการเก็บรักษา 7 วัน โดยวันที่ 5 ก้านใบที่อยู่ส่วนนอก (แก่กว่า) เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงสีเหลืองดัง ตารางที่ 4.17

ผักชีที่รมไออิ่มตัวของเอทานอล 0.5 ชั่วโมงมีระดับคะแนนความเต่ง สีและลักษณะทั่วไปต่างจากชุดควบคุมในวันแรกของการรมไอ โดยความเต่ง (ความแห้งเหี่ยว) สี (ความเขียว) และลักษณะทั่วไปของผักชีจะเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันแรกของการรมไอ และค่อนข้างคงที่ตามระยะเวลาการเก็บรักษาแต่ไม่ทำให้เกิดการเน่าเสียตลอดการเก็บรักษา 7 วัน ดังภาพที่ 4.6 (ค) สำหรับกลิ่นของ เอธานอลนั้นตกค้างในผักชีในระดับค่อนข้างสูงและลดลงเมื่อนำมาล้างในวันแรกของการรมไอ ส่วนลักษณะทั่วไปไม่สามารถเก็บรักษาได้ เนื่องจากก้านใบกว่า 30 เปอร์เซนต์เกิดการเหี่ยวทันทีหลังการรม และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาผักเหี่ยวอย่างชัดเจน (ตารางที่ 4.17)

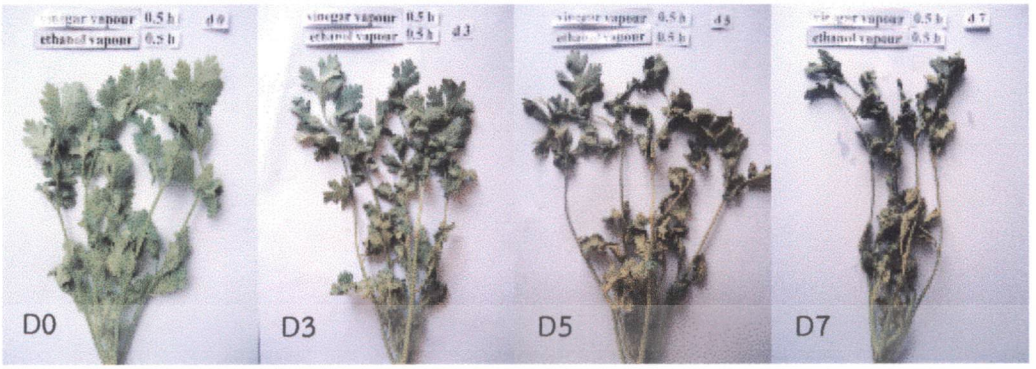
ผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวของเอทานอล อย่างละ 0.5 ชั่วโมง มีระดับคะแนนของความเต่ง สี และลักษณะทั่วไปเช่นเดียวกับชุดควบคุมในวันแรกของการรมไอความเต่ง (ความแห้งเหี่ยว) สี (ความเขียว) และลักษณะทั่วไปมีความเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาแต่ไม่ทำให้เกิดการเน่าเสียตลอดการเก็บรักษา 7 วัน ดังภาพที่ 4.6 (ง) กลิ่นของน้ำส้มสายชูหมักและเอทานอลตกค้างในผักชีในระดับปานกลางหลังรมทันทีและลดลงเมื่อนำมาล้างในวันแรกของการรมไอ (ตารางที่ 4.17)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 ลักษณะปรากฏของผักชีที่ผ่านการรมไอและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 3, 5 และ 7 วัน ตามลำดับจากซ้ายไปขวา: (ก) ไม่ผ่านการรมไอ (ควบคุม); (ข) ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก 1 ชั่วโมง; (ค) ไออิ่มตัวของเอทานอล 1 ชั่วโมง; (ง) ไออิ่มตัวสารร่วมอย่างละ 0.5 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ง) ผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวร่วมของน้ำส้มสายชูหมักและเอธานอล

ภาพที่ 4.6 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผักชีที่ผ่านการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก ไออิ่มตัวของเอทานอล และไออิ่มตัวของสารร่วม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

วิธีรม	คุณภาพ	ระยะเวลาการเก็บรักษา* (วัน)			
		0	3	5	7
ตัวอย่างควบคุม (ไม่รมไอ)	การเน่าเสีย	1	1	1	1
	ความเต่ง	1	1	1	1
	สี	1	1	1	1
	กลิ่นก่อนล้าง	1	-	-	-
	กลิ่นหลังล้าง	1	-	-	-
	ลักษณะทั่วไป	1	1	1	1
ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมัก 1 ชั่วโมง	การเน่าเสีย	1	1	1	1
	ความเต่ง	1	2	3	3
	สี	1	2	3	4
	กลิ่นก่อนล้าง	3	-	-	-
	กลิ่นหลังล้าง	2	-	-	-
	ลักษณะทั่วไป	1	3	3	3
ไออิ่มตัวของเอทานอล 0.5 ชั่วโมง	การเน่าเสีย	1	1	1	1
	ความเต่ง	3	4	5	5
	สี	4	4	4	4
	กลิ่นก่อนล้าง	3	-	-	-
	กลิ่นหลังล้าง	1	-	-	-
	ลักษณะทั่วไป	3	4	5	5
ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและเอทานอล อย่างละ 0.5 ชั่วโมง	การเน่าเสีย	1	1	1	1
	ความเต่ง	1	3	4	5
	สี	1	4	5	5
	กลิ่นก่อนล้าง	3	-	-	-
	กลิ่นหลังล้าง	2	-	-	-
	ลักษณะทั่วไป	1	4	5	5

*ระดับคะแนน และการอธิบายลักษณะคุณภาพทางกายภาพของผักชี (แสดงในภาคผนวก); ตัวอย่างผักชีได้ระดับคะแนนที่ 4 จะถือว่าตัวอย่างผักชีนี้หมดอายุการเก็บรักษาแล้ว; (-) หมายถึงไม่ได้ทำการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการพิสูจน์ยืนยันการปนเปื้อนของผักชีโดยการสุ่มตัวอย่างจากตลาดจำนวน 30 ตัวอย่าง ยืนยันว่าพบการปนเปื้อนของเชื้อ *K. pneumoniae* สูงถึง 93.3 เปอร์เซนต์ (ตรวจพบ 28 ตัวอย่าง จาก 30 ตัวอย่าง) ดังนั้นจึงคัดแยกเชื้อ *K. pneumoniae* เพื่อใช้ในการศึกษาการยับยั้งในผักชี

ในการทดสอบเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ ในการศึกษาการยับยั้งโดยอ้อมด้วยการกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Indirect impact by agar overlay disc diffusion method) พบว่า น้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นตั้งแต่ 2 เปอร์เซนต์ให้ผลการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* อย่างมีประสิทธิภาพ ขณะที่เอธานอลไม่เหมาะสมต่อการศึกษาลักษณะนี้ เนื่องจากเป็นสารที่ระเหยง่าย สำหรับผลการศึกษาการยับยั้งโดยตรงในหลอดทดลอง (Direct impact by *in vitro* test tube method) พบว่า น้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 2.4 เปอร์เซนต์ขึ้นไป หรือ เอธานอลความเข้มข้น 1.8 เปอร์เซนต์ขึ้นไป ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.5$)

ในการศึกษาผลของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักหรือไออิ่มตัวของเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า ระยะเวลาในการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ (ความชื้นสัมพัทธ์ 77 เปอร์เซนต์) หรือ ไออิ่มตัวเอธานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซนต์ (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์) เท่ากับ 50 นาที และ 15 นาที ตามลำดับ ในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* สมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ขณะที่ระยะเวลาจะสั้นลงเหลือเพียง 15 นาที ในกรณีที่รมไอสารร่วมทั้งสองแบบพร้อมกัน แต่ความชื้นสัมพัทธ์จะประมาณ 63-64 เปอร์เซนต์ ส่วนการรมไออิ่มตัวสารร่วมโดยการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 40 นาทีร่วมกับการรมไออิ่มตัวเอธานอล 10 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญ

สำหรับผลของการรมไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักหรือไออิ่มตัวของเอธานอลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae* บนผักชีที่ถ่ายเชื้อ *K. pneumoniae* ปริมาณระดับทั่วไป (4.56 log CFU/g) และระดับสูง (6.40 log CFU/g) ในสภาพที่ไม่ปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 37 เปอร์เซนต์) และปรับความชื้น (ความชื้นสัมพัทธ์ 83 เปอร์เซนต์) ระหว่างการรมไอ ในกรณีของสภาพที่ไม่ปรับความชื้น พบว่า การรมไอของเอธานอลให้ผลในการยับยั้งที่ดีกว่าการรมไอของน้ำส้มสายชูหมักในทั้งสองระดับของเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ถ่ายบนผักชี ขณะที่การรมไอสารร่วมทั้งสอง พบว่า เมื่อมีเชื้อ *K. pneumoniae* ปนเปื้อนในระดับทั่วไปจะถูกยับยั้งสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อรมไอน้ำส้มสายชูหมักและไอเอธานอลเป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง และ 1.5 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนเมื่อมีเชื้อ *K. pneumoniae* ปนเปื้อนในระดับสูงจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาการรมไอน้ำส้มสายชูหมักและไอเอธานอลอย่างละ 2 ชั่วโมง ส่วนในสภาพที่ปรับความชื้น พบว่า ประสิทธิภาพของไอน้ำส้มสายชูหมักและไอเอธานอลในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ลดลงกว่าในสภาพที่ไม่ปรับความชื้น อีกทั้งผลการยับยั้งที่ได้จากการรมไอร่วมของสารร่วมก็ลดลงเช่นกันในสภาพที่ปรับความชื้นในระหว่างรมไอ ทั้งนี้เป็นผลกระทบของความเจือจางของไอทั้งสองชนิดในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทางกายภาพของผักชีภายหลังจากการรมไอเป็นปัจจัยที่สำคัญเชิงคุณภาพ จากการศึกษาพบว่า ถึงแม้การรมไอในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นจะให้ผลการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ได้ดีกว่าการรมไอในสภาพที่ปรับความชื้น แต่ลักษณะทางกายภาพของผักชีกลับตรงกันข้าม กล่าวคือ ลักษณะทางกายภาพของผักชีจะเกิดการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมากในสภาพที่ไม่ปรับความชื้นทั้งที่รมด้วยไอน้ำส้มสายชูหมัก ไอเอธานอล และไอร่วมของสารทั้งสอง

เมื่อพิจารณา**การรมไอในสภาพที่ปรับความชื้นที่เหมาะสมต่อผักชี** พบว่า การรมไอน้ำส้มสายชูหมักให้ผลที่ใกล้เคียงกันกับไอร่วมของสารทั้งสอง ในขณะที่ไอเอธานอลมีการเปลี่ยนแปลงที่มากกว่า นอกจากนี้ยังสรุปได้เพิ่มเติมอีกว่า **ระยะเวลาที่เหมาะสมในการรมไอควรไม่เกิน 1 ชั่วโมง** โดยควรเลือกใช้ไอร่วมสารทั้งสอง โดย**ระยะเวลาในการรมไอทั้งสองเท่ากับ 0.5 ชั่วโมง หรือ ใช้ไอน้ำส้มสายชูหมักเพียงอย่างเดียวในระยะเวลา 1 ชั่วโมง**

จากการศึกษาโครงสร้างของใบผักชีด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน พบว่า รอยหยักของใบช่วยให้เกิดการเกาะติดของเชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ ได้ง่าย แต่บริเวณปากใบช่วยทำให้เชื้อแบคทีเรียเหล่านั้นหลงเหลือภายหลังการล้างได้

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเก็บรักษาผักชีเปรียบเทียบกับสภาพที่ไม่ผ่านการรมไอ โดยผักชีที่รมไอน้ำส้มสายชูหมักเป็นเวลา 1 ชั่วโมงให้ผลการเก็บรักษาที่ดีกว่าผักชีที่รมไอเอธานอล 0.5 ชั่วโมงหรือไอร่วมอย่างละ 0.5 ชั่วโมง ในสภาพปรับความชื้นระหว่างรมไอ โดยผักชีที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูหมักให้ลักษระทางกายภาพใกล้เคียงกับผักชีชุดควบคุม แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* ด้วย **ดังนั้นจึงควรเลือกใช้การรมไอน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 10 เปอร์เซนต์ ในการรมผักชีเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง ในสภาพที่ปรับความชื้นด้วย**

5.2 ข้อเสนอแนะ

การประยุกต์ใช้ไออิ่มตัวของน้ำส้มสายชูหมักและไออิ่มตัวของเอธานอล ควรพิจารณาถึงชนิดของผักที่จะนำใช้งาน เนื่องจากผักแต่ละชนิดจะมีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน นอกจากนี้แล้วโครงสร้างของผัก เช่น รอยหยัก หรือ พื้นผิวใบที่ขรุขระ ไม่เรียบ จะเป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้จุลินทรีย์ยึดเกาะได้มากและทำให้ประสิทธิภาพของสารที่ใช้ในการฆ่าเชื้อปนเปื้อนเหล่านั้นด้อยประสิทธิภาพไป

อย่างไรก็ตามการปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ที่ดีในการจัดการวัตถุดิบ เช่น การล้างอย่างมีประสิทธิภาพจำเป็นต้องได้รับการพิจารณาและกำหนดชัดเจน เพื่อเป็นการลดปริมาณของจุลินทรีย์เริ่มต้นจะส่งผลเสริมให้สารที่ใช้ในการฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กฤษฎา บุตรพลอย และ ดนัย บุณยเกียรติ. 2545. ผลของเอทธานอลและอะซีตัลดีไฮด์ต่อการควบคุมโรคเน่าราสีเขียวและคุณภาพของผลส้มเขียวหวาน. วารสารเกษตร. 18 (2): 110-118.

เครือข่ายจัดการองค์ความรู้. 2550. น้ำส้มสายชู. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. เข้าถึงได้จาก www.agro.cmu.ac.th/office/KMnetwork/?p=306 (24 สิงหาคม 2553).

จิราวรรณ ยี่สิบแสน. 2552. การลด *Salmonella* Enteritidis บนผิวเปลือกไข่ด้วยน้ำส้มสายชูหมัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวายของพืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

เจนจิรา ผลเกิด เสาวนีย์ สุวรรณสินธุ์ สุประภาดา โฉมศิริ วรรณิศา ศรีตะปัน์ย์ และธัชพรรณ เหมือนชู. 2550. สำรวจหาเชื้อใน Family Enterobacteriaceae ที่สร้าง Enzyme Extended-Spectrum β-Lactamase ที่ปนเปื้อนในผักที่วางขายในตลาดของประเทศไทย. ปริญญานิพนธ์ สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยรังสิต, กรุงเทพฯ.

ดวงจันทร์ เกรียงสุวรรณ. 2547. พืชผักผลไม้ไทยมีคุณค่าเป็นทั้งอาหารและยา ตอน "ผักชี"." บทความวิทยุรายการสาระความรู้ทางการเกษตร. 5 เมษายน 2547. เข้าถึงได้จาก http://natres.psu.ac.th/radio/radio_article/radio46-47/46-470027.htm (14 กรกฎาคม 2553).

ตวงพร โรจนวงศ์ โชคพิศิษฐ์ ชาญนันทพิพัฒน์ และวิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา. 2545. ผลของไอน้ำส้มสายชูต่อการลดการเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยวของมะละกอ. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.

พรพิมล พฤกษ์ประเสริฐ วนัสนันทน์ ธัญญพาณิชย์ และ ละม้าย แก้วจังหวัด. 2549. ความไวของเชื้อ multiresistant *K. pneumoniae* ต่อยาต้านจุลชีพ. สงขลานครินทร์เวชสาร. 3(24): 148-151.

