

**EFFICACY OF CHEMICAL TREATMENTS IN INACTIVATING *Escherichia coli*
ON FRESH CUT GUAVA**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE PROGRAM IN FOOD SANITATION
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2003

ISBN 974-324-919-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2003

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของสารเคมีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Escherichia coli</i> ในฝรั่งสดหั่นชิ้น
นักศึกษา	นางสาวผาณิต กิตติธรรนันท
รหัสประจำตัว	44615706
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2546
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือศึกษาผลของการใช้สารเคมีต่างๆ ต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลและการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ที่ความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น 10^7 cfu/ml ในหลอดทดลองและ 10^7 cfu/ml ในฝรั่งสดหั่นชิ้น การทดลองขั้นต้นได้ทำในหลอดทดลองโดยศึกษาการใช้สารเคมีต่างๆ ได้แก่ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สารละลายกรดแอสคอบิก และสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 1.5, 2.5, 3.0 และ 3.5 % ระยะเวลา 5 นาที และ 10 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* พบว่าประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มากกว่าสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก และมากกว่ากรดแอสคอบิก ตามลำดับ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.5 % ต้องใช้เวลา 10 นาทีและที่ความเข้มข้น 2.5 % และ 3.0 % ต้องใช้เวลา 5 นาทีขึ้นไปเพื่อทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมด สำหรับกรดแอสคอบิกที่ความเข้มข้น 3.0 % ที่เวลา 10 นาที ให้ผลการทำลายจุลินทรีย์สูงสุด ผลของสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกที่ความเข้มข้น 1.5 % + 1.5 % เวลา 5 นาที ไม่เพียงพอในการทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด และที่ความเข้มข้น 1.5 % + 2.5 % ขึ้นไป สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ทั้งที่เวลา 5 นาทีและ 10 นาที

ผลของความเข้มข้นของสารละลายเคมีต่างๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ในฝรั่งสดหั่นชิ้น พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 %, กรดแอสคอบิก 3.5 % และ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก 1.5 % + 3.5 % เวลาในการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 9 วัน พบว่า สารเคมีมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากกว่าตัวอย่างที่ถ่ายเชื้อ ตัวอย่างที่ไม่ถ่ายเชื้อ และตัวอย่างที่แช่น้ำประมาณ 1-3.5 log cfu/g ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์เป็นดังนี้ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกมากกว่า กรดแอสคอบิก และมากกว่า

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันของความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ที่เวลาในการแช่ 5 นาที 10 นาทีและ 15 นาที ในทุกสารละลาย และเมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างที่แช่น้ำและตัวอย่างที่ไม่แช่สารละลายใดๆพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน

ผลของสารละลายเคมีต่อการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งสดที่จัดเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 9 วัน พบว่าประสิทธิภาพของสารละลายในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งสดนั้นขึ้นเป็น สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มากกว่าสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก และมากกว่ากรดแอสคอบิก ตามลำดับ โดยทุกสารละลายจะมีค่า L ลดลงจากเมื่อเริ่มจัดเก็บ ไม่มีความแตกต่างกันของค่าการเปลี่ยนแปลงของค่า L ของ น้ำ 5 นาที, น้ำ 10 นาที, น้ำ 15 นาที และตัวอย่างที่ไม่แช่สารละลายใดๆ สารละลายกรดแอสคอบิกและสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกจะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า ΔL ลดลงเมื่อเวลาการแช่มากขึ้นในขณะที่สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และน้ำมีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นเมื่อเวลาการแช่มากขึ้น

สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกที่เวลาแช่ 15 นาที ให้ผลสูงสุดในการยับยั้ง *Escherichia coli* และยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Efficacy of chemical treatments in inactivating <i>Escherichia coli</i> on fresh- cut guava
Student	Ms.Panit Kittiteeranan
Student ID.	44615706
Degree	Master of Science
Programme	Food Sanitation
Year	2003
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Ratiporn Haruenkit

ABSTRACT

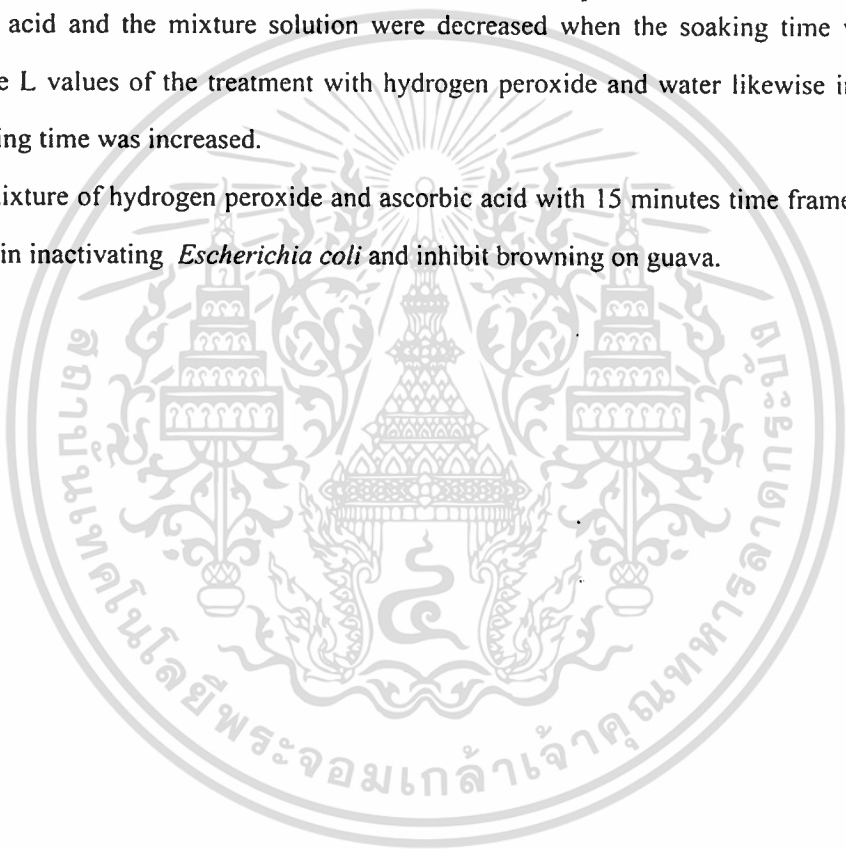
The purposes of this study were to determine the efficacy of chemical solution treatments to inhibit browning and inactivate *Escherichia coli* on vitro and fresh-cut guava. The preliminary study was conducted on vitro using various chemical solutions in inactivating *Escherichia coli* which initial inoculum concentration at 10^9 cfu/ml then on guava at 10^7 cfu/ml. These include hydrogen peroxide; ascorbic acid; and a mixture solution of hydrogen peroxide and ascorbic acid; with 1.5 %, 2.5 %, 3.0 % and 3.5 % of concentration; and at 5 minute and 10 minute time frames. The decreased efficacy of chemical treatment in inactivating *Escherichia coli* on vitro, in order, were hydrogen peroxide; a mixture solution of hydrogen peroxide and ascorbic acid; and ascorbic acid. It was found that the efficacy of hydrogen peroxide determination for all microbial destruction uses 10 minutes at 1.5 %, and 5 minutes or more for 2.5 % & 3%. Moreover, the efficacy of Ascorbic acid determination was found to be at the highest with 3.0% of concentration. It was also found that the efficacy for microbial destruction of a mixed solution of hydrogen peroxide and ascorbic acid at a concentration of 1.5 %+ 1.5 % for 10 minutes was inadequate ; while a concentration of 1.5 %+ 2.5 % or higher proved to be adequate at a 5 or 10 minutes time frame.

The study of chemical treatment on fresh-cut guava showed that *Escherichia coli* when stored at 4 °C for 9 days, can be inactivated with 1.5 % of hydrogen peroxide; 3.5 % of ascorbic acid; and a mixture of 1.5 % hydrogen peroxide and 3.5 % ascorbic acid. Moreover, the use of chemical treatment proves to have more efficacy in inactivating *Escherichia coli* than without it, or with water treatment at the reduction of 1-3.5 log cfu/g The decreased efficacy of chemical treatments in inactivating *Escherichia coli* on guava, in order, were a mixture solution of

hydrogen peroxide and ascorbic acid; ascorbic acid; and hydrogen peroxide. No significant difference of microbial inactivation was noted among the 5 minute, 10 minute and 15 minute time frames for any of the treatment solutions used. Additionally, no significant difference was found in the microbial inactivation for with water and without chemical treatment.

The efficacy of chemical treatment to inhibit the browning of Guava when stored at 4 °C for 9 days was determined. The decreased efficacy of chemical treatment to inhibit the browning in guava, in order, were hydrogen peroxide; a mixture of hydrogen peroxide and ascorbic acid; and ascorbic acid. It was found that the L values of all chemical treatments were decreased during the first storage time. No significant differences of L values were noted among water treatments at 5 minutes, 10 minutes, and 15 minute time frame; and without chemical treatment. The L values of ascorbic acid and the mixture solution were decreased when the soaking time was increased; while the L values of the treatment with hydrogen peroxide and water likewise increased when the soaking time was increased.

A mixture of hydrogen peroxide and ascorbic acid with 15 minutes time frame is the highest efficacy in inactivating *Escherichia coli* and inhibit browning on guava.



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	I
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	1
1.3 สมมติฐานของการศึกษา.....	1
1.4 ขอบเขตการศึกษา.....	2
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 การผลิตผลไม้สดแปรรูป.....	3
2.2 การหั่นตัดผักผลไม้.....	3
2.3 จุลชีววิทยาของผักผลไม้.....	8
2.4 <i>Escherichia coli</i>	12
2.5 อิทธิพลของกรดอินทรีย์ต่อความสามารถในการเจริญของ <i>E. coli</i>	14
2.6 การลดปริมาณจุลินทรีย์โดยการล้างด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์.....	17
2.7 หลักการยับยั้งและป้องกันการเกิดสีน้ำตาล.....	20
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	25
3.1 วัตถุประสงค์.....	25
3.2 สารเคมี.....	25
3.3 เชื้อจุลินทรีย์.....	25
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์.....	25
3.5 เครื่องมือ.....	26
3.6 อุปกรณ์.....	26
3.7 สถานที่ทำการทดลอง.....	26

3.8	วิธีการทดลอง.....	27
บทที่ 4	ผลการทดลองและวิจารณ์.....	33
4.1	ผลของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>E.coli</i> ในหลอดทดลอง.....	33
4.1.1	ผลของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide) ต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>E.coli</i> ในหลอดทดลอง.....	33
4.1.2	ผลของสารละลายกรดแอสคอบิก (Ascorbic acid) ต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>E.coli</i> ในหลอดทดลอง.....	34
4.1.3	ผลของสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกรดแอสคอบิก (Hydrogen Peroxide mixed with Ascorbic acid) ต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>E.coli</i> ในหลอดทดลอง.....	35
4.2	ผลของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>E.coli</i> ในฟรังสดแห้ง.....	38
4.3	ผลของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฟรังสดแห้ง.....	48
บทที่ 5	สรุปผลการทดลอง.....	55
ข้อเสนอแนะ.....		57
บรรณานุกรม.....		58
ภาคผนวก.....		62
ก.	การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์.....	63
ข.	การวิเคราะห์หาค่าสีโดยเครื่อง COLORFLEX.....	68
ค.	ผลการทดลอง.....	71
ประวัติผู้เขียน.....		84

สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้า

2.1 แสดงจำนวนแบคทีเรียที่พบหลังจากผ่านการหั่นแปรรูปเบื้องต้น.....5	5
2.2 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของผักที่ไม่ผ่านการตัดและผ่านการตัดซึ่งบรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มี อากาศบริเวณช่องว่างเหนือบรรจุภัณฑ์เมื่อเริ่มต้นและจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4.4 °C6	6
2.3 แสดงการยืดอายุของผลิตภัณฑ์สดหั่นชิ้นโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับคลอรีน.....17	17
ค.1 แสดง <i>E. coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในหลอดทดลองที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA.....72	72
ค.2 แสดง <i>E. coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายกรดแอสคอบิกในหลอดทดลองที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA.....72	72
ค.3 แสดง <i>E. coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกใน หลอดทดลอง ที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA.....73	73
ค.4 แสดง <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงใน TSA74	74
ค.5 แสดง <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงใน PCA.....75	75
ค.6 แสดง <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที76	76
ค.7 แสดง <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 10 นาที77	77
ค.8 แสดง <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 15 นาที78	78
ค.9 แสดง ค่า L ของฝรั่งที่จัดเก็บที่ 4 °C เป็นเวลา 9 วัน.....79	79
ค.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า L ของฝรั่ง (ΔL).....80	80
ค.11 แสดงค่า L และ ΔL ของฝรั่งที่เวลาการแช่ 5 นาที81	81
ค.12 แสดงค่า L และ ΔL ของฝรั่งที่เวลาการแช่ 10 นาที.....82	82
ค.13 แสดงค่า L และ ΔL ของฝรั่งที่เวลาการแช่ 15 นาที83	83