พีเค สยาม. มปป. ขั้นตอนการปลูกผักชีไทย. เข้าถึงได้จาก http://www.pk-siam.com/website/mart/vegets/pakcheethai/pakcheethai_arg.html (20 กุมภาพันธ์ 2554).

ภัทราพรรณ จรูณรัตนสกุล. 2553. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวสตอเบอร์รี่สดด้วยน้ำส้มสายชูหมัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ภัทราวดี ศรีปัญญา. 2552. ผลของสารสกัดข่า กันเกรา ร่วมกับกรดอะซิติกต่อจุลินทรีย์ก่อโรคบนผักชี. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภัทราวดี ศรีปัญญา และบุษกร ทองใบ. 2553. ผลของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกต่อคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผักชี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41:1 (พิเศษ): 576-580.

รัชพล พรรษา และ สราวุธ มณี. 2549. การตรวจวัดการปนเปื้อนแบคทีเรียของผักสดบางชนิดจากตลาดสด จังหวัดมหาสารคาม. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.

ลัดดาวัลย์ คำมะปะนา. 2551. ผลของเอทธิฟอน และ 1- MCP ต่อการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในผักชีตัดแต่งพร้อมบริโภค. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

วชิราภรณ์ เทียมพันธ์. 2545. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อเพื่อลดจำนวน *Escherichia coli* และ *Salmonella* Typhimurium ปนเปื้อนบนผักกาดหอม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วราภา มหากาญจนกุล ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ และวชิราภรณ์ เทียมพันธ์. 2544. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *Escherichia coli* ในผักใบ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. 5-7 กุมภาพันธ์ 2544.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2538. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพ. 210 หน้า.

วราวุฒิ ครูส่ง พนิต เพ็ชรน่วม และประภาส ปิ่นวิเศษ. 2553. เส้นทางวิจัยกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก: การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อทดแทนการนำเข้า...สู่การยอมรับของภาคเอกชนไทย. บทความเชิงทัศนวิสัย. วารสารวิจัยและนวัตกรรมเพื่ออุตสาหกรรมไทย 1 (1): 14-21.

สุดสายชล ทองหอม และนันทวัน กรัตพงศ์. 2552. ผลของน้ำส้มสายชู กรดซิตริกและโซเดียมไบคาร์บอเนตต่อการลดลงของ *Salmonella* Typhimurium บนใบสะระแหน่. วารสารบูรพา. 14(1): 18-25.

อุดร อุณหวุฒิ วลัยกร วรวิศิษฎ์ธำรง รัชฎา อินทรกำแหง มานะ พุ่มทอง และประเทือง ศรีสุข. 2536. คุณภาพมะม่วงน้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง หลังจากผ่านกระบวนการอบไอน้ำ. วารสารเกษตร. 11(1): 15-19.

เอกชัย สร้อยน้ำ, เกียรติศักดิ์ ตันเจริญ, ศุภชาติ ปานเนียม, สุวิมล พันธุ์ดี และณรงค์ จึงสมานญาติ. 2550. ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชต่อเชื้อแบคทีเรียกรัมลบที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบในโคนม. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. 30 มกราคม 2550 - 2 กุมภาพันธ์ 2550.

Adams, M. R., and M. O. Moss. 2000. Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry., UK.

Agaoglu, S., N. Dostbil, and S. Alemdar. 2007. Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy. 51: 53-57.

Aurand, L. W., J. A. Singleton, T. A. Bell, and J. L. Etchells. 1966. Volatile components in the vapors of natural and distilled vinegar. Journal of Food Science. 31(2): 172-177.

Beuchat, L.R. 1996. Pathogenic microorganisms associated fresh produce. Journal of Food Protection. 59: 204-216.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Beuchat, L.R. 1997. Comparison of chemical treatments to kill *Salmonella* on alfalfa seeds destine for spout production. Journal of Food Microbiology. 34: 329-333.

Beuchat, L.R. 2002. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. Journal of Microbes and infection. 4: 413-423.

Beuchat, L.R., and D.A. Golden. 1998. Antimicrobials occurring naturally in foods. Journal of Food Technology. 43:134-142.

Boatwright, W. n.d. Properties of Vinegar. Available online at http://www.apple-cider-vinegar-benefits.com/properties-of-vinegar.html. (Accessed date on 9 October 2010).

Boglione, L., C. Spezia, F. Lipani, R. Balbiano, F.Canta, R. Marrone, M.D. Agostini, G. Calleri, and P. Caramello. 2008. *Klebsiella pneumoniae* meningitis in a 38-years-old Chinese traveller with impaired glucose tolerance: A new emerging syndrome? Travel Medicine and Infectious Disease. 6: 32–35.

Burt, S. A., M.J. Fledderman, H.P. Haagsman, F.V. Knapen, and E.J.A. Veldhuizen. 2007. Inhibition of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis on agar and raw chicken by carvacrol vapour. International Journal of Food Microbiology. 119: 346-350.

Chaudhry, N.M.A., and P. Tariq. 2006. Bactericidal activity of black, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 19(3): 214-218.

Corcuff, R., E.H. J. Ad, E. Castaigne, and J. Makhlouf. 1996. Storage of broccoli florets in ethanol vapor enriched atmospheres. Postharvest Biology and Technology. 7:219-229.

Corcuff, R., J. Arul, F. Hamza, F. Castaigne, and J. Makhlouf. 1996. Storage of broccoli florets in ethanol vapor enriched atmospheres. Journal of Postharvest Biology and Technology. 7: 219-29.

Daifas, D. P., J. P. Smith, I. Tarte, B. Blanchfield, and J.W. Austin. 2007. Effect of ethanol vapour on growth and toxin production by *Clostridium botulinum* in a high moisture bakery produce. Journal of Food Safety. 20(2): 111-125.

De la Maza, L.M. 2004. Introduction to Enterobacteriaceae. Color atlas of medical bacteriology. ASM Press.,Washington DC.

Food and Drug Administration. 1999. FDA Survey of Imported Fresh Produce. Available online at http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/prodsurv.html. (Accessed date on 15 July 2010).

Gao, H., Q.L. Gao, X. Zhang, C. Guan, M.H. Luo, H.B. Zhang, P. Liu, H.Y. Zhang, and J. Li. 2010. Improved medium for detection of Klebsiella in powered milk. Journal of Food Safety. 30: 12-23.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Goffau, M.C.D., X. Yang, J.M.V. Dijl, and H.J.M. Harmsen. 2009. Bacterial pleomorphism and competition in a relative humidity gradient. Environmental Microbiology. 11: 809-822.

Golberg, D., Y. Kroupitski, E. Belausov, R. Pinto, and S. Sela. 2011. *Salmonella* Typhimurium internalization is variable in leafy vegetables and fresh herbs. International Journal of Food Microbiology. 145: 250-257.

Harris, L.J., J.N. Farber, L.R. Beuchat, M.E. Parish, T.V. Suslow, E.H. Garrett, and F.F. Busta. 2003. Outbreaks associated with fresh produce: Incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2 (Supplement): 81-83.

Haryani, Y., A.S. Noorzaleha, A.B. Fatimah, B.A. Noorjahan, G.B. Patrick, A.T. Shamsinar, R.A.S. Laila, and R. Son. 2007. Incidence of *Klebsiella pneumonia* in street foods sold in Malaysia and their characterization by antibiotic resistance, plasmid profiling, and RAPD–PCR analysis. Journal of Food Control. 18: 847-853.

Hoffman, R.K. 1968. Effect of bacterial cell moisture on the sporicidal activity of β-propiolactone vapor. Applied Microbiology. 16: 641-644.

Kamat, A., K. Pingulkar, B. Bhushan, A. Gholap, and P. Thomas. 2003. Potential application of low dose gamma irradiation to improve the microbiological safety of fresh coriander leaves. Journal of Food Control. 14: 529-537.

Kudkaew, N. and W. Krusong. 2007. Effect of acetic acid on *Salmonella* Anatum reduction *in vitro* and in fresh pork quality. Proceedings of the 9th Agro-Industrial Conference. Food Innovation Asia 2007 : "Q" Food for Good Life. BITEC, Bangkok, 14 – 15 June 2007, P3-07-NC.