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

4.1 <i>E.coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในหลอดทดลองที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA.....	33
4.2 <i>E.coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายกรดแอสคอบิกในหลอดทดลองที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA.....	34
4.3 <i>E.coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกในหลอดทดลอง ที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA.....	35
4.4 <i>E.coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 % ในหลอดทดลอง.....	36
4.5 <i>E.coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 % ในหลอดทดลอง.....	36
4.6 <i>E.coli</i> ที่ลดลงโดยสารละลายต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 3.0 % ในหลอดทดลอง.....	37
4.7 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA	39
4.8 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA	39
4.9 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 10 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA	40
4.10 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 10 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA	40
4.11 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA	41
4.12 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA.....	41
4.13 <i>E.coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น โดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA.....	42
4.14 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้นโดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA.....	42
4.15 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้นโดยสารละลายกรดแอสคอบิก ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA.....	43
4.16 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้นโดยสารละลายกรดแอสคอบิก ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA.....	43
4.17 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้นโดยสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA.....	44
4.18 <i>E. coli</i> ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้นโดยสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA.....	44

4.19 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 5 นาที	49
4.20 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 10 นาที.....	49
4.21 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 15 นาที.....	50
4.22 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 5 นาที.....	50
4.23 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 10 นาที.....	51
4.24 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 15 นาที.....	51



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันการเตรียมและจำหน่ายผลไม้สดหั่นชิ้นบรรจุในบรรจุภัณฑ์ต่างๆ นิยมทำเพื่อความสะดวกของผู้บริโภค ในขั้นตอนการผลิต เช่น การล้าง การหั่น การบรรจุ เป็นสิ่งที่สำคัญในการปฏิบัติเพื่อกำจัดและป้องกันจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลไม้ อุปกรณ์ในการหั่นตัดต่างๆ และภาชนะบรรจุควรสะอาด รวมถึงวิธีปฏิบัติในการผลิตต้องทำอย่างถูกสุขลักษณะเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากผู้ผลิตและเพื่อเป็นการผลิตที่ถูกสุขลักษณะ อย่างไรก็ตามในระหว่างการขนส่งหรือการจำหน่ายอาจมีการแตกเสียหายของหีบห่อทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ ผู้บริโภคจึงควรมีความระมัดระวังในการเลือกซื้อ หรือควรมีการล้างผักผลไม้ก่อนบริโภคเพื่อให้มั่นใจในความสะอาดและเพื่อป้องกันจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีชี้เรื่องของสุขลักษณะ (Sanitary index microorganism) มีหลายชนิด ชนิดหนึ่งที่นิยมคือ *E.coli* โดยหากมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้จะทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการท้องเสียได้ ซึ่งในบางชนิดอาจทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้

ดังนั้นการศึกษาเรื่องของการใช้สารละลายเคมีในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดนี้ เพื่อหาแนวทางในการลดปัญหาที่อาจเกิดขึ้นทั้งในขั้นตอนการผลิตและขั้นตอนก่อนบริโภค จึงเป็นสิ่งที่ควรศึกษาเนื่องจากมีผลต่อความปลอดภัย (food safety) ของผู้บริโภค

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อศึกษาผลของสารเคมีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E.coli* ในหลอดทดลองที่ถ่ายเชื้อ *E.coli* ที่ความเข้มข้น 10^9 cfu/ml และในการแช่แข็งสดหั่นชิ้นที่ถ่ายเชื้อ *E.coli* ที่ความเข้มข้น 10^7 cfu/ml ที่จัดเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 9 วัน และศึกษาผลของสารเคมีต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลบนฝรั่งหั่นชิ้นที่จัดเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 9 วัน

1.3 สมมุติฐานของการศึกษา

สมมุติฐานของการศึกษานี้คือ

1. การใช้สารเคมีได้แก่ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สารละลายกรดแอสคอบิก และ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดแอสคอบิก มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *E.coli* ในหลอดทดลอง

2. การใช้สารเคมีได้แก่ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สารละลายกรดแอสคอบิก และ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดแอสคอบิก มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *E.coli* ในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่จัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 9 วัน
3. การใช้สารเคมีได้แก่ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สารละลายกรดแอสคอบิก และ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดแอสคอบิก มีผลต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่จัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 9 วัน

1.4 ขอบเขตการศึกษา

- 1.4.1 ศึกษาผลของสารเคมีต่อการยับยั้ง *E.coli* ในหลอดทดลอง
- 1.4.2 ศึกษาผลของสารเคมีต่อการยับยั้ง *E.coli* บนฝรั่งสดหั่นชิ้น
- 1.4.3 ศึกษาผลของสารเคมีต่อการยับยั้ง การเกิดสีน้ำตาลบนฝรั่งสดหั่นชิ้น



บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 การผลิตผลไม้สดแปรรูป

การแปรรูปผักผลไม้ด้วยกระบวนการแปรรูปเบื้องต้น (Minimally Processed Fruit and Vegetables) ปัจจุบันได้รับความนิยมและพัฒนามากยิ่งขึ้นเพื่อสนองต่อความต้องการของผู้บริโภค โดยเฉพาะในสังคมเมืองที่ต้องการความรีบเร่ง การหั่น การตัด เป็นรูปแบบหนึ่งของการแปรรูปเบื้องต้น เพื่อเพิ่มความสะดวกสบาย เพื่อให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค

ประโยชน์ของการผลิตผักผลไม้แปรรูปเบื้องต้น

- 1) ได้ผักผลไม้มีคุณค่าทางอาหารและคุณภาพทางประสาทสัมผัสใกล้เคียงแบบสด
- 2) สามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น เช่น ในบรรจุภัณฑ์แบบ MAP (Modified Atmosphere Packaging)
- 3) ช่วยเพิ่มความสะดวกสบายแก่ผู้บริโภค

2.2 การหั่นตัดผักผลไม้

2.2.1 ผลการหั่นตัดผักผลไม้

ประโยชน์ของการหั่นตัด มีดังนี้คือ

- 1) เพื่ออำนวยความสะดวกให้กับผู้บริโภคและเพิ่มความรวดเร็วมากยิ่งขึ้น
- 2) ช่วยในการบรรจุให้ง่ายยิ่งขึ้น
- 3) ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค
- 4) รับประทานได้ง่ายยิ่งขึ้น
- 5) เพิ่มความสวยงาม น่ารับประทาน

ผลเสียเนื่องจากการหั่นตัด

- 1) เนื้อเยื่อของผักผลไม้ถูกรบกวน การหั่นตัดจะทำให้เนื้อเยื่อของผักผลไม้ได้รับบาดเจ็บ มีการสูญเสียของเหลวในเซลล์ (cellular fluid) ทำให้เซลล์อ่อนแอ ของเหลวในเซลล์ที่ออกมาจะประกอบด้วยเอนไซม์ที่พร้อมจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน
- 2) ทำให้อายุการเก็บรักษาลดลง

2.2.2 ผลของการหั่นชิ้นผลไม้ที่มีต่ออายุการเก็บรักษา

การหั่นชิ้น ซึ่งทำให้เกิดผลเสียในเรื่องต่างๆ ดังนี้คือ

2.2.2.1 การหายใจ เมทาบอลิซึม และการผลิตเอธิลีน

ผักผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยวจากต้นจะยังคงมีชีวิตอยู่จึงยังมีการหายใจและ เมทาบอลิซึมต่างๆ เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา ผักผลไม้แต่ละชนิดจะมีอัตราการหายใจแตกต่างกัน อัตราการหายใจจะสามารถวัดได้จากอัตราการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากเนื้อเยื่อ การหั่นตัดผักผลไม้เป็นขนาดชิ้นที่ต่างกันจะทำให้ผักมีอัตราการหายใจไม่เท่ากัน ผักผลไม้ที่ถูกตัดเป็นชิ้นเล็กๆ จะมีอัตราการหายใจ การคายน้ำ และเมทาบอลิซึมสูงกว่าผลไม้ชิ้นใหญ่ ทั้งนี้เนื่องจากการหั่นตัดจะทำให้เนื้อเยื่อของผักผลไม้ถูกรบกวน เกิดความชอกช้ำ เนื้อเยื่อของพืชเกิดบาดแผล และ โครงสร้างบางส่วนถูกทำลาย มีการสูญเสียของเหลวในเซลล์ (Priepke *et al.* 1976; Watada and Abe. 1990) ผักผลไม้ที่ยังถูกหั่นตัดมากก็จะมีอัตราการหายใจ และเมทาบอลิซึมสูงกว่าผักผลไม้ที่ถูกหั่นตัดน้อย ผักผลไม้ที่เกิดการชอกช้ำจะมีอัตราการหายใจสูงขึ้น โดยพบว่าแครอทเมื่อช้ำจะมีอัตราการหายใจเพิ่มมากขึ้นอีกถึง 5 เท่า (Hagenmaier and Baker.1998) ในมะละกอบที่ผ่านการแปรรูปเบื้องต้นพบว่า การนำเมล็ดออกและการตัดมะละกอบเป็นชิ้นเป็นการรบกวนเซลล์ทำให้เกิดบาดแผล ทำให้มีอัตราการหายใจ และอัตราการผลิตเอธิลีนสูงขึ้น (Paull and Chen.1997) ในมันฝรั่งที่ถูกปอกเปลือกและตัดเป็นชิ้นจะมีอัตราการหายใจมากกว่ามันฝรั่งที่ถูกปอกเปลือกและไม่ถูกปอกเปลือกตามลำดับ (Gunes and Lee. 1997)

นอกจากการหั่นตัดจะมีผลต่ออัตราการหายใจและเมทาบอลิซึมแล้ว ยังมีผลต่ออัตราการผลิตก๊าซเอธิลีนด้วย โดยผักผลไม้ที่ถูกหั่นตัดเป็นชิ้นเล็กๆ จะมีอัตราการผลิตก๊าซเอธิลีนเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการบาดเจ็บจากเอธิลีน (wound ethylene) (Yang.1985) พบว่าการที่พืชมีอัตราหายใจสูงขึ้นจะทำให้มีอัตราการผลิตเอธิลีนสูงขึ้นด้วย โดยถ้าพืชมีอัตราการหายใจมากจะทำให้ออกซิเจนในเซลล์มาก ซึ่งออกซิเจนเป็นสิ่งสำคัญในการสังเคราะห์เอธิลีน ดังนั้นสรุปได้ว่าการหั่นตัดผักผลไม้เป็นชิ้นเล็กๆ จะทำให้เนื้อเยื่อของผักผลไม้ได้รับความชอกช้ำ เกิดบาดแผลและโครงสร้างบางส่วนของเนื้อเยื่อถูกทำลาย

ทำให้เมทาบอลิซึมสูงขึ้น อัตราการหายใจเพิ่มขึ้น อายุการเก็บรักษาจึงสั้นลง McLachlan and Stark (1985) ศึกษาพบว่าอัตราการหายใจของผักที่ถูกหั่นตัดจะสูงกว่าผักที่ไม่ถูกหั่นตัด

2.2.2.2 ปฏิกริยาของเอนไซม์

จากที่ได้กล่าวมาแล้วว่าการหั่นตัดผักผลไม้จะทำให้เนื้อเยื่อของผักผลไม้เกิดความชอกช้ำ และบาดแผล เกิดการสูญเสียของเหลวในเซลล์ออกมาซึ่งของเหลวในเซลล์ประกอบด้วยเอนไซม์ที่พร้อมจะทำงานทำให้ง่ายต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) นอกจากนั้นบาดแผลจากการหั่นตัดจะทำให้เซลล์สัมผัสกับออกซิเจนได้เพิ่มขึ้น เช่น ปฏิกริยาการเกิดสีน้ำตาล ซึ่งทำให้คุณภาพของผักผลไม้ลดลง โดยเฉพาะในเห็ด

2.2.2.3 จุลินทรีย์

ขั้นตอนการหั่นผักผลไม้เพื่อให้ได้เป็นชิ้นตามขนาดที่ต้องการเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผักมีอายุการเก็บรักษาสั้นลง เนื่องมาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการหั่นตัด หรือจากผู้ที่ทำการหั่นตัดเอง ในสภาพปกติของผักผลไม้ที่ไม่ผ่านการหั่นตัดจะมีระบบการป้องกันการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ แต่เมื่อใดก็ตามที่ผักผลไม้ถูกหั่นตัดจะทำให้เนื้อเยื่อของผักผลไม้ ได้รับความกระทบกระเทือน และเกิดบาดแผล ทำให้ระบบการป้องกันต่างๆ ถูกทำลาย และทำให้ง่ายต่อการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ ดังนั้นทำให้ผักผลไม้ที่ถูกหั่นตัดจะมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากกว่าผักผลไม้ที่ไม่ถูกหั่นตัด มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาสลัดผักที่ 4.4 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าสลัดผักที่ถูกหั่นตัดเป็นชิ้นจะมีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่าผักที่ไม่ถูกหั่นตัด (Priepke *et al.* 1976; Wiley. 1994) ดังตารางที่ 2.1 และ 2.2

ตารางที่ 2.1 แสดงจำนวนแบคทีเรียที่พบหลังจากผ่านการหั่นแปรรูปเบื้องต้น

กระบวนการ	ชนิดของผัก	แบคทีเรียต่อกรัม $\times 10^3$	
		ก่อน	หลัง
การตัด	ข้าวโพด	180	1,300
การหั่น	ถั่วฝรั่งเสส	20	130
การสับ	ผักขม	20	120

ที่มา : Wiley (1994)

ตารางที่ 2.2 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของผักที่ไม่ผ่านการตัดและผ่านการตัดซึ่งบรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอากาศบริเวณช่องว่างเหนือบรรจุภัณฑ์เมื่อเริ่มต้น และจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4.4 °C

เวลาการจัดเก็บ วันที่	ผักกาดหอม	จำนวนจุลินทรีย์ (จำนวนหน่วยเป็นlog/g)	
		แครอท	ผักจีนฉ่าย
ไม่ผ่านการตัด			
0	5.3	4.4	5.7
2	5.6	5.7	6.6
4	6.3	6.1	6.8
6	7.5	6.5	6.9
8	7.9	7.0	7.5
10	8.6	7.4	7.9
ผ่านการตัด			
0	5.3	4.4	5.7
2	6.8	5.8	6.4
3	7.2	6.1	7.3
4	7.2	6.1	7.3
6	7.8	6.6	7.9
8	8.3	7.1	8.5
10	-	8.5	-

ที่มา : Priepke *et al.* (1976)

Garg *et al.* (1990) ศึกษาพบว่าการหั่นผักเพื่อเตรียมทำสลัดเป็นขั้นตอนหลักที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 การแก้ไขและการป้องกันผลเสียจากการหั่นตัด

การหั่นตัดเป็นขั้นตอนหนึ่งในการผลิตผักผลไม้แปรรูป แต่เนื่องจากการหั่นตัดผักผลไม้จะทำให้เนื้อเยื่อเกิดความชอกช้ำและบาดแผล ทำให้ผักผลไม้มีอัตราการหายใจสูงขึ้นและเป็นสาเหตุให้มีอายุการเก็บรักษาสั้นลง ดังนั้นจึงได้มีผู้ทำการศึกษาถึงวิธีการหั่นตัดที่เหมาะสมเพื่อให้เนื้อเยื่อของผักผลไม้เกิดความชอกช้ำน้อยที่สุด โดย Bolin (1977) ได้ทำการศึกษาถึงรูปแบบวิธีการหั่นต่างๆ ที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผักกาดหอม พบว่าการใช้มีดที่คมโดยหั่นแบบเป็นแผ่น (slice) จะให้ผลดีกว่าการหั่นแบบสับเป็นชิ้นเล็กๆ (chop) และให้ผลดีกว่าการใช้มีดที่ไม่คมหั่นเป็นแผ่นและเป็นชิ้นเล็กๆ ตามลำดับ

สรุปวิธีการป้องกันและแก้ไขผลเสียที่เกิดจากการหั่นตัด “ เพื่อให้ผักผลไม้มีอายุการเก็บรักษานานขึ้นดังนี้คือ

- 1) การใช้มีดคมในการหั่นตัดผักเพื่อให้เกิดความชอกช้ำและการสูญเสียของเหลวในเซลล์น้อยที่สุด
- 2) การใช้สารเคมีร่วมในการล้างเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นให้มีน้อยที่สุด เนื่องจากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นมีผลต่ออายุการเก็บรักษา และเพื่อลดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เช่น SO_2 สารประกอบพวกคลอรีน และ H_2O_2
- 3) การใช้รูปแบบวิธีการหั่นที่เหมาะสม เช่น การตัด การหั่นเป็นแผ่นจะให้ผลดีกว่าการหั่นแบบสับเป็นชิ้นเล็กๆ
- 4) การหั่นในขนาดที่เหมาะสม การหั่นขนาดชิ้นเล็กมากจะทำให้เกิดความชอกช้ำและอัตราการหายใจสูงกว่าการหั่นชิ้นใหญ่
- 5) ใช้อุณหภูมิต่ำเพื่อช่วยลดอัตราการหายใจ เพิ่มอายุการเก็บรักษา และคุณภาพของผักให้ดีขึ้น โดยอุณหภูมิต้องเหมาะสมไม่ทำให้เกิด chilling injury
- 6) เลือกใช้ถุงพลาสติกที่เหมาะสมกับขนาดชิ้นผัก เช่น จากการทดลองของ ปีรรัตน์ และศรีแทน (2542) พบว่าการใช้ถุงพลาสติกหนา 0.12 มิลลิเมตร จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผักหั่นพร้อมปรุงซึ่งได้แก่ กะหล่ำปลี กระบี่ และผักบุ้งได้ดีกว่าการใช้ถุงหนา 0.03 มิลลิเมตร
- 7) เก็บรักษาผักในสภาพแห้งจะช่วยให้มีอายุการเก็บรักษานานขึ้นได้

2.3 จุลชีววิทยาของผักผลไม้(สุมาลี. 2535)

ผักผลไม้มักเกิดการเสียหายหลังการเก็บเกี่ยว ในระหว่างการขนส่งจากแหล่งผลิตสู่ตลาด การจำหน่าย และการรอเข้าโรงงานเพื่อการแปรรูป ผักและผลไม้มีความแตกต่างจากอาหารอื่นๆ คือ เมื่อถูกเก็บเกี่ยวแล้วก็จะยังคงมีชีวิตอยู่เนื่องจากเนื้อเยื่อต่างๆ ของผักและผลไม้ยังคงทำงานอยู่ตลอดเวลา มีการหายใจเอาออกซิเจนไปสันดาปกับสารอินทรีย์ภายใน โดยมีเอนไซม์เป็นตัวกระตุ้น ได้พลังงานออกมาเสริมสร้างและเปลี่ยนแปลงสิ่งต่างๆ ภายในเซลล์ การหายใจของผักผลไม้จะมีการสูญเสียน้ำ ซึ่งจะทำให้น้ำหนักของผลไม้สดและผักสดลดน้อยลง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพซึ่งเป็นสาเหตุให้อ่อนแอต่อการทำลายของจุลินทรีย์เกิดการเน่าเสียได้ สภาพการเก็บผักผลไม้ก็มีความสำคัญต่อความแข็งแรงของผักผลไม้

ผักและผลไม้จะมีการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมตั้งแต่ยังอยู่ในแปลงหรือในสวน และทันทีที่ผักผลไม้ถูกเก็บเกี่ยวเพื่อนำไปจำหน่าย อาจมีการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นจากผู้ที่เกี่ยวข้องจากภาชนะบรรจุ และจากผักผลไม้ด้วยกันเอง เนื่องจากการเก็บเกี่ยวมักจะนำผักผลไม้มาใส่รวมกันในภาชนะบรรจุจนเต็ม ผักบางต้นหรือผลไม้บางผลอาจเกิดการเน่าเสียและผู้เก็บเกี่ยวมิได้คัดออกไป จึงเกิดการปนเปื้อนไปยังผักผลไม้ที่มีสภาพดีด้วย การบรรจุผักผลไม้ในภาชนะบรรจุแน่นเกินไป การโยนภาชนะบรรจุ และการทับถมกันมาก ๆ ของภาชนะบรรจุในขณะที่ขนส่งอาจทำให้ผักผลไม้ช้ำ และอ่อนแอต่อการทำลายของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมา

สำหรับผักผลไม้ที่นำไปแปรรูปอาจเกิดการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นหรือจุลินทรีย์อาจถูกขจัดออกไปเมื่อผ่านกรรมวิธีต่างๆ ในกระบวนการแปรรูป เช่น การทำความสะอาด การลวกด้วยน้ำร้อน หรือการแช่น้ำค้าง ซึ่งจะช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ การบ่มผลไม้ให้สุกอาจมีการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ การตัดแต่งผลผลิตอาจเกิดการปนเปื้อนจากเครื่องมือเครื่องใช้ที่เกี่ยวข้องได้ถ้าไม่ระมัดระวังในเรื่องความสะอาด เครื่องมือต่างๆ ที่ทำด้วยโลหะผิวเรียบจะทำความสะอาดได้ง่ายกว่าชนิดที่ทำด้วยไม้

จุลินทรีย์บนผิวของผักผลไม้ นั้น นอกจากจะเป็นพวกที่อยู่ตามธรรมชาติแล้ว ยังมีพวกที่ปนเปื้อนมาจากดินและน้ำ ในบางครั้งจะมีพวกที่เป็นสาเหตุของโรคพืชด้วย แบคทีเรียที่พบบ่อยในสกุล *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, และพวกที่เป็นสาเหตุของโรคพืช เช่น *Erwinia* และ *Xanthomonas* นอกจากนี้อาจพบราชนิดโคชนิดหนึ่งและยีสต์บางชนิดรวมอยู่ด้วย ถ้าผิวของผักผลไม้มีความชื้นมาก หรือเกิดการเสียหายจะทำให้มีการ

เจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บเกี่ยว กระบวนการผลิตและการบริโภค การควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จะสามารถลดการเจริญของจุลินทรีย์มาก การถนอมผักผลไม้ทำได้หลายวิธี ได้แก่

1. การรักษาผักผลไม้ให้ปลอดภัย เช่น เก็บเกี่ยวผักผลไม้ด้วยความระมัดระวังไม่ทำให้เกิดรอยแผล รักษาภาชนะบรรจุให้สะอาดอยู่เสมอ
2. การขจัดจุลินทรีย์ออกไปจากผักผลไม้ เช่นการทำความสะอาดก่อนนำไปเก็บ การตัดส่วนที่เสียของผักผลไม้
3. การใช้ความร้อน โดยจะช่วยในการหยุดชะงักการทำงานของเอนไซม์และยังเป็นการกำจัดจุลินทรีย์ด้วย
4. การใช้ความเย็น การเก็บผักผลไม้ไว้ในตู้เย็นหรือห้องเย็นจะทำให้ผักผลไม้สด เก็บได้นานขึ้น ทั้งนี้จะต้องควบคุมอุณหภูมิภายในห้องเก็บให้มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10°C แต่ไม่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของผักผลไม้ แต่มีข้อบกพร่องสำหรับกล้วย มะเขือเทศ ซึ่งถ้าเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5°C จะทำให้คุณลักษณะบางประการเปลี่ยนแปลงไป เช่น ทำให้เปลือกกล้วยเป็นสีดำ
5. การใช้สารเคมี มักใช้วิธีการชุบ การสเปรย์ หรือการเคลือบกระดาษที่ใช้ห่อผลไม้ สารที่ใช้เคลือบผิวของผลไม้ ได้แก่ โซโปคลอไรด์ ไบเฟนิล Sodium O-phenylphenate วัสดุที่ใช้ห่อผลไม้อาจเคลือบด้วยสารเคมีต่างๆ เช่น ไอโอดีน ซัลไฟต์ ไบเฟนิล และอื่นๆ ก๊าซที่ใช้ในการเก็บรักษาผลไม้ ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ โอโซน และเอธิลีนผสมกับสารไฮโดรคาร์บอนที่มีคลอรีนปนอยู่ ส่วนสารเคมีพวกซัลเฟอร์ไดออกไซด์และโซเดียมเบนโซเอต จะใช้ใส่ในผลไม้และผลิตภัณฑ์โดยตรงโดยใช้ในปริมาณที่กฎหมายกำหนด

ผักผลไม้มีปัจจัยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ทำให้เกิดการเน่าเสียขึ้นได้จากการเจริญเติบโตและกิจกรรมจากจุลินทรีย์เหล่านี้ ปัจจัยที่สำคัญ คือ เนื่องจากมีน้ำมาก (75-95%) และยังมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน มี pH 5-7 เป็นระดับ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยทั่วไป