Larson, E.L., and H.E. Morton, 1991. Alcohols: Disinfection, Sterilization, and Preservation. 4th edition. Lea and Febiger, London. 191-203.

Lee, M.J., S.Y. Park, and S.D. Ha. 2007. Reduction of coliforms in rice treated with sanitizers and disinfectants. Journal of Food Control. 18: 1093-1097.

Lichter, A., H.W. Zhou, M. Vaknin, O. Dvir, Y. Zutchi, T. Kaplunov, and S. Lurie. 2003. Survival and responses of *Botrytis cinerea* after exposure to ethanol and heat. Journal of Phytopathol. 151: 553-563.

Lihandra, E. M. 2007. Assessment of ethanol, honey, milk and essential oils as potential postharvest treatments of New Zealand grown fruit. A thesis submitted in (partial) fulfillment for the Degree of Master of Applied Science at the Auckland University of Technology, New Zealand.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Maroncle, N., C. Rich, and C. Forestier. 2006. The role of *Klebsiella pneumoniae* urease in intestinal colonization and resistance to gastrointestinal stress. Journal Research in Microbiology. 157: 184-193.

Massa, S., F. Gardini, M. Sinigaglia, and M.E. Guerzoni. 1992. *Klebsiella pneumoniae* as a spoilage organism in Mozzarella cheese. Journal of Dairy Science. 75(6): 1411-1414.

Meatheral, B.L., D. Gregson, T. Ross, J.D.D. Pitout, and B.K. Laupland. 2009. Incidence, risk factors and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. The American Journal of Medicine. 122: 866-873.

Mpuchane, S.F., and B.A. Gashe. 1996. Presence of *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter species* in dried bush okra (Corchorus oliitorius) and African spider herb (Cleome gynandra). Journal of Food Control. 7(3): 169-172.

Munoz, M.A., C. Ahlström, B.J. Rauch, and R.N. Zadoks. 2006. Fecal shedding of *Klebsiella pneumoniae* by dairy cows. Journal of Dairy Science. 89(9): 3425-3430.

O'Connor-Shaw, R.E., J.A. Guthrie, K.J. Dunlop, and R. Roberts. 1995. Coliforms in processed mango: Significance and control. International Journal of Food Microbiology. 25: 51-61.

Ölmez, H., and U. Kretzschmar. 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. LWT - Food Science and Technology. 42: 686-693.

Piernas, V., and J. P. Guiraud. 1997. Microbial hazards related to rice sprouting. International Journal of Food Science and Technology. 32: 33-39.

Pinto, R., A. Lichter, A. Danshin, and S. Sela. 2006. The effect of an ethanol dip of table grapes on populations of *Escherichia coli.* Journal of Postharvest Biology and Technology. 39: 308-313.

Rajvanshi A. 2010. Bacterial load on street vended salads in Jaipur city, India. Internet Journal of Food Safety. 12: 136-139.

Rennie, R. P., C. M. Anderson, B.G. Wensley, W.L. Albriton, and D.E. Mahony. 1990. *Klebsiella pneumoniae* gastroenteritis masked by *Clostridium perfringens*. Journal of Clinical Microbiology. 28 (2): 216-219.

Richardson, S. D., A.D. Thruston, T.V. Caughran, P.H. Chen, T.W. Collette, K.M. Schenck, B.W. Lykins, C. Rav-Acha, and V. Glezer, 2000. Identification of new drinking water disinfection by products from ozone, chlorine dioxide, chloramine, and chlorine. Journal Water Air & Soil Pollution. 123: 95-102.

Robertson, L.J., G.S. Johannessen, B.K. Gjerde, and S. Loncarevic. 2002. Microbiological analysis of seed sprouts in Norway. International Journal of Food Microbiology. 75: 119-126.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sabota, M.J., W.L. Hoppes, J.R.Z. Jr, H. DuPont, J. Mathewson, and G.W. Rutecki. 1998. A new variant of food poisoning: enteroinvasive *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* sepsis from a contaminated hamburger. The American Journal of Gastroenterology. 93(1): 118-119.

Shahid, M., A. Malik, M. Adil, N. Jahan, and R. Malik. 2009. Comparison of beta-lactamase genes in clinical and food bacterial isolates in India. Journal of Infection in Developing Countries. 3(8): 593-598.

Sholberg, P.L., P. Haag, R. Hocking, and K. Bedford. 2000. The use of vinegar vapor to reduce post harvest decay of harvested fruit. Journal of Horticultural Science. 35: 898-903.

Sholberg, P.L., T. Shephard, P. Randall, and L. Moyls. 2004. Use of measured concentrations of acetic acid vapour to control postharvest decay in d'Anjou pears. Journal of Postharvest Biology and Technology. 32: 89-98.

Siddiqui, S., E. Kovacs, J. Beczner, R.K. Goyal, and F.C. Garg. 2005. Effect of ethanol, acetic acid and hot water vapours on the shelf-life of guava. Journal of Acta Alimentaria. 34 (1): [Abstract].

Singh, B.R., and S.B. Kulshreshtha. 1992. Preliminary examinations on the enterotoxigenicity of isolates of *Klebsiella pneumoniae* from seafoods. International Journal of Food Microbiology. 16(4): 349-352.

Soriano, J.M., H. Rico, J.C. Moltó, and J. Mañes. 2000. Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in University restaurants. International Journal of Food Microbiology. 58: 123-128.

Soriano, J.M., H. Rico, J.C. Moltó, and J. Mañes. 2001. Incidence of microbial flora in lettuce, meat and Spanish potato omelette from restaurants. Journal of Food Microbiology. 18: 159-163.

Suzuki, Y., T. Uji, and H. Terai. 2004. Inhibition of senescence in broccoli florets with ethanol vapor from alcohol powder. Postharvest Biology and Technology. 31: 177-182.

Tomas, J.M., B. Ciurana, and J.T. Jofre. 1986. New, simple medium for selective, differential recovery of *Klebsiella* spp. Applied and Environmental Miccrobiology. 51: 1361-1363.

Tripathi, P., and N.K. Dubey, 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. Journal of Postharvest Biology and Technology. 32: 235-245.

Tzortzakis, N.G. 2010. Ethanol, vinegar and origanum vulgare oil vapour suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit. International Journal of Food Microbiology. 142: 14-18.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Umeh, O., and L.B. Berkowitz, 2009. Klebsiella Infections. Available online at http://emedicine.medscape.com/arthicle/219907-overview. (Accessed date on 9 Febuary 2011).

USDA. 2008. Most Probable Number Procedure and Tables. Microbiology Laboratory Guidebook. Available online at http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_ Appendix_2_03.pdf (Accessed date on 27 March 2011).

Wang, H., H. Feng, and Y. Luo. 2004. Microbial reduction and storage quality of fresh-cut cilantro washed with acidic electrolyzed water and aqueous ozone. Journal of Food Research International. 37(10): 949-956.

Wright, C., S.D. Kominos, and R.B. Yee. 1976. Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* recovered from vegetable salads. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 31(3): 453-454.

Yu, E.K., and J.N. Saddler, 1982. Enhanced production of 2,3-butanediol by *Klebsiella pneumoniae* grown on high sugar concentrations in the presence of acetic acid. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 44(4): 777-784.