คุณลักษณะของแบคทีเรียที่ส่งผลหรือมีอิทธิพลต่อการเน่าเสียมีดังนี้คือ

- 1) ความสามารถในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อพืช (plant tissue)
- 2) อัตราการเจริญเติบโต (rate of growth)
- 3) เอนไซม์ที่สามารถทำลายเนื้อเยื่อพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) การสร้างสารพิษ (toxins) ที่เป็นอันตรายต่อเซลล์พืช

แบ่งจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับผักผลไม้ได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้คือ

- 1) พวกที่เป็นโรคพืช (plant pathogenic microorganism) ที่ทำต่อต้น ใบ ดอก หรือ รากของพืช ส่งผลกระทบต่อส่วนใดส่วนหนึ่งที่ใช้เป็นอาหาร พวกนี้มักจะมีบทบาทในระยะเริ่มแรกภายหลังการเก็บเกี่ยวและสามารถทำลายทุกๆ ส่วนของพืช ส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียและราประมาณ 20 % ของผักผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวจะเสียหายเนื่องมาจากจุลินทรีย์พวกนี้
- 2) พวกเซปโทไรต์ (saprophyte) ซึ่งอาจเป็นตัวทำลายตัวที่ 2 ต่อจากการทำลายของเชื้อโรคพืช หรือเข้าไปในพืชขณะที่เกิดการเน่า (rots) หรือเจริญอยู่ที่ผิวของพืช มักมีบทบาทหรือเข้าทำลายหลังจากที่ผักและผลไม้เป็นโรคแล้วและ จะทำให้เกิดการเสียหายได้
- 3) พวกจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (pathogens) โดยปกติแล้วเป็นแบคทีเรียและส่วนใหญ่ที่พบในผักสดจะเป็น 2 กลุ่มแรก แต่จะมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคได้จากคน สัตว์ สิ่งแวดล้อม ภาชนะอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ เช่น *Staphylococcus aureus* , Coliform, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, *Shigella* เป็นต้น

ถึงแม้ว่าผักผลไม้จะมีการย่อยสลายแตกต่างกัน และมีจุลินทรีย์เข้าทำลายต่างชนิดกันก็ตาม แต่จะมีลักษณะการเสียหายแบบที่พบได้ทั่วไปและพบบ่อยกว่าแบบอื่นๆ ในผักผลไม้ ดังนี้

- 1) แบบเน่าเนื่องจากแบคทีเรีย (bacterial soft rot) มีสาเหตุจากเชื้อ *Erwinia carotovora* และสปีชีส์ใกล้เคียงซึ่งย่อยเพคติน ทำให้เกิดการเน่าและมักทำให้กลิ่นเหม็นรุนแรง
- 2) แบบเน่าเนื่องจากราสีเทา (gray mold rot) มีสาเหตุจาก *Botrytis spp.* เช่น *B. cinerea* ซึ่งมีไมซีเลียมสีเทา เจริญได้ดีในที่ที่มีอากาศอบอุ่นและมีความชื้นสัมพัทธ์สูง
- 3) แบบเน่าและเนื่องจากราขนมปัง (rhizopus soft rot) มีสาเหตุจาก *Rhizopus spp.* เช่น *R. nigricans* ทำให้เกิดการเน่าและและมีไมซีเลียมคล้ายฟูฝ้าย พร้อมจุดสีดำของสปอร์แรงเจียมคลุมบนผิวของอาหาร
- 4) แบบแอนแทรกโนส (anthracnose) มักมีสาเหตุจาก *Colletotrichum lindemuthianum* ทำให้เกิดจุดสีน้ำตาลที่ใบและผลของพืช
- 5) แบบเน่าเนื่องจาก *Alternaria* (*Alternaria rot*) มีสาเหตุจาก *Alternaria spp.* บริเวณที่เชื้อเจริญจะเริ่มมีสีน้ำตาลแกมเขียว แล้วค่อยๆ กลายเป็นสีน้ำตาลหรือดำในที่สุด

- 6) แบบเน่าเนื่องจากราสีน้ำเงิน (blue mold rot) มีสาเหตุจาก *Penicillium spp.* สีน้ำเงินออกเขียวที่เกิดในบริเวณที่เน่าจะเป็นสีของสปอร์ของรา
- 7) แบบราน้ำค้าง (Downy mildew) มีสาเหตุจากสปีชีส์ต่างๆ ของ *Phytophthora*, *Bremia*, *Peronospora*, *Plasmopara* เป็นต้น ราที่เจริญมีลักษณะเริ่มแรกเป็นจุดสีเหลืองปนเขียวเล็กๆ ทางด้านบนใบ เมื่อแผลโตขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ขณะเดียวกันที่ด้านล่างของใบจะเห็นเชื้อราสีขาว ถ้าเป็นโรครุนแรงใบจะแห้งเป็นสีน้ำตาล
- 8) แบบเน่าและเป็นน้ำ (Watery soft rot) มีสาเหตุจาก *Sclerotinia sclerotium* ซึ่งพบในฝักอยู่เสมอ
- 9) แบบโคนต้นเน่า (stem end rot) มีสาเหตุจากราชนิดต่างๆ เช่น ต่างๆ เช่น *Di-plodia*, *Phomopsis*, *Fusarium* เป็นต้น
- 10) แบบเน่าเนื่องจากราสีดำ มีสาเหตุจาก *Aspergillus niger* ซึ่งทำให้สปอร์สีน้ำตาลเข้มกับสีดำ
- 11) แบบเน่าดำ (black rot) มักมีสาเหตุจากสปีชีส์ต่างๆ ของ *Alternaria* แต่บางครั้งก็มีสาเหตุจาก *Ceratostomella*, *Physalospora* และสกุลอื่นๆ
- 12) แบบเน่าเนื่องจากราสีชมพู มีสาเหตุจาก *Trichothecium roseum*
- 13) แบบเน่าเนื่องจาก *Fusarium* (*Fusarium rot*) มีสาเหตุจาก *Fusarium spp*
- 14) แบบเน่าเนื่องจากเชื้อราสีเขียว (green mold rot) มีสาเหตุจาก *Cladosporium spp.* แต่บางครั้งก็เกิดจากราที่ให้สปอร์สีเขียว เช่น *Trichoderma*
- 15) แบบเน่าสีน้ำตาล (brown rot) มักมีสาเหตุจาก *Sclerotinia spp.*
- 16) แบบเป็นเมือกหรือมีรสเปรี้ยว (sliminess or souring) มักมีสาเหตุจากแบคทีเรียพวกที่เป็นแซบ โพรไฟต์ ซึ่งเจริญในกองผักที่เปียกชื้นและมีความร้อนสะสม

การเสียหายของผักเนื่องจากรามักจะเป็นแบบเน่าและเป็นน้ำ ในขณะที่การเสียหายของผลไม้สดเนื่องจากรามักจะเกิดสีน้ำตาลหรือครีมนในบริเวณที่มีราเจริญอยู่ใต้ผิวของผลไม้ ซึ่งไฮฟีและสปอร์จะปรากฏให้ภายหลังการเสียหายเนื่องจากราบางแบบจะมีลักษณะแห้ง แข็งและมีสีเปลี่ยนไป การเน่าของผลไม้ที่มีน้ำมากมักจะทำให้ผลไม้แตก

การทราบส่วนประกอบของผักผลไม้ จะทำให้สามารถทำนายได้ว่าจะเกิดการเสียหายแบบใด เช่น ในผักซึ่งมีพีเอชเป็นกลางมักจะเน่าและเน่าเนื่องจากแบคทีเรีย ในขณะที่ไม่พบการเสียหายแบบนี้ในผลไม้ซึ่งมีความเป็นกรดสูง ผักและผลไม้ที่เป็นกรด มักมีผิวค่อนข้างแห้งและไม่มียูวีการเสียหายส่วนใหญ่จึงมักมีรา

เป็นสาเหตุและชนิดของจุลินทรีย์ที่เข้าทำลายจะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของผักและผลไม้ ดังนั้น จึงมักพบว่าผักและผลไม้บางชนิดจะมีจุลินทรีย์เข้าทำลายได้หลายชนิดขณะที่บางชนิดมีจุลินทรีย์เข้าทำลายได้เพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น

เช่นเดียวกันการเข้าไปภายในผักและผลไม้ของจุลินทรีย์ ก็มีความสำคัญต่อโอกาสและแบบของการเสียหายที่เกิดขึ้น ผักและผลไม้ที่เป็นโรคและไม่ได้รับการเอาใจใส่จะทำให้จุลินทรีย์เข้าไปภายในได้ง่ายขึ้น ตำแหน่งของส่วนของพืชที่นำมาใช้ประโยชน์ก็มีความสำคัญ เช่น ส่วนที่อยู่ใต้ดิน ได้แก่ หัวผักกาด มันสำปะหลัง แครอท และมันฝรั่ง เป็นต้น จะเป็นส่วนที่สัมผัสโดยตรงกับดินที่เปียกชื้นและจะมีการเข้าทำลายโดยจุลินทรีย์ดินได้ง่าย ผลไม้ต่างๆ เช่น สตรอเบอร์รี่ แดง พริกไทย จะอยู่ติดกับผิวดิน ส่วนใบ ต้น และดอกของพืชหลายชนิด เช่น กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี บลอคโคลี จะมีการปนเปื้อนกับเชื้อโรคพืช หรือมีนก และแมลงมากัดทำให้เกิดความเสียหายอยู่เสมอ

ลักษณะการเสียหายจะขึ้นอยู่กับผลผลิตที่ถูกทำลายและเชื้อที่เข้าทำลาย ถ้าผักและผลไม้มีลักษณะอ่อนนุ่มและฉ่ำน้ำ การเน่าก็จะมีน้ำอยู่ด้วยทำให้มีลักษณะเละและเกิดการแตกร่วน อย่างไรก็ตามมีจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสียหายบางชนิดทำให้เกิดการเสียหายแบบแห้ง และเหนียวคล้ายหนังสัตว์และมีสีเปลี่ยนไปจากเดิม ผลไม้บางชนิดจะเกิดการเสียหายที่มีลักษณะเป็นจุดซึ่งเป็นตำแหน่งที่ไม่ซีเลียมของราเจริญที่ได้ผิว และบางชนิดจะมีการเจริญของไมซีเลียมที่ผิวนอกของผล และมีสีที่เกิดจากการสร้างสปอร์ต่างๆ

การวิเคราะห์แบบของการเสียหายในผักและผลไม้จะช่วยในการตัดสินใจใช้วิธีการใดในการป้องกันการเสียหาย

2.4 *Escherichia coli*

2.4.1 ความสำคัญของ *E.coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียที่อยู่ใน แฟมิลี Enterobacteriaceae เป็นเชื้อประจำถิ่นพบในธรรมชาติบริเวณลำไส้ตอนปลายและลำไส้ใหญ่ทั้งของคนและสัตว์เลื้อยคู้ *E.coli* เป็นหนึ่งในชนิดของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (Pathogenic bacteria) แต่ละชนิดมีลักษณะที่แตกต่างกันในด้านพยาธิสภาพ การเกิดโรคคุณสมบัติเฉพาะด้านความรุนแรงของเชื้อ และลักษณะพิเศษตาม O : H Serotypes ในบางกรณีอาจมีความแตกต่างในกลุ่มอาการคลินิกและลักษณะทางระบาดวิทยา

เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการเจ็บป่วยของมนุษย์ หากมีการปนเปื้อนในอาหารที่บริโภค ซึ่งในบางสายพันธุ์ เช่น *E.coli* O157:H7 มีความรุนแรงถึงชีวิตได้ ดังนั้นจึงเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการศึกษาด้านความปลอดภัยของอาหาร (Food safety) โดยพบการระบาดครั้งแรกของ *E.coli*

O157:H7 ในประเทศสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1982 ณ รัฐโอเรกอน และรัฐมิชิแกน พบผู้ป่วยจากการบริโภคเนื้อในแฮมเบอร์เกอร์ที่ปรุงไม่สุก สามารถแยก *E.coli* ซีโรไทป์ O157:H7 จากเนื้อดิบคัตที่ผลิตจากโรงงานเดียวกันกับตัวอย่างเนื้อที่ทำให้เกิดโรคระบาด และสามารถยืนยันว่าแบคทีเรียชนิดนี้เป็นต้นเหตุของโรคจริง จากการแยกแบคทีเรียสายพันธุ์นี้จากอุจจาระของผู้ป่วยซึ่งบริโภคอาหารที่เป็นพาหะนี้ (Doyle *et al.* 1997)

การระบาดครั้งต่อมาเกิดขึ้นในปี ค.ศ. 1993 เป็นการระบาดครั้งใหญ่เกิดขึ้นใน 4 รัฐ คือ รัฐวอชิงตัน ไอดาโฮ แคลิฟอร์เนีย และเนวาดา ประเทศสหรัฐอเมริกา อาหารที่เป็นพาหะของโรคคือเนื้อในแฮมเบอร์เกอร์ที่ปรุงไม่สุกเช่นกัน พบว่าในระหว่างการให้ความร้อนนั้น อุณหภูมิภายในเนื้อต่ำกว่าอุณหภูมิที่รัฐกำหนด (กล่าวคือ ต่ำกว่า 155 ° F หรือ 68.3 ° C) ที่อุณหภูมิของเนื้อดังกล่าวพบว่าไม่สามารถทำลายแบคทีเรียชนิดนี้ นอกจากนี้ยังพบว่าคนเป็นพาหะของโรคได้ด้วยเนื่องจากพบว่า โรคอาจระบาดได้จากการติดต่อจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกบุคคลหนึ่ง การระบาดครั้งใหญ่นี้มีผู้ป่วยทั้งหมด 731 ราย มีผู้เสียชีวิตถึง 4 ราย จากเหตุการณ์ครั้งนี้ทำให้ตระหนักว่า แบคทีเรีย *E.coli* O157:H7 เป็นเชื้อโรคที่อันตราย ทำให้คนเสียชีวิตได้ แม้จะได้รับเชลล์เข้าไปในปริมาณน้อย จึงมีการตื่นตัวเกี่ยวกับการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดนี้ในอาหาร เป็นผลให้มีการควบคุมคุณภาพทางจุลินทรีย์ของอาหารอย่างเข้มงวด และเข้มงวดต่อการปฏิบัติสุขลักษณะของกระบวนการผลิตอาหารมากยิ่งขึ้น รวมทั้งกำหนดการตรวจสอบ *E.coli* O157:H7 ในอาหารบางชนิด เช่น เนื้อวัวคัตเพื่อป้องกันการระบาดของโรค และเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค (Doyle *et al.* 1997)

2.4.2 ชนิดของ *E.coli*

ชนิดของ *E.coli* ที่ทำให้เกิดโรคแบ่งได้ 5 ชนิด ดังนี้ คือ

- 1) Enterotoxigenic *E.coli* (ETEC)
- 2) Enteropathogenic *E.coli* (EPEC)
- 3) Enteroinvasive *E.coli* (EIEC)
- 4) Enteroaggregative *E.coli* (EaggEC)
- 5) Enterohemorrhagic *E.coli* (EHEC)

2.5 อิทธิพลของกรดอินทรีย์ต่อความสามารถในการเจริญของ *E.coli*

กรดอินทรีย์ที่พบในอาหารหลายชนิด อาจเกิดจากกระบวนการหมัก หรือจากการเติมกรดอินทรีย์เหล่านี้ลงไปโดยตรง กรดอินทรีย์ส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย Cutter and Siragusa (1994) รายงานว่า การเติมกรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดซิตริก ที่ความเข้มข้น 1% , 3% และ 5% (ค่าความเป็นกรด-ด่าง ≥ 4) สามารถลดจำนวน *E.coli* O157:H7 บนเนื้อวัวดิบได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ได้ภายใน 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม คณะวิจัยกลุ่มนี้ได้สรุปว่าการรอดชีวิตของแบคทีเรียชนิดนี้ในอาหารนั้นไม่เพียงขึ้นกับชนิดของกรดและชนิดของอาหาร ยังขึ้นกับอุณหภูมิที่เพาะเลี้ยง หรืออุณหภูมิการเก็บรักษาอาหารนั้นด้วย

Davidson (1997) กล่าวว่าประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการทำลายจุลินทรีย์จะสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่าง กรดในรูปแบบไม่แตกตัวมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ ดังนั้นประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์จึงขึ้นกับค่าคงที่การแตกตัวของกรด (pK_a) และค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายภายนอกเซลล์ (Adams and Hall, 1988) กรดอินทรีย์จะมีประสิทธิภาพมากที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าค่าคงที่การแตกตัว (ค่าคงที่การแตกตัวคือ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่โมเลกุลของกรดอยู่ในรูปไม่แตกตัว 50%) หากเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่าง 1 หน่วย จะลดความเข้มข้นของกรดที่ไม่แตกตัว 90% จึงเป็นการลดความสามารถในการทำลายของจุลินทรีย์ (Harrigan and Park, 1991) ดังนั้นการเลือกใช้กรดอินทรีย์จึงจำเป็นต้องกำหนดให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายให้สัมพันธ์กับค่าคงที่การแตกตัวของกรด

สำหรับกลไกของกรดอินทรีย์ในการยับยั้งจุลินทรีย์นั้น Adams and Hall (1988) ได้อธิบายไว้ว่าความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์เป็นผลมาจากคุณสมบัติการเป็น lipophilic ของโมเลกุลกรดที่ไม่แตกตัว จึงสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มของเซลล์แบคทีเรีย โดยปกติสารละลายในไซโตพลาสซึมมีความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าสารละลายภายนอกเซลล์ ดังนั้นกรดที่แพร่เข้าไปภายในเซลล์จึงแตกตัวปล่อยโปรตอนจับกับเบส ขัดขวางแรงขับเคลื่อนโปรตอนของผนังเซลล์ (proton-motive force) ทำให้ไม่สามารถสร้างพลังงาน ขัดขวางการส่งผ่านสารเข้าออกเซลล์ และไม่สามารถดำเนินกระบวนการปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกี่ยวข้องได้ นอกจากนี้กรดอินทรีย์จะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยตรง โดยทำให้เซลล์มีความเป็นกรด เซลล์จึงต้องใช้พลังงานเพื่อรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างให้สมดุล การเติมกรดจึงมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ และระบบการขนส่งสัตเตรทของเซลล์

2.5.1 กลไกของการปรับสภาพเซลล์แบคทีเรียต่อสภาวะความเป็นกรด

ในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารจะต้องผ่านสภาวะเครียด (stress) ต่างๆ มากมายจึงทำให้จุลินทรีย์บางชนิดตายไป แต่บางชนิดสามารถปรับตัวทนต่อสภาพเครียดนั้น ๆ ได้ เซลล์ปรับตัว (adapted cell) สามารถรอดชีวิต เพิ่มจำนวนในอาหารที่เก็บในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย และเมื่อเพิ่มจำนวนจะก่อให้เกิดโรคได้เมื่อบริโภคอาหารนั้น หรือทำให้อาหารเน่าเสียได้

สภาวะเครียดในที่นี้จะเน้นเฉพาะการเผชิญของแบคทีเรียต่อสภาวะการเพิ่มของปริมาณกรด (acid stress) ซึ่งอาจเกิดจากการเติมกรดในกระบวนการผลิต หรือปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการหมักอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ การเติมกรดโดยตรงหรือการหมักเป็นการยืดอายุการเก็บอาหารโดยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เป็นวิธีดั้งเดิมที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร แต่ปริมาณของกรดที่เพิ่มหรือเติมลงในอาหารนั้น บางครั้งยังมีปริมาณไม่มากพอที่จะทำให้จุลินทรีย์ตายทันที กรดอาจกระตุ้นและทำให้จุลินทรีย์นั้นเกิดการปรับตัว (adaptation) สร้างสภาวะ Acid Tolerance Response (ATR) (Foster and Hall.1990) สภาวะกรดปริมาณต่ำดังกล่าวจะกระตุ้นทำให้แบคทีเรียสามารถสร้างกลไกด้านทานภาวะเครียดบางอย่างในเซลล์ และทนต่อความเข้มข้นของกรดที่เพิ่มขึ้น และอย่างยิ่งทนต่อสภาพเครียดอื่นๆ ได้แก่ ความร้อน การฆ่าเชื้อ หรือรังสี และหากจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตนั้นเป็นชนิดที่สามารถก่อให้เกิดโรคเนื่องจากอาหารเป็นพาหะก็จะเป็นการเพิ่มโอกาสเสี่ยงที่จะทำให้เกิดโรคเนื่องจากการบริโภคอาหาร

นอกเหนือจากความสามารถในการปรับสภาพเซลล์ของแบคทีเรียดังกล่าวแล้ว พบว่าเซลล์มีกลไกการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ตามธรรมชาติ เรียกว่า pH homeostasis เป็นกระบวนการที่สำคัญในการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างภายนอกเซลล์ (pH_o) จุลินทรีย์จะใช้กลไกของ pH homeostasis ควบคุมระดับค่าความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ (pH_i) โดยปกติแล้วจุลินทรีย์จะดูแลรักษาสภาพภายในเซลล์ให้เป็นกลางมากที่สุด โดย primary cellular proton pumps จะทำหน้าที่ควบคุม pH_i โดยการควบคุมระบบ K^+ /proton และระบบ Na^+ /proton antiport เพื่อรักษาสภาพ pH_i ให้ใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างปกติของเซลล์ (Foster and Hall.1991)

นอกจากกลไกการควบคุมความเป็นกรด-ด่าง ภายในเซลล์ที่เรียกว่า pH homeostasis แล้วการตอบสนองทางระบบพันธุกรรมซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติในเซลล์ซึ่งมิใช่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรม (mutation) ก็สามารถป้องกันจุลินทรีย์จากสภาพกรด กระบวนการตอบสนองนี้คือ Acid Tolerance Response (ATR) พบว่าเซลล์แบคทีเรียบางชนิดที่ถูกกระตุ้น โดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์ที่ความเป็นกรด-ด่าง 5.0-6.0 เป็นระยะเวลาสั้นๆ จะสามารถป้องกันปริมาณกรดที่เพิ่มสูงขึ้นที่ความเป็นกรด-ด่าง 3-4 ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่มีได้ถูกกระตุ้น หรือเซลล์ที่มีได้เพาะเลี้ยงที่ความเป็นกรด-ด่าง 5-6 เรียกอีกอย่าง

หนึ่งว่า พวก Non adaptive cell เซลล์กลุ่มหลังนี้จะตายเมื่อเผชิญกับปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น (Foster and Hall.1990) แบคทีเรียที่แสดงปรากฏการณ์ของ ATR เช่นนี้มีได้ปรากฏในทุกสายพันธุ์ สายพันธุ์ ที่แสดงปรากฏการณ์ ATR ได้แก่ *Salmonella Typhimurium* (Foster and Hall. 1991), *E.coli* (Leyer et al. 1995), *E.coli* O157:H7 (Tsai and Ingham, 1997) และ *Listeria monocytogenes* (Lou and Yousef. 1996)

Foster (1993) ได้รายงานว่ กระบวนการ ATR นั้นประกอบด้วย 2 ขั้นตอนในขั้นแรกเรียกว่า "pre-acid shock" เซลล์จะถูกชักนำโดยการเพาะเลี้ยงที่ความเป็นกรด-ด่าง 5.0-6.0 ดังนั้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่างภายนอกเซลล์ (pH_o) pH_i ก็เริ่มเปลี่ยนแปลง ระบบ pH homeostasis จะเริ่มทำงาน ระบบนี้สามารถทำหน้าที่ได้ดีเมื่อ pH_o มีค่าไม่ต่ำมาก ระบบจะพยายามปรับ pH_i แต่เมื่อความแตกต่างของ pH_o และ pH_i มากกว่า 1.5 หน่วย ระบบ pH homeostasis จะหยุดทำงาน เมื่อย้ายเซลล์มาที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.5 หรือต่ำกว่าจะมีกลไกต่อมาในการปรับตัวของเซลล์ต่อสภาวะกรด เรียกขั้นตอนนี้ว่า "post-acid shock" ขั้นตอนนี้จะมีการสร้าง Acid Shock Proteins (ASPs) ภายในเซลล์ ซึ่งโปรตีนพิเศษกลุ่มนี้ เชื่อว่าจะทำหน้าที่ป้องกันหรือซ่อมแซมโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน หรือเอนไซม์ในเซลล์ ที่ถูกทำลายจากกรด โดยลดการเสียดสภาพของโปรตีน ที่ถูกทำลายจากกรด โปรตีนพิเศษกลุ่มนี้จะทำหน้าที่ที่เรียกว่า Chaperon มีหน้าที่หลักคือ ช่วยการม้วนตัวกลับของโครงสร้างโปรตีนที่เสียดสภาพ หรือ refolding ให้กลับสู่สภาพเดิม โปรตีนจึงสามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ โปรตีนชนิดพิเศษนี้ยังอาจช่วยทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ protease ช่วยทำลายโปรตีนของเซลล์ที่เสียดสภาพจนไม่สามารถคืนสู่สภาพปกติได้ โดยย่อยโปรตีนเสียดสภาพดังกล่าวให้เป็นเปปไทด์ เพื่อมิให้ขัดขวางการทำงานของเซลล์ ATR ทั้ง 2 ขั้นตอน คือ "pre-acid shock" และ "post-acid shock" จะทำงานร่วมกันและสามารถป้องกันเซลล์แบคทีเรียที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำได้