Xiao, Z., S. Dai, H. Yu , J. Zhu , H. Tian ,and Y. Gu. 2011. Discrimination of Chinese vinegars based on headspace solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry of volatile compounds and multivariate analysis. Journal of Food Science.76(8): 1125-35.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี การทดสอบและการตรวจวิเคราะห์ และการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Diluent (Merck, Germany)

ประกอบด้วย Peptone (กรัม) 1.0

ชั่ง Peptone 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร หรือขวดขวดละ 225 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

1.2 Tryptic Soy Broth (TSB) (Himedia, India)

ประกอบด้วย (กรัม) Casein enzymic hydrolysate, 17.0; Papaic digest of soyabean meal, 3.0; Sodium chloride, 5.0; Dipotassium phosphate, 2.5; Agar, 15.0

ชั่ง TSB 30 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ทำให้ละลายด้วยความร้อนเพื่อละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่า pH 7.3±0.2

1.3 Tryptic Soy Agar (TSA) (Himedia, India)

ประกอบด้วย (กรัม) Pancreatic digest of casein, 15.0; Papaic digest of soyabean meal, 5.0; Sodium chloride, 5.0; Agar, 15.0

ชั่ง TSA 40 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ทำให้ละลายด้วยความร้อนเพื่อละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่า pH 7.3±0.1

1.4 Mueller Hinton Agar (MHA) (Himedia, India)

ประกอบด้วย (กรัม) Beef infusion form, 300.0; Casein acid hydrolysate, 17.5; Starch, 1.5; Agar, 17.0

ชั่ง MHA 38 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ทำให้ละลายด้วยความร้อนเพื่อละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 7.3 ± 0.2

1.5 MacConKey Agar w/0.15% Bile Salts, CV and NaCl (Himedia, India)

ประกอบด้วย (กรัม) Pancreatic digest of gelatin, 17.0; Casein enzymic hydrolysate, 1.5; Peptic digest of animal tissue, 1.5; Lactose, 10.0; Bile salts, 1.5; Sodium chloride, 5.0; Neutral red, 0.03; Crystal violet, 0.001; Agar, 15.0

ชั่ง Sorbitol MacConKey Agar 51.5 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ทำให้ละลายด้วยความร้อนเพื่อละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 7.1±0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6 MacConKey-Inositol-Carbinicillin Agar (MCIC) (ดัดแปลงจาก Gao และคณะ, 2010)

ประกอบด้วย (กรัม) MacConkey, 50.5; Myo-inositol, 10.0; Carbinicillin, 50.0 มิลลิกรัม

ชั่ง MacConKey 50.5 กรัม และ myo-inositol 10.0 กรัม ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น 996 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

หลังจากที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เติม carbinicillin ผงที่ละลายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 4 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นของ carbinicillin เป็น 50.0 มิลลิกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

1.7 Lauryl Sulfate Tryptose Broth (LST)(Merck, Germany)

ประกอบด้วย (กรัม) Tryptose, 20.0; Lactose, 5.0; Sodium chloride, 5.0; Sodium lauryl sulfate, 0.1; Di-potassium hydrogen phosphate, 2.75; Potassium dihydrogen phosphate, 2.75

ชั่งอาหาร LST จำนวน 35.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 6.8 ± 0.2 ปิเปตลงในหลอดทดสอบหลอดละ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดดักก๊าซ นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

1.8 Brilliant Green Broth (BGB) (Merck, Germany)

ประกอบด้วย (กรัม) Peptone from meat, 5.0; Peptone from casein, 5.0; Meat extract, 5.0; Sodium chloride, 3.0; Di-sodium hydrogen phosphate, 2.0; Lactose, 10.0; Sucrose, 10.0; Brilliant green, 0.0125

ชั่งอาหาร BGB จำนวน 40.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 6.9±0.2 ปิเปตลงในหลอดทดสอบหลอดละ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดดักก๊าซ นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

1.9 EC broth (Merck, Germany)

ประกอบด้วย (กรัม) Peptone from casein, 20.0; Lactose, 5.0; Bile salt mixture, 1.5; Sodium chloride, 5.0; Di-potassium hydrogen phosphate, 4.0; Potassium dihydrogen phosphate, 1.5

ชั่งอาหาร EC จำนวน 37 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 6.9±0.2 ปิเปตลงในหลอดทดสอบหลอดละ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดดักก๊าซ นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

1.10 Simmon's citrate (Merck, Germany)

ประกอบด้วย (กรัม) $MnSo_4$ 0.2; $(NH_4)H_2PO_4$, 1.0; K_2PHO_4, 1.0; Sodium chloride, 5.0; Sodium citrate, 2.0; Bromthymol blue, 0.08; Agar, 15.0

ชั่งอาหาร EC จำนวน 24.28 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 6.9±0.2 ปิเปตลงในหลอดทดสอบ นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเอียง(slant) ให้อาหารแข็งตัว

1.11 MR-VP broth

ประกอบด้วย (กรัม) Buffer peptone, 7.0; Dextrose, 5.0; Dipotassium phosphate, 5.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH 7.0±0.2 จากนั้นถ่ายใส่หลอดหลอดละ 5 มิลลิลิตร.นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.12 Citrate

ประกอบด้วย (กรัม) Simmon citrate agar, 2.0; Sodium citrate, 5.0; Sodium chloride, 0.2; $MgSO_4$, 1.0; $NH_4H_2PO_4$, 1.0; Bromthylmol blue, 0.08; Agar, 15.0

ละลายส่วนประกอบในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 6.9 ต้มจนวุ้นละลาย ถ่ายใส่หลอดทดลอง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเอียง (slant) ให้อาหารแข็งตัว

2. การเตรียมสารเคมี

2.1 Tryptone

ละลาย Tryptone 10 กรัม ให้เข้ากันในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปิเปตลงในหลอดทดสอบ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.2 Kovac's

ละลาย *p*-Dimethylaminobenzaldehyde 10 กรัม และ Isobutyl alcohol (95 เปอร์เซนต์) 150 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน จากนั้นค่อย ๆ เติม hydrochloric acid 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เก็บสารละลายในขวดสีชา

2.3 Methyl red

ละลายสี methyl red 0.8 กรัม ใน ethanol (95 เปอร์เซนต์) 300 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2.4 α-naphthol solution

ละลาย α- Naphthol 10 กรัม ใน ethanol (95 เปอร์เซนต์) 100 มิลลิลิตร

2.5 KOH (40 เปอร์เซนต์)

ละลาย Potassium hydroxide 20 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3. การทดสอบ

3.1 IMVIC test (Baron และคณะ, 1994)

ทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ได้แก่ Indole production, Methyl red Test, Voges-Proskauer และ Citrate utilization

3.2 Indole test

เพาะเชื้อลงใน tryptone broth ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการตรวจ indole โดยหยดน้ำยา Kovac's ลงไป 1-2 หยด เขย่าเบา ๆ ผลบวกจะเกิดสีแดงเข้มอยู่ชั้นบนของอาหารเหลว แสดงว่าเชื้อสามารถผลิต tryptophanase ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 Methyl red test (MR)

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียลงในหลอดอาหาร MR-VP broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นหยด methyl red ลงไป 5-6 หยด เขย่าให้เข้ากัน

ผลบวก: เกิดสีแดง

ผลลบ: เกิดสีเหลืองหรือส้ม

3.4 Voges-Proskauer test (VP)

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียลงในหลอดอาหาร MR-VP broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ เติม α-naphthol solution (5 เปอร์เซนต์) 0.6 มิลลิลิตร และเติม KOH (40 เปอร์เซนต์) 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

ผลบวก: เกิดสีแดงภายใน 5 นาที

ผลลบ: เกิดสีเหลือง

3.5 Citrate Utilization

เพาะเชื้อโดยขีดเป็นเส้นตรงยาวบนผิวอาหาร บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ผลบวก: อาหารเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงิน เนื่องจากเชื้อใช้citrate เป็นแหล่งคาร์บอนได้

ผลลบ: อาหารมีสีเขียวดังเดิม

3.6 Catalase test (Baron และคณะ, 1994)

หยด H_2O_2 (3 เปอร์เซนต์) ลงในสไลด์ จากนั้นใช้ไม้จิ้มฟันที่ฆ่าเชื้อแล้วไปแตะโคโลนีของเชื้อที่ต้องการทดสอบ นำมาแตะบน H_2O_2 ที่หยดไว้