เซลล์ยังมีอีกกระบวนการหนึ่งซึ่งเรียกว่า Acid Shock Response (ASR) ซึ่งจะชักนำเซลล์เมื่อถูกเพาะเลี้ยงที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำมากในช่วงเวลาสั้นๆ เช่น ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.3 เป็นเวลา 15 นาที กระบวนการนี้ทำให้เซลล์รอดชีวิตได้ในสภาพค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ระดับต่ำมาก เช่น ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.3 (Foster.1991) อย่างไรก็ตามเนื่องจากระบบ ATR และ ASR นั้นเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนชนิดพิเศษขึ้นภายในเซลล์ เนื่องจากพบว่าทั้งสองระบบจะถูกยับยั้งโดยสารยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน เช่น คลอแรมฟินิคอล (Chloramphenical) ซึ่งเติมลงไปในระหว่างการเพาะเลี้ยงเซลล์ ซึ่งแสดงว่ามีการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการทนกรดของแบคทีเรียจริง (Foster.1991)

2.6 การลดปริมาณจุลินทรีย์โดยการล้างด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ผักผลไม้ที่ผ่านการแปรรูปเบื้องต้นมักจะเสื่อมเสียได้ง่าย และอาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Salmonella* และ *Listeria* (Bracket. 1992 ; Fain. 1996) ปัจจุบันมีผู้ทำการวิจัยในการนำ H₂O₂ มาใช้ทั้งในรูปแบบที่เป็นไอและในรูปของสารละลาย เพื่อใช้ล้างผักผลไม้ต่างๆ ที่ผ่านการคัด

H₂O₂ เป็นสารที่ได้รับการยอมรับว่าปลอดภัย (generally recognized by experts as safe) ในการใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อเป็นสารฟอกสี (blanching agent) oxidizing agent และสารฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ การใช้สารละลาย H₂O₂ 5 % นาน 30 วินาที ในการล้างเห็ดเพื่อลดปัญหาการเกิดสีน้ำตาล หรือสีม่วงในเห็ดระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเกิดจาก *Pseudomonas tolaasii* (Guthrie and Beelmam. 1989 ; Rainey *et al.* 1992) ประสิทธิภาพของ H₂O₂ ขึ้นกับความสามารถในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (lethality) ของ H₂O₂ และการเกิดฟองออกซิเจนจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) และ H₂O₂ ซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการชะล้างดินและแบคทีเรียออกจากผิวของเห็ด Sapers and Simmon (1998) เปรียบเทียบสารละลาย H₂O₂ 5 % กับสารละลายคลอรีน 50 ppm. ในการล้างแคนตาลูป 2 นาที พบว่า H₂O₂ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา 14 วัน ขณะที่คลอรีนช่วยยืดอายุได้ 9 วัน และการล้างน้ำธรรมดาช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ 7 วัน ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงการยืดอายุของผลิตภัณฑ์สดหั่นชิ้น โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับคลอรีน

ตัวอย่าง	วิธีหมัก	จำนวนวันที่ 4 °C	
		การเสื่อมเสียเล็กน้อย ^c	การเสื่อมเสียแบบรุนแรง ^d
Zucchini หั่นขวาง ^a	ไม่ใช้	7	8
	คลอรีน 200 ppm 2 นาที	7	8
	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 5% 2 นาที	8	11
แคนตาลูปลูกเต๋ ^b	ไม่ใช้	7	11
	คลอรีน 50 ppm 2 นาที	9	11
	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 5% 2 นาที	14	>15

ที่มา : Sapers and Simmons (1998)

^aถูกทรีทก่อนนำไปตัด

^bล้างทิ้งถูกด้วยน้ำคลอรีนเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม ก่อนหั่นแล้วทรีทขึ้นลูกเต๋าล้างการตัดแล้วโดยแช่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

^cโคโลนีเล็กๆที่เป็นจุดเปียก

^dโคโลนี เชื้อรา มีกลิ่นผิดปกติ

ข้อดีของการใช้ H_2O_2 มีดังนี้คือ

- 1) ใช้ได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว
- 2) ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายชนิด
- 3) มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูง ใช้ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ก็สามารถทำลายเชื้อได้
- 4) มีความเข้มข้นที่ใช้ค่อนข้างต่ำ จึงไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร
- 5) ไม่มีผลตกค้าง เนื่องจากจะสลายตัวไปโดยการทำให้ปฏิกิริยากับเอนไซม์อะเลส
- 6) ง่ายต่อการนำไปประยุกต์ใช้ทางการค้า
- 7) มีผลต่อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย

ข้อเสียของการใช้ H_2O_2 มีดังนี้คือ

- 1) ใช้ที่ความเข้มข้นสูงๆ และเวลานานๆ จะทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเปลี่ยนแปลงสี รส และคุณค่าทางอาหารได้ เช่น เกิดเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น สตรอเบอร์รี่ และราสเบอร์รี่สีซีดลง

มีการศึกษาเพื่อใช้ H_2O_2 ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผักผลไม้ (Honday. 1988) ใช้ควบคุมการเน่าเสียของงุ่น (Rji and Forney. 1995) ใช้ในการล้างเห็ด (McConnell. 1991 ; Sapers *et al.* 1994) ใช้ยืดอายุการเก็บรักษาสลัดผัก ผลเบอร์รี่ (Sapers *et al.* 1995) นอกจากนี้มีการใช้ในรูปแบบที่เป็นไอเพื่อเป็นสารฆ่าเชื้อกับอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการผลิตยา (Klapes and Vesley. 1990) ใช้กับระบบการบรรจุแบบปลอดเชื้อ (aseptic packaging systems) และ ใช้กับวัสดุที่ใช้ในการบรรจุ (Wang and Toledo. 1986)

Forney *et al.* (1991) ศึกษาการใช้ไอของ H_2O_2 30-35 % ที่ $40^\circ C$ นาน 10 นาที กับผลองุ่นที่มีเชื้อ *Botrytis cinera* พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อและช่วยลดการเน่าเสียขององุ่นได้ ทำนองเดียวกับการศึกษาของ Rji and Forney (1995) ได้รายงานการใช้ไอของ H_2O_2 0.27 mg./L ว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ของ *Botrytis* โดยไม่ทำให้เกิดผลเสียใดๆ กับองุ่น

Simmons *et al.* (1995) ทดสอบการใช้ไอของ H_2O_2 3 mg./L ของอากาศนาน 60 นาทีกับผลแคนตาลูป เปรียบเทียบกับการล้างด้วยสารละลายไฮโปคลอไรต์ 225 ppm. และเทียบกับการล้างด้วยน้ำธรรมดา พบว่าการใช้ไอของ H_2O_2 มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์และช่วยให้แคนตาลูปมีอายุการเก็บรักษานานถึง 4 สัปดาห์ที่ $2^\circ C$ โดยไม่ทำให้เกิดความผิดปกติกับผลแคนตาลูป

Simmons *et al.* (1997) ทดลองใช้ไอของ H_2O_2 3 mg./L ของอากาศนาน 10 นาที ร่วมกับโพแทสเซียมซอร์เบท (potassium sorbate) เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาพรุณ

Sapers *et al.* (1995) ศึกษาการนำไอของ H_2O_2 มาฉีดพ่นผักผลไม้หลายชนิดโดยใช้อัตราการฉีดพ่น 2.5-5 g. ของ H_2O_2 ต่อนาที นาน 2-15 นาที

Venkitanarayanan *et al.* (2002) ศึกษาวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการยับยั้งหรือลด *E.coli* O157:H7, *Salmonella Enteritidis* และ *Listeria monocytogenes* บนแอปเปิ้ล ส้ม และมะเขือเทศ ซึ่งมีการถ่ายเชื้อแบบเป็นจุดบน แอปเปิ้ล ส้ม และมะเขือเทศ ด้วยจุลินทรีย์ผสม 5 สายพันธุ์ของ *E.coli* O157:H7, *Salmonella Enteritidis* และ *Listeria monocytogenes* ใกล้เคียงกับก้านและจุ่มในน้ำปลอดเชื้อ (sterile deionized water) ที่ประกอบด้วยกรดแลคติก 1.5 % ผสมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที ที่ $40^\circ C$ ตัวอย่างที่ถูกถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ถูก ทริทด้วยน้ำปลอดเชื้อที่อุณหภูมิเดียวกันและระยะเวลาเหมือนกันเป็นชุดควบคุม จุลินทรีย์ก่อโรคนบนผลไม้ที่ถูกทริทด้วยสารละลายเคมีจะลดลงมากกว่า $5 \log_{10}$ cfu/ผล ในขณะที่น้ำปลอดเชื้อลดจุลินทรีย์ก่อโรคได้เพียง $1.5-2.0 \log_{10}$ cfu/ผล

Bailey *et al.* (1999) ศึกษาการใช้สารละลายแลคติก 1.5 % ร่วมกับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % 15 นาที ที่ $40^\circ C$ ในการลด *E.coli* O157:H7 ในผักกาดหอม แอปเปิ้ลและส้ม โดยสามารถลด *E.coli* O157:H7 ของส่วนใบลง $3.5 \log_{10}$ cfu /ใบ $5 \log_{10}$ cfu /ผล และลด *Salmonella Enteritidis* ส่วนใบลง $3 \log_{10}$ cfu /ใบ $4-5 \log_{10}$ cfu /ผล และลด *Listeria monocytogenes* ลง $2 \log_{10}$ cfu /ใบ $3.5-4 \log_{10}$ cfu/ผล จากการประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัสพบว่าแอปเปิ้ลและส้มที่แช่ในสารละลายกรดแลคติก 1.5 % และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5% เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ $40^\circ C$ ให้ผลดีกว่าผักกาดหอม โดยผักกาดหอมต้อง ใช้ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า ($20^\circ C$) และใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่า (2 %) กับกรดแลคติก 1.5 % ในเวลาสั้นกว่า (5 นาที)

2.7 หลักการป้องกันและยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล

การเกิดสีน้ำตาล (Browning) เป็นการเสื่อมเสียที่สำคัญของผักผลไม้ นอกเหนือจากการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์ ซึ่งการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้ มักเกิดจากเอนไซม์ (Enzymatic browning)

หลักในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์คือการกำจัดออกซิเจนและการชะงักการทำงานของเอนไซม์โดยการใช้ความร้อนหรือสารเคมีซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

2.7.1 การกำจัดออกซิเจน

วิธีการที่ใช้ได้แก่ การทำให้เกิดสูญญากาศหรือการใช้ก๊าซเฉื่อย (Heimann, 1980) และการลดออกซิเจนในบรรยากาศรอบๆ ผัก - ผลไม้ โดยการบรรจุหีบห่อแบบดัดแปลงบรรยากาศ (Modified Atmosphere Packaging) การดัดแปลงบรรยากาศนี้ สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ แต่ถ้ากำจัดออกซิเจนออกมากเกินไป ก็จะก่อให้เกิดความเสียหายอันเนื่องมาจากการเกิดเมตาบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งนำไปสู่การเกิดกลิ่นรสที่ผิดปกติและการเน่าเสียในที่สุด ดังนั้นจึงมีการเจาะรูภาชนะบรรจุเพื่อให้อากาศเข้าได้บางส่วน โดยเฉพาะกับผักผลไม้ที่มีอัตราการหายใจสูง (Sacharow and Griffin, 1980)

2.7.2 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

การเกิดสีน้ำตาลจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังที่เซลล์พืชถูกทำลายจากการปอกเปลือกหรือจากการหั่นตัดแต่ง โดยเมื่อเนื้อเยื่อเซลล์พืชถูกทำลายจะทำให้เอนไซม์และสับสเตรท (Substrate) รวมตัวกันอย่างรวดเร็ว (Robinson, 1987) การเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ประกอบด้วยการทำปฏิกิริยากันระหว่างองค์ประกอบ 3 อย่าง คือ ออกซิเจน เอนไซม์ และสับสเตรท ถ้าขาดปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งจะไม่เกิดปฏิกิริยาขึ้น (Heimann, 1980) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยานี้คือ โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenoloxidase, PPO) (McEvily *et al.* 1991) ในปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยา 2 แบบ คือ ปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxylation) ให้สารประกอบโมโนฟีนอลได้เป็นสารอโท-ไดฟีนอล (O-Diphenols) ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรจีนชัน (Dehydrogenation) ต่อไปได้เป็นอโท-ควิโนน (O-quinones) สารควิโนนที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนแปลงและทำปฏิกิริยากันต่อไปกับสารประกอบฟีนอล กรดอะมิโน และสารอื่นๆ โดยไม่ใช้เอนไซม์ ได้เมลานิน (Melanin) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายซึ่งเป็นสารที่มีสีน้ำตาลดำ

2.7.3 การใช้สารเคมี

เนื่องจากเอนไซม์ส่วนใหญ่ไม่ทนความร้อน ดังนั้นหลักในการยับยั้งเอนไซม์อีกวิธีหนึ่งคือการใช้ความร้อนหรือสารเคมี แต่การใช้ความร้อนนั้นไม่เหมาะสมที่จะใช้กับผักผลไม้สดเนื่องจากจำเป็นต้องใช้ความร้อนสูงซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร (McEvily *et al.* 1991) วิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือการใช้สารเคมี โดยชนิดของสารเคมีที่ใช้และผลต่อเอนไซม์มีดังนี้

1. กลุ่มสารซัลไฟต์ (Sulfiting agent)

เป็นสารที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีผลยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลทั้งจากปฏิกิริยาที่ใช้และไม่ใช้เอนไซม์ รวมทั้งมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ ในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลซัลไฟต์จะทำปฏิกิริยากับสารตัวกลางคือควิโนน ได้เป็น ซัลโฟควิโนน (Sulphoquinone) ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องไปเป็นสารสีน้ำตาล (Zawistowski *et al.* 1991) หรือ โดยการรีดิวซ์ออกโท-ควิโนน ไปเป็น โมโน และ/หรือ ไดฟีนอล (McEvily *et al.* 1991) แม้ว่าซัลไฟต์จะเป็นสารที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส แต่ปัจจุบันได้มีการพิจารณาทบทวนการใช้สารนี้ใหม่เนื่องจากพบว่าก่อให้เกิดอันตรายในหมู่คนที่ เป็นโรคหอบหืดที่เกี่ยวข้องกับสเตอรอยด์ (Steroid-dependent asthmatics) จำนวนหนึ่ง โดยในปี 1987 สำนักงานอาหารและยา (Food and Drug Administration, FDA) ได้รับรายงานว่ามีผู้เสียชีวิตเนื่องจากสารนี้กว่า 20 ราย เป็นผลให้มีการประกาศห้ามใช้ซัลไฟต์ในผักผลไม้ดิบที่ต้องการบริโภคในสหรัฐอเมริกา (Davidson and Juneja. 1990)

2. สารที่มีสมบัติในการจับโลหะ (Chelating agent)

เนื่องจากทองแดงเป็นโลหะที่จำเป็นต่อการทำงานของโพลีฟีนอลออกซิเดส ดังนั้นถ้าสามารถกำจัดทองแดงออกไป ก็สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ สารเคมีที่ใช้ได้แก่ โซดาไนต์ คาร์บอนมอนนอกไซด์ โทรโพลอน (Tropolone) เอไซด์ (Azide) โพตัสเซียมเมทิลแซนเธเรต (Potassium methyl xanthate) โซเดียมไดเอทิลไดไทโอคาร์บารเบต (Sodium diethyl dithiocarbamate) และเอทิลีนไดอะมีนเตตระอะซิติก (Ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA) เป็นต้น

3. กรดแอสคอบิกและอนุพันธ์

เป็นทางเลือกแรกในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเป็นสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติในผักผลไม้ กรดแอสคอบิกสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ 2 วิธี คือ 1) การเกิดปฏิกิริยากับควิโนนโดยกรดแอสคอบิกจะรีดิวซ์ควิโนนให้กลับไปเป็นฟีนอลตามเดิมก่อนที่ควิโนนจะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสาร

สีน้ำตาล (Zawistowski *et al.* 1991) โดยการยับยั้งเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสโดยผ่านทางกรเกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ไปปิด Active site ของเอนไซม์ (Zawistowski *et al.* 1991) อย่างไรก็ตามกรดแอสคอบิกและไอโซเมอร์ของมันคือกรดอิริทอร์บิก ก็มีประสิทธิภาพน้อยกว่าซัลไฟต์เนื่องจากไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปในเซลล์ได้ดีและกรดแอสคอบิกยังถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ภายในเซลล์ได้ง่าย หรือเกิดออกซิเดชันโดยมีเหล็กหรือทองแดงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เมื่อเกิดการออกซิไดซ์โดยปฏิกิริยาเหล่านี้ทำให้กรดแอสคอบิกซึ่งทำหน้าที่เป็นโปรออกซิเดชันเองก็สามารถเกิดปฏิกิริยาให้สีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์ได้ แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ กรดแอสคอบิกสามารถยับยั้งการทำงานของโพลีฟีนอลออกซิเดสได้ สำหรับกรดอิริทอร์บิกนั้นจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายกว่ากรดแอสคอบิกมาก (Sapers *et al.* 1989) พบว่า Ascorbic acid-2-phosphate และ Ascorbic acid-2-triphosphate สามารถต้านทานต่อออกซิเจนได้ดีโดยมีความคงทนต่อการออกซิเดชันโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดีกว่ากรดแอสคอบิกและเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ฟอสฟาเทสจะให้กรดแอสคอบิก (Seib and Liao, 1987) Ponting *et al.* (1972) ได้ศึกษาการใช้กรดแอสคอบิก แคลเซียม และซัลไฟต์ในการรักษาคุณภาพด้านสี กลิ่นรสและลักษณะเนื้อสัมผัสของชีนแอ์เปิ้ลโดยบรรจุในถุงโพลีเอสเตอร์และเก็บรักษาที่ 34 ° F พบว่าคุณภาพแอ์เปิ้ลดีที่สุดเมื่อใช้สารละลายผสมของกรดแอสคอบิก 1.0 % ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์ 0.1 %

Langdon (1987) ศึกษาวิธีป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในมันฝรั่งโดยการแช่ชิ้นมันฝรั่งที่ปอกเปลือกแล้วในสารละลายผสมของกรดแอสคอบิกและกรดซิตริกความเข้มข้นอย่างละ 0.3-1.0 % และโปตัสเซียมซอร์เบท 0.2 % แล้วบรรจุในถุง Polyolefin multilayer ในสภาพสูญญากาศสามารถเก็บรักษาที่ 4 ° C ได้นาน 20 วัน โดยยังคงมีคุณภาพเหมือนมันฝรั่งสดและมีความขาวเท่ากับมันฝรั่งที่ใช้โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 500-1,000 ppm.

Sapers and Ziolkowski (1987) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของกรดแอสคอบิกและอิริทอร์บิกในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในชีนแอ์เปิ้ลและน้ำแอ์เปิ้ลคิบโดยใช้ปริมาณสาร 0.8 และ 1.6 % พบว่ากรดแอสคอบิกมี Lag time ก่อนที่จะเกิดสีน้ำตาลในชีนแอ์เปิ้ลนานกว่ากรดอิริทอร์บิก ส่วนในน้ำแอ์เปิ้ลสารทั้งสองมีประสิทธิภาพเท่าๆ กัน

Sapers *et al.* (1989) พบว่ากรดแอสคอบิก-2- ฟอสเฟต และกรดแอสคอบิก-2- ไตรฟอสเฟต ความเข้มข้น 45.4 mM สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในชีนแอ์เปิ้ลได้นาน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องสำหรับกรดแอสคอบิกมีประสิทธิภาพต่ำกว่าอนุพันธ์ทั้งสองเมื่อใช้ที่ความเข้มข้นเท่ากัน

Lozano *et al.* (1994) ศึกษาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ในแอ์เปิ้ล พบว่าแอ์เปิ้ลที่ยังอ่อนมีเปลือกสีเขียวมีอัตราการเกิดสีน้ำตาลสูงกว่าแอ์เปิ้ลที่แก่กว่า และอัตราการเกิดสีน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นตาม

อุณหภูมิที่สูงขึ้น การใช้กรดแอสคอบิกมีผลทำให้เกิดสีน้ำตาลช้าลง ส่วนปริมาณที่มีผลในการยับยั้งขึ้นอยู่กับเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษา

4. กรดซิทริก

กรดซิทริกมีผลในการยับยั้ง 2 ทาง คือ ทำให้พีเอชลดลงและจับกับทองแดง และเมื่อใช้ร่วมกับกรดแอสคอบิกจะช่วยให้กรดแอสคอบิกทนต่อการออกซิเดชันดีขึ้น การใช้กรดแอสคอบิกกับผลไม้มักใช้ในรูปสารละลายผสม เช่น กรดซิทริกผสมกรดแอสคอบิกและโปตัสเซียมซอร์เบท และจะมีประสิทธิภาพดีขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับภาชนะบรรจุที่มีการตัดแปลงบรรยากาศ แต่สารละลายผสมนี้จะลดการเกิดสีน้ำตาลได้จำกัดในมันฝรั่งและแอปเปิ้ล (Zawistowski *et al.* 1991)

5. อนุพันธ์ของเรซอร์ซินอล (Resorcinol derivatives)

สามารถยับยั้งการทำงานของโพลีฟีนอลออกซิเดสได้ดี และพบว่ามีประสิทธิภาพมากเมื่อใช้กับกิ่ง จึงมีการค้นคว้าเพื่อใช้แทนซัลไฟต์ในผักและผลไม้ รูปที่ใช้มากที่สุดคือ 4-เฮกซิลเรซอร์ซินอล (4-hexylresorcinol) (McEvily *et al.* 1991) Monsalve- Gonzalez *et al.* (1993) ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของ 4-เฮกซิลเรซอร์ซินอลกับซัลไฟต์ กรดแอสคอบิกและอนุพันธ์ในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในซันแอปเปิ้ลเมื่อเก็บรักษาไว้ที่ 25 °C พบว่า 4-เฮกซิลเรซอร์ซินอลความเข้มข้น 0.02 % มีประสิทธิภาพเท่ากับ โซเดียมซัลไฟต์ที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 5 เท่า ส่วนการใช้กรดแอสคอบิก เพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับกรดแอสคอบิก-2-ฟอสเฟต ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่ทุกอุณหภูมิและ 4-เฮกซิลเรซอร์ซินอล จะไม่มีประสิทธิภาพเมื่อใช้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 35 °C

6. สารอื่นๆ

ได้แก่กรดเบนโซอิกและกรดซินนามิก (Cinnamic acid) Sapers *et al.* (1989) พบว่าซินนามิกและเบนโซอิกยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลของน้ำแอปเปิ้ลได้ดี แต่ทำให้เกิดสีน้ำตาลเมื่อใช้กับซันแอปเปิ้ล โซเดียมคลอไรด์สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้ที่ปอกเปลือกใหม่ๆ ได้ นอกจากนี้ยังมี Diacetyl และ 2,3-Naphthalenediol สามารถยับยั้งโดยแข่งขันกับทั้งออกซิเจนและฟีนอล

Brecht *et al.* (1993) ทำการศึกษาผลการยับยั้งสีน้ำตาลของโซเดียมและแคลเซียมไฮโปคลอไรด์ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์เข้มข้น 200 ppm. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งทั้งในมันฝรั่งและแอปเปิ้ล

Oktay *et al.* (1995) ได้ทดลองใช้สารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล 7 ชนิด กับแอปเปิ้ล พบว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งเรียงตามลำดับน้อยไปมากคือ Thiourca, Glutathione, β - mercaptoethanol, Sodium

cyanide, Ascorbic acid , Sodium metabisulfide และ L-Cysteine สำหรับ L-Cysteine นั้นสามารถยับยั้งได้ 90.0 % เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 4.8×10^{-5} โมลาร์ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 4.9×10^{-5} โมลาร์สามารถยับยั้งได้ 85.4 % ส่วนกรดแอสคอบิกความเข้มข้น 7.1×10^{-5} โมลาร์สามารถยับยั้งได้ 74.1 %



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ฝรั่ง

ฝรั่งพันธุ์กลมสีที่มีความแก่ (mature) 75% สภาพเนื้อ (texture) มีความกรอบใกล้เคียงกัน เปลือกสีเขียวอ่อน เนื้อไม่เละ จากตลาดหัวตะเข้ ตลาดกระบ้ง กรุงเทพมหานคร

3.2 สารเคมี

3.2.1	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	Fluka	Germany
3.2.2	กรดแอสตอบิก	Merck	Germany
3.2.3	เปปโตน	Merck	Germany

3.3 เชื้อจุลินทรีย์

3.3.1 *Escherichia coli* สายพันธุ์ ATCC 25922

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

3.4.1	อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Tryptose Soy broth (TSB)	Merck	Germany
3.4.2	อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptose Soy Agar (TSA)	Merck	Germany
3.4.3	อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Standard plate count agar (PCA)	Merck	Germany