ผลบวก: เกิดฟองก๊าซเนื่องจากเชื้อสร้างเอนไซม์ catalase ได้

ผลลบ: ไม่เกิดฟองก๊าซ

3.7 Oxidation test (Baron และคณะ, 1994)

หยด Kovac' s oxidase reagent (1 เปอร์เซนต์ tetramethyl-p-phenylene diamine dihydrochroide ในน้ำกลั่น) ลงบนกระดาษกรอง ใช้แท่งแก้วเขี่ยเชื้อมาขีดลงบนกระดาษกรองที่เตรียมไว้ (ไม่ควรใช้ loop ที่ทำจากเหล็กและนิโครมเพราะจะทำให้เกิดผลบวกปลอมได้

ผลบวก: บริเวณที่ขีดเชื้อลงไปเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินภายใน 10 วินาที

ผลลบ: ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

4. การตรวจวิเคราะห์

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มด้วยวิธี Presumptive coliform (USDA, 2008)

นำตัวอย่างที่เจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-2} มาเจือจางต่อให้เป็น 10^{-3} ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่ความเจือจางต่างๆ ลงในอาหาร Lauryl Sulfate Tryptose Broth หลอดละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 3 หลอด (MPN-method) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง และ 48±2 ชั่วโมง โดยสังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซในหลอดอาหารแต่ละหลอด หลังจากบ่มครบ 24 ชั่วโมง และหากไม่มีหลอดใดไม่เกิดก๊าซให้บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจผลอีกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนึ่ง บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละความเจือจางไปเทียบกับตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของ Coliform ต่อกรัม หรือ มิลลิลิตรของตัวอย่างอาหาร

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีคอลโคลิฟอร์มด้วยวิธี Presumtive faecal coliform (USDA, 2008)

นำหลอดที่เกิดก๊าซในอาหารเหลว LST มาถ่ายเชื้อลงในอาหาร EC broth เพาะเชื้อในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 44.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง และ 48±2 ชั่วโมง โดยสังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซในหลอดอาหารแต่ละหลอด หลังจากบ่มครบ 24 ชั่วโมง และหากไม่มีหลอดใดไม่เกิดก๊าซให้บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจผลอีกครั้งหนึ่ง บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละความเจือจางไปเทียบกับตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของ faecal coliform ต่อกรัม หรือ มิลลิลิตรของตัวอย่างอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

1. ตาราง MPNและเกณฑ์ประเมินคุณภาพทางกายภาพของผักชี

ดัชนี MPN ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ของจำนวนหลอดทดสอบที่ให้ผลบวกใน 3 ระดับการเจือจางที่ 0.01 0.001 และ 0.0001 กรัม (มิลลิลิตร)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก	MPN (ต่อกรัม หรือ ต่อมิลลิลิตร)	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก	MPN (ต่อกรัม หรือ ต่อมิลลิลิตร)
0-0-0	<30	2-2-0	210
0-0-1	30	2-2-1	280
0-1-0	30	2-2-2	350
0-1-1	61	2-3-0	290
0-2-0	62	2-3-1	360
0-3-0	94	3-0-0	230
1-0-0	36	3-0-1	380
1-0-1	72	3-0-2	640
1-0-2	110	3-1-0	430
1-1-0	74	3-1-1	750
1-1-1	110	3-1-2	1200
1-2-0	110	3-1-3	1600
1-2-1	150	3-2-0	930
1-3-0	160	3-2-1	1500
2-0-0	92	3-2-2	2100
2-0-1	140	3-2-3	2900
2-0-2	200	3-3-0	2400
2-1-0	150	3-3-1	4600
2-1-1	200	3-3-2	11000
2-1-2	270	3-3-3	>11000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เกณฑ์ประเมินคุณภาพทางกายภาพของผักชี

ผักชีในระหว่างการเก็บรักษามีการจัดระดับลักษณะที่เกิดขึ้นโดยดัดแปลงจาก ภัทราวดี ศรีปัญญา และ บุษกร ทองใบ (2553) ดังนี้

ระดับสำหรับการประเมินคุณภาพทางกายภาพของผักชี

ระดับ	การเน่าเสีย	ความเต่งตึง	การเปลี่ยนสี (เปอร์เซนต์)	การเปลี่ยนกลิ่น	ลักษณะทั่วไป
1	ไม่ปรากฏ	เต่งตึงมาก	ต่ำกว่า 5	ปกติ	เยี่ยม
2	น้อยมาก	เต่งตึงน้อยลง	5-15	เล็กน้อย	ดี
3	เล็กน้อย	อ่อนนุ่มเล็กน้อย	15-30	ปานกลาง	ปานกลาง
4	ปานกลาง	อ่อนนุ่มมาก	30-50	แย่	แย่
5	รุนแรง	แห้งเหี่ยว	มากกว่า 50	แย่มาก	แย่มาก

ผักที่ได้คะแนนระดับ 4 ถือว่าตัวอย่างผักชีนี้หมดอายุการเก็บรักษาแล้ว

การอธิบายลักษณะคุณภาพทางกายภาพของผักชี

1. การเน่าเปื่อย

การมองเห็น การทำลายของเนื้อเยื่อผักชีสาเหตุจากจุลินทรีย์ อาจจะเกิดขึ้นจากบริเวณฐานของลำต้น ซึ่งเกิดจากการตัดระหว่างการเก็บเกี่ยว และบนบริเวณใบ ส่วนของดอก และลำต้นที่ได้รับความเสียหายเนื่องจากเครื่องจักรกลระหว่างการเก็บเกี่ยวด้วยมือ

2. สีของใบ

ใบที่เก็บเกี่ยวมาควรจะมีสีเขียวสด อย่างไรก็ตามการสูญเสียคลอโรฟิลล์ โดยทั่วไปเกิดขึ้นจากระยะเวลาการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น ซึ่งทำให้เกิดใบเหลืองเพิ่มขึ้นและใบแก่ใช้เป็นตัวชี้วัดเบื้องต้น

3. ความเต่งตึง

ใบ ก้านใบ และลำต้น ควรจะสดและกรอบ ซึ่งทั้งช่อต้องตั้งตรง และไม่อ่อนปวกเปียก การสูญเสียน้ำเป็นสาเหตุให้ความเต่งตึงลดลง และส่งผลไปถึงความชื้นในการเก็บรักษา ลำต้น และก้านใบ เริ่มแรกเรียบลื่นและมีความสดมากอาจจะช่วยรักษาโครงสร้างให้แน่น แต่จะเหี่ยว และเกิด
รอยย่นเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน

4. ลักษณะทั่วไป (General appearance)

สิ่งที่มองเห็น ความรู้สึกสัมผัสทั้งหมดของผักชี ซึ่งได้รับการยอมรับจากผู้ขายและผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ผลการสำรวจแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มในผักชีและผลการทดสอบยืนยันโดยชุดทดสอบ

ผลการสำรวจแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มในผักชี (Blackground flora) ตามวิธี Presumptive coliform และ presumtive feacal coliform ตามลำดับ ของ USDA (2008)

ตัวอย่างที่	BG			EC		
	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก	MPN/g	แบคทีเรีย*	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก	MPN/g	แบคทีเรีย*
1	3-3-3	>11,000	Kl, Ps	3-3-3	>11,000	Kl, Ps
2	3-3-3	>11,000	Kl, Ps	3-3-2	11,000	Ps, Ea
3	3-3-3	>11,000	Kl, Ci	2-2-1	280	Kl, Ci
4	3-3-3	>11,000	Kl, Ps	3-3-3	>11,000	Kl, Ps, Ci
5	3-3-3	>11,000	Kl	3-2-2	2,100	Kl
6	3-3-1	4,600	Kl, Ps, B	3-0-0	230	Kl, Ps, Es
7	3-2-2	2,100	Kl	1-0-0	36	Kl, Ci
8	3-3-3	>11,000	Kl, Ps	3-3-3	>11,000	Kl, Ps
9	3-3-3	>11,000	Ps, Ci	3-3-3	>11,000	Kl
10	3-3-3	>11,000	Kl	3-3-3	>11,000	Kl
11	3-3-3	>11,000	Kl, Ps	3-3-3	>11,000	Kl, Ps
12	3-3-3	>11,000	Kl, Ci	3-3-3	>11,000	Kl
13	3-3-3	>11,000	Kl, Ps	3-3-3	>11,000	Kl
14	3-3-3	>11,000	Kl, Ps	3-3-3	>11,000	Kl, Ps
15	3-3-1	4,600	Kl	3-2-1	1,500	Kl
16	3-3-3	>11,000	Kl	3-3-2	11,000	Kl
17	3-3-3	>11,000	Ps, Ci	3-3-3	>11,000	Kl, Ps, Ci
18	3-2-1	1,500	Kl, Ps, Ci, B	3-2-0	930	Kl, Ci, B
19	3-3-2	11,000	Kl	3-3-2	11,000	Kl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