3.5 เครื่องมือ

3.5.1	เครื่องตีปั่นไฟฟ้า (Stomacher)		
3.5.2	ตู้บ่ม	Memmert	Germany
3.5.3	เครื่องชั่ง	Mettler	Germany
3.5.4	ตู้อบลมร้อน	Memmert	Germany
3.5.5	ตู้แช่แข็ง	ESCO-KUL	Belgium
3.5.6	ตู้บ่มเพาะเชื้อ	Memmert	Germany
3.5.7	หม้อนึ่งความดัน	Tomy	Germany
3.5.8	เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง	Suntex	Japan
3.5.9	เครื่องเขย่าผสม (Mixer)	Votex	Germany
3.5.10	เครื่องวัดสี (Colorflex)	Hunter lab	Germany

3.6 อุปกรณ์

- 3.6.1 หลอดแก้วพร้อมด้วยฝาปิด ขนาดบรรจุ ประมาณ 20 มล.
- 3.6.2 ขวดมีฝาปิด ขนาดบรรจุ 250 มล.
- 3.6.3 ปิเปต ขนาด 10 และ 1 มล.
- 3.6.4 จานเลี้ยงเชื้อ
- 3.6.5 ตะเกียงอัลกอฮอล์ หรือ บุณเทียน
- 3.6.6 ห่วงแช่แข็ง
- 3.6.7 ขวดรูปชมพู ขนาด 125 และ 250 มล.
- 3.6.8 บีกเกอร์
- 3.6.9 กระบอกตวง
- 3.6.10 มีด
- 3.6.11 ถุงโพลีเอธิลีน

3.7 สถานที่ทำการทดลอง

- 3.7.1 ห้องปฏิบัติการ โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.2 ห้องปฏิบัติการการตรวจสอบคุณภาพ บริษัท โคลไทยแลนด์ จำกัด (ชุมพร)

3.8 วิธีการทดลอง

3.8.1 การศึกษาผลของสารละลายเคมีต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง

3.8.1.1 การศึกษาผลของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 3 X 2 Factorial in CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษา ระดับความเข้มข้นของ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % 2.5 % และ 3.0 % ที่ระยะเวลา 5 นาที และ 10 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli*

ปัจจัยในการศึกษา ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่

ปัจจัยที่ 1 : ความเข้มข้นต่างๆ

treatment 1: เข้มข้น 1.5 %

treatment 2: เข้มข้น 2.5 %

treatment 3: เข้มข้น 3.0 %

ปัจจัยที่ 2 : ระยะเวลาต่างๆ

treatment 1: ระยะเวลา 5 นาที

treatment 2: ระยะเวลา 10 นาที

นำสารละลายแต่ละทรีทเมนต์เทลงไปในหลอดทดลองปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายเชื้อ *Escherichia coli* ที่เตรียมไว้ความเข้มข้นประมาณ 10^9 cfu/ml (ตามภาคผนวก ก.) จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าผสม (mixer) ให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่ต้องการ เมื่อครบเวลาคัดตัวอย่างจากหลอดทดลองนำไปเจือจางและหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Escherichia coli* ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ TSA

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.8.1.2 การศึกษาผลของสารละลายกรดแอสคอบิกต่อการยับยั้งการเจริญของ

E.coli ในหลอดทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 4 X 2 Factorial in CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษา ระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอบิก 1.5 % 2.5 % 3.0 % และ 3.5 % ที่เวลาแช่ 5 นาที และ 10 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli*

ปัจจัยในการศึกษา ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่

ปัจจัยที่ 1 : ความเข้มข้นต่างๆ

treatment 1: เข้มข้น 1.5 %

treatment 2: เข้มข้น 2.5 %

treatment 3: เข้มข้น 3.0 %

treatment 4: เข้มข้น 3.5 %

ปัจจัยที่ 2 : ระยะเวลาต่างๆ

treatment 1: ระยะเวลา 5 นาที

treatment 2: ระยะเวลา 10 นาที

นำสารละลายแต่ละทรีทमेंต์เทลงไปในหลอดทดลองปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายเชื้อ *Escherichia coli* ที่เตรียมไว้ความเข้มข้นประมาณ 10^8 cfu/ml (ตามภาคผนวก ก.) จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าผสม (mixer) ให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่ต้องการ เมื่อครบเวลาดูดตัวอย่างจากหลอดทดลองนำไปเจือจางและ หาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Escherichia coli* ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ TSA

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์หาความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.8.1.3 การศึกษาผลของสารละลายผสมของ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์

ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 3 X 2 Factorial in CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษา ระดับความเข้มข้นของสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กับกรดแอสคอบิก 1.5 % +

1.5 % , 1.5 % + 2.5 % , 1.5 % + 3.0 % ที่เวลาแช่ 5 นาที และ 10 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli*

ปัจจัยในการศึกษา ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่

ปัจจัยที่ 1 : ความเข้มข้นต่างๆ

treatment 1: ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % ผสมกรดแอสคอบิก 1.5 %

treatment 2: ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % ผสมกรดแอสคอบิก 2.5 %

treatment 3: ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % ผสมกรดแอสคอบิก 3.0 %

ปัจจัยที่ 2 : ระยะเวลาต่างๆ

treatment 1: ระยะเวลา 5 นาที

treatment 2: ระยะเวลา 10 นาที

นำสารละลายแต่ละทริทเมนต์เทลงไปในหลอดทดลองปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายเชื้อ *Escherichia coli* ที่เตรียมไว้ความเข้มข้นประมาณ 10^7 cfu/ml (ตามภาคผนวก ก.) จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าผสม (mixer) ให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ตามระยะเวลาที่ต้องการ เมื่อครบเวลาควักตัวอย่างจากหลอดทดลองนำไปเจือจางและ หาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Escherichia coli* ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ TSA

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.8.2 การเตรียมฝรั่งสดหั่นชิ้น

เลือกฝรั่งที่มีความสุกใกล้เคียงกัน ผ่าเป็น 2 ซีก/ผล คว้านเอาเมล็ดออก หั่นเป็นชิ้นให้ได้น้ำหนัก ประมาณ 5 กรัม/ชิ้น สำหรับทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ และให้ได้ขนาดกว้าง 1.5 นิ้ว ยาว 1.5 นิ้ว สำหรับทดสอบสี

3.8.3 การเตรียมฝรั่งสดหั่นชิ้นที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E.coli*

ถ่ายเชื้อ *E.coli* ที่มีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^7 cfu/ml (ตามภาคผนวก ก.) ลงในภาชนะบรรจุที่สะอาด เทชิ้นฝรั่งสดขนาด 5 กรัม/ชิ้น ที่ได้จากการเตรียมในข้อ 3.8.2 ลงไปใน

ภาชนะบรรจุ ใส่ถุงมือปลอดเชื้อแล้วคลุกเคล้าฝรั่งและเชื้อให้เข้ากันดี ยกขึ้นให้สะเด็ดน้ำแล้วใส่ลงไปในภาชนะบรรจุที่สะอาด ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที

3.8.4 การศึกษาผลของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในฝรั่งผลสด

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ และเวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที นำไปจัดเก็บที่ 4 ° C เป็นเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน และ 9 วัน ดังนี้

treatment 1: สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 1.5 % แช่เป็นเวลา 5 นาที

treatment 2 : สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 1.5 % แช่เป็นเวลา 10 นาที

treatment 3 : สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 1.5 % แช่เป็นเวลา 15 นาที

treatment 4 : สารละลายกรดแอสคอบิก เข้มข้น 3.5 % แช่เป็นเวลา 5 นาที

treatment 5 : สารละลายกรดแอสคอบิก เข้มข้น 3.5 % แช่เป็นเวลา 10 นาที

treatment 6 : สารละลายกรดแอสคอบิก เข้มข้น 3.5 % แช่เป็นเวลา 15 นาที

treatment 7 : สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % กับกรดแอสคอบิก 3.5 % แช่เป็นเวลา 5 นาที

treatment 8 : สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % กับกรดแอสคอบิก 3.5 % แช่เป็นเวลา 10 นาที

treatment 9 : สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % กับกรดแอสคอบิก 3.5 % แช่เป็นเวลา 15 นาที

treatment 10 : น้ำปลอดเชื้อ แช่เป็นเวลา 5 นาที

treatment 11 : น้ำปลอดเชื้อ แช่เป็นเวลา 10 นาที

treatment 12 : น้ำปลอดเชื้อ แช่เป็นเวลา 15 นาที

treatment 13 : ฝรั่งสดถ่ายเชื้อแต่ไม่แช่สารเคมีใดๆ

treatment 14 : ฝรั่งสดปกติไม่ถ่ายเชื้อ

ฝรั่งสดที่ผ่านการถ่ายเชื้อแต่ไม่แช่สารเคมีใดๆ (treatment 13) และฝรั่งสดปกติไม่ถ่ายเชื้อ (treatment 14) เป็นกลุ่มควบคุม นำฝรั่งที่ผ่านการถ่ายเชื้อ *E.coli* มาแบ่งเป็น 12 กลุ่มการทดลอง โดยแช่ตัวอย่างชิ้นฝรั่งสดลงในสารละลายตามทริทเมนต์ 1-12 แล้ววางบนตะแกรงผึ่งให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง บรรจุฝรั่งที่ผ่านทริทเมนต์แต่ละชนิด ฝรั่งสดที่ผ่านการถ่ายเชื้อแต่ไม่แช่

สารเคมีใดๆ และฟุ้งสปกติไม่ถ่ายเชื้อลงในถุงพลาสติกปิดคอเชื้อ อุณหภูมิ 5 °C ขึ้น นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วสุ่มตัวอย่างสำหรับทดสอบที่เวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน และ 9 วัน

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.8.5 การศึกษาผลของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งผลสด

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยทำการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ และเวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที นำไปจัดเก็บที่ 4 °C เป็นเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน และ 9 วัน ดังนี้

- treatment 1: สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 1.5 % แช่เป็นเวลา 5 นาที
- treatment 2: สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 1.5 % แช่เป็นเวลา 10 นาที
- treatment 3 : สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 1.5 % แช่เป็นเวลา 15 นาที
- treatment 4: สารละลายกรดแอสคอบิก เข้มข้น 3.5 % แช่เป็นเวลา 5 นาที
- treatment 5 : สารละลายกรดแอสคอบิก เข้มข้น 3.5 % แช่เป็นเวลา 10 นาที
- treatment 6 : สารละลายกรดแอสคอบิก เข้มข้น 3.5 % แช่เป็นเวลา 15 นาที
- treatment 7 : สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % กับกรดแอสคอบิก 3.5 % แช่เป็นเวลา 5 นาที
- treatment 8 : สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % กับกรดแอสคอบิก 3.5 % แช่เป็นเวลา 10 นาที
- treatment 9 : สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % กับกรดแอสคอบิก 3.5 % แช่เป็นเวลา 15 นาที
- treatment 10 : น้ำปลอคเชื้อ แช่เป็นเวลา 5 นาที
- treatment 11 : น้ำปลอคเชื้อ แช่เป็นเวลา 10 นาที
- treatment 12 : น้ำปลอคเชื้อ แช่เป็นเวลา 15 นาที
- treatment 13 : ฟุ้งสปกติแต่ไม่แช่สารเคมีใดๆ

ฟุ้งสปกติแต่ไม่แช่สารเคมีใดๆ (treatment 13) เป็นกลุ่มควบคุม และนำฟุ้งสปกติมาแบ่งเป็น 12 กลุ่มการทดลอง โดยแช่ตัวอย่างขึ้นฝรั่งสดลงในทริทเมนต์แต่ละชนิดตาม 1-12 แล้ววางบนตะแกรงผึ่งให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง บรรจุฟุ้งสปกติและฟุ้งที่ผ่านทริทเมนต์แต่ละชนิด

ลงในถุงพลาสติกปิดคอเชื้อ ถุงละ 3 ชิ้น นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C แล้วสุ่มตัวอย่างสำหรับทดสอบค่าสี L โดยใช้เครื่องวัดสี Colorflex ของ Hunter Lab (ตามภาคผนวก ข) ที่เวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน และ 9 วัน

โดยค่า L เป็นค่าที่แสดงความสว่าง โดยมีค่าต่ำสุดที่ 0 สูงสุดที่ 100 โดยที่ 0 เป็นสีดำ ค่าที่ 100 คือสีขาว โดยในการตรวจสอบค่าสีถ้าค่า L มาก หมายถึงมีความสว่างหรือมีความเป็นสีขาวมาก ถ้าค่าน้อยแสดงว่ามีความสว่างหรือมีค่าความเป็นสีขาวน้อย

คำนวณหาค่า ΔL โดยใช้สูตร

$$\Delta L = L \text{ วันที่ ใดๆ