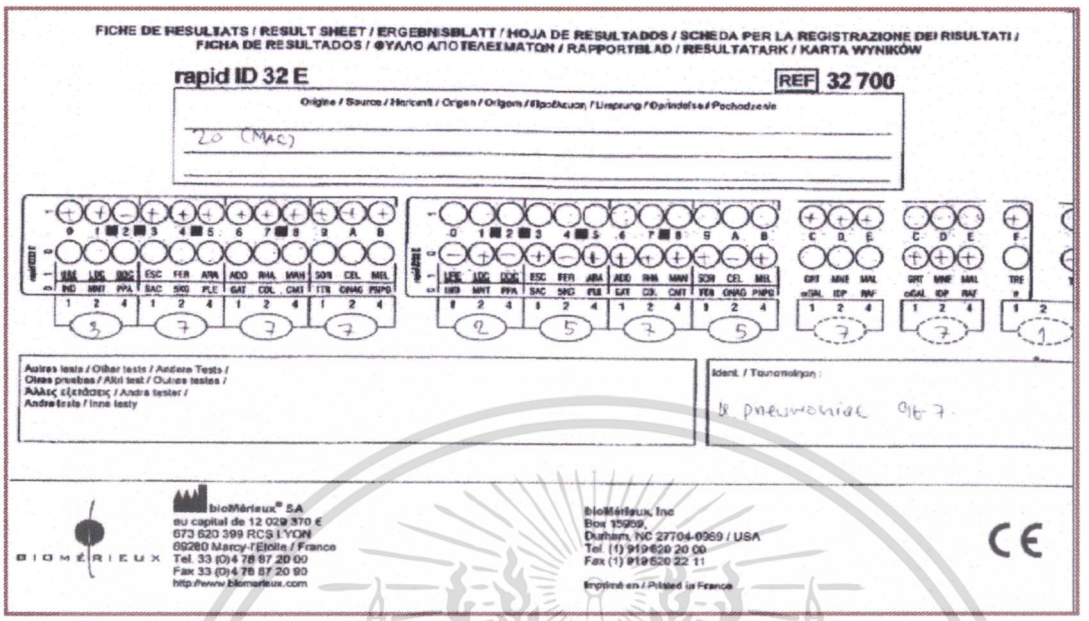
20	3-3-3	>11,000	Kl	3-3-3	>11,000	Kl
21	3-3-3	>11,000	Kl, Ci	3-3-3	>11,000	Kl, Ci
22	3-3-3	>11,000	Kl	3-3-3	>11,000	Kl
23	3-3-3	>11,000	Kl, C	3-3-3	>11,000	Kl
24	3-1-1	750	Kl	3-1-0	430	Kl
25	3-3-3	>11,000	Kl, Ps	3-2-0	930	Kl
26	3-3-3	>11,000	Kl, Ps, Ci	3-3-3	>11,000	Kl, Ps
27	3-2-1	1,500	Kl	3-1-0	430	Kl
28	3-3-3	>11,000	Kl, B	2-1-0	150	Kl, B
29	3-3-0	2,400	Kl, Ps	3-3-0	2,400	Kl,Ps
30	3-3-3	>11,000	Kl, Ps, Ci	3-3-3	>11,000	Kl,Ps

* Kl, *Klebsiella pneumoniae* ssp. pneumoniae ยืนยันโดย API rapid ID 32; Ps, *Pseudomonas* spp. ยืนยันโดย oxidase test (+); Ci, *Citrobacter freundii* ยืนยันโดย API rapid ID 32; Es, *Escherichia coli* ยืนยันโดย IMVIC test (+ + - -); Ea, *Enterobacter aerogenes* ยืนยันโดย IMVIC test (- - + +); B, โคโลนีสีขาว วาว กลม ไม่ได้ทำการยืนยัน; C, โคโลนีสีแดง ขอบใส ขนาดเล็ก ไม่ได้ทำการยืนยัน

ผลการทดสอบยืนยันโดยชุดทดสอบ

ชุดทดสอบ rapid ID 32 E สำหรับกลุ่ม Enterobacteriaceae (BioMerieux)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


FICHE DE RESULTATS / RESULT SHEET / ERGEBNISBLATT / HOJA DE RESULTADOS / SCHEDA PER LA REGISTRAZIONE DEI RISULTATI /
FICHA DE RESULTADOS / ΦΥΛΛΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ / RAPPORTBLAD / RESULTATARK / KARTA WYNIKÓW

rapid ID 32 E REF 32 700

Origine / Source / Herkunft / Origen / Origem / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie

20 (MAC)

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
Andre tests / Inne testy

Ident. / Ταυτοποίηση :

K. pneumoniae 96.7

bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

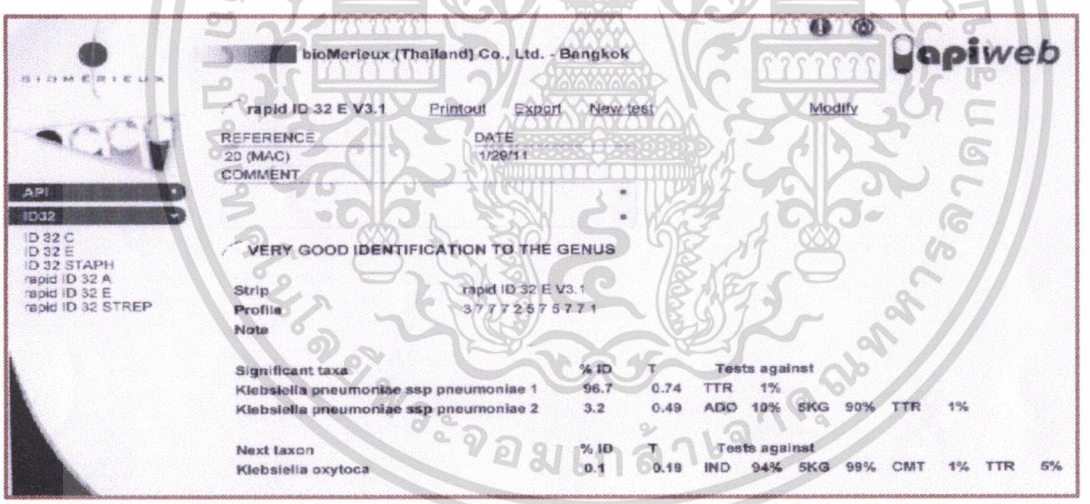
BIOMÉRIEUX

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11

Imprimé en / Printed in France

CE

ผลการทดสอบโดยชุดทดสอบ rapid ID 32 E สำหรับกลุ่ม Enterobacteriaceae (BioMerieux)



ผลยืนยันการทดสอบเชื้อโดยโปรแกรมสำเร็จ apiweb (BioMerieux)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
Ph.D.	Food Science	University of the Philippines at Los Banos ประเทศฟิลิปปินส์	2533
วท.ม.	จุลชีววิทยา	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2528
วท.บ.	ชีววิทยา	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	2525

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)

- การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก
- การพัฒนากระบวนการหมักและผลิตภัณฑ์อาหารจากการหมัก
- จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร
- ความปลอดภัยอาหารและ HACCP ในอุตสาหกรรมอาหาร
- การประกันคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหาร
- การยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร

รางวัลด้านวิชาการ/ด้านวิจัย/งานสร้างสรรค์ (ด้านศิลปะ หรืออื่นๆ) ที่ได้รับ

ปี พ.ศ.	ชื่อรางวัล	สถาบันที่ให้
2555	**รางวัลเทคโนโลยีเครื่องจักรกลยอดเยี่ยม รางวัลที่ 1 สาขาเครื่องจักรกลการผลิต (การประกวดรางวัลเทคโนโลยีเครื่องจักรกลยอดเยี่ยม ประจำปี 2554 เมื่อวันที่ 5 มกราคม 2555)**	**กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**
2552	**รางวัลชนะเลิศอันดับสาม ประเภท Professional Award (โครงการ IRPUS 2551)**	**สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)**
2550	**Best iTAP Partnership Award**	**โครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทย (iTAP) ศูนย์บริการจัดการเทคโนโลยี (TMC) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทุนการศึกษาและทุนวิจัยที่เคยได้รับ (ที่สำคัญ)

ปี พ.ศ.	ทุนการศึกษาและทุนวิจัย	สถาบันที่ให้
2529	ทุนอบรมด้าน Food Fermentattion : Tempeh	United Nations University
2531	ทุนการศึกษาระดับปริญญาเอก	SEARCA Scholarship
2535-43	ทุนวิจัยด้าน Bacterial Cellulose ภายใต้ความร่วมมือ (ไทย-ญี่ปุ่น)	JSPS

หมายเหตุ: มิได้ระบุทุนวิจัยตลอดการวิจัยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2529 จนถึงปัจจุบัน

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์

ผลงานวิจัย/งานสร้างสรรค์ที่ตีพิมพ์เผยแพร่ (ระดับชาติและนานาชาติ)

ผลงานที่ตีพิมพ์เผยแพร่

เทคโนโลยีชีวภาพ สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ (พ.ศ. 2529) 163 หน้า

เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ (พ.ศ. 2532) 209 หน้า

จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ (พ.ศ. 2538) 210 หน้า

เทคโนโลยีชีวภาพ ฉบับปรับปรุงใหม่ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (พ.ศ. 2539) 213หน้า

เอกสารประกอบการสอนสาขาวิชาคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช หน่วยวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและการจัดการคุณภาพ

ร่วมเขียน (Contributor) Chapter 14 Production of Thai Fermented Fish: Plara, Pla – som, Som-fak (หน้า 707 – 720) และ Chapter 15 Industrialization of Thai Nham : Fermented Pork or Beef (หน้า 721 – 736) ใน Industrialization of Indigenous Fermented Foods: 2nd ed. Revised and Expanded. Ed. By K.H. Steinkraus. Marcel Dekker.(2004)

การประกันคุณภาพในอุตสาหกรรมอาหาร บริษัท ดีสแควร์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด (พ.ศ. 2547) 195 หน้า

ร่วมเขียนหัวข้อ จุลชีววิทยาของกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยความร้อน ใน หนังสือหลักการผลิตและฆ่าเชื้ออาหารในภาชนะปิดสนิทด้วยความร้อน สถาบันอาหาร (พ.ศ. 2547) หน้า 25 - 48

การจัดทำระบบ GMP และ HACCP ในอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (2550) 189 หน้า

การบริหารจัดการจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันอาหาร (พ.ศ. 2551) 184 หน้า

ผลงานวิจัย (บางส่วน)

Krusong, W., P. Petch-nom and P. Pinviset. 2010. Semi-continuous production process of corn vinegar in stirred tank reactor using fixation of *Acetobacter aceti* WK on surface of loofa sponge. Kasetsart J.: Natural Sci. 44(3): 454-461.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Krusong, W. and A. Vichitraka. 2010. An investigation of simultaneous pineapple vinegar Fermentation interaction between acetic acid bacteria and yeast. Asian J. Food Ag-Ind. 3(01): 192-203.

Yeesibsan, J. and W. Krusong. 2009. Effect of vaporized fermented vinegar on *Salmonella* Enteritidis on eggshell surface. Asian J. Food Ag-Ind. 2(04): 882-890.

Krusong, W., A. Vichitraka and S. Pornpakdeewattana. 2007. Luffa Sponge as Supporting Material of *Acetobacter aceti* WK for Corn Vinegar Production in Semi – continuous Process. KMITL Sci. J. 7: 63-68.

Krusong, W., A. Jindaprasert and T. Yoshida.2004. Accumulation of Cellulose Gel by *Acetobacter xylinum* DK on Static Cellulose Microfibril Attachment Matrix in Airlift Cultivation. Thai J. Biotechnology. 5 (1) : 43 – 50.

Tangjitjaroenkul, J., V. Kitpreechavanich, S. Suthirawut, P. Chim-anage, W. Praprilong, w. Krusong and B. Yongsmith. 2004. Improvement of high vitamin B12 thua nao by mixed cultures of soybean oligosaccharide and the use of bacteria and yeast. Kasetsart J. (Nat.Sci.). 38:123-130.

การเสนอผลงานวิชาการ

การเสนอผลงานวิชาการ (บางส่วน)

Atipong, T. and **W. Krusong.** 2012. Impact of lactic acid bacteria contamination during pineapple wine fermentation for ready to drink alcoholic beverages. International Conference on Food Science and Nutrition 2012. The Pacific Sutera Hotel, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia, 2-4 April 2012. pp.844-852.

Janjumnean, N. and **W. Krusong.** 2012. Efficacy of electrolyzed oxidizing water on reducing *Escherichia coli* inoculated on surface of stainless steel used in poultry processing plant. International Conference on Food Science and Nutrition 2012. The Pacific Sutera Hotel, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia, 2-4 April 2012. pp.811-818.

Chayawatcharakul, T. and **W. Krusong.** 2011. *In vitro* impact of fermented vinegar and its vapour *Klebsiella pneumoniae.* 1st International Symposium on Technology for Sustainability. King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 26-27 January 2012. pp.415-418.

Sompuen, T. and **W. Krusong.** 2011. The efficiency of sodium hypochlorite and peracetic acid on reducing of *Vibrio parahaemolyticus* on shrimp during washing step. The 23rd Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology "Systems Biotechnology: Quality & Success". Imperial Queen's Park Hotel , Bangkok, 1-2 February 2012. pp.153-154.

Krusong, W. and A. Vichitraka. 2011. An air-lift acetifier with mash recycling system for corn vinegar Production by adsorbed cells of *Acetobacter aceti* WK on surface of loofa sponge. 2011 2nd International Conference on Biotechnology and Food Science (ICBFS 2011). 1-3 April 2011. Bali Island. Indonesia. pp.86-90.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dansai, P. and **W. Krusong**. 2011. Effect of turmeric extract, fermented vinegar and their mixture on *Salmonella* Typhimurium reduction *in vitro*. 2011 2nd International Conference on Biotechnology and Food Science (ICBFS 2011). 1-3 April 2011. Bali Island. Indonesia. pp.81-85.

Krusong, W. and A. Vichitraka. 2009. Repeated batch fermentation of carrot pomace wine using a flocculating yeast immobilized on loofa Sponge (*Luffa cylindrica*). The 21th Annual Meeting and International Conference of Thai Society for Biotechnology TSB 2009: "Biotechnology: A Solution to the Global Economic Crisis?". P-MF12, pp. 684-691.

ผลงานสิทธิบัตร/สิ่งประดิษฐ์/งานสร้างสรรค์ (ศิลปะ หรือ อื่นๆ)

สิ่งประดิษฐ์เรื่อง "กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศภายในถังหมัก" ยื่นจดสิทธิบัตรในนาม "สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง" เมื่อวันที่ 13 ตุลาคม พ.ศ. 2551

อื่นๆ

การขอใช้สิทธิประโยชน์สิ่งประดิษฐ์เรื่อง "กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศภายในถังหมัก" ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553-ปัจจุบัน (2555) เป็นจำนวน 3 บริษัท

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล นางสาวฐิตินันท์ ชยาวัชรกุล
ตำแหน่งปัจจุบัน นักศึกษาปริญญาโท สาขาสุขาภิบาลอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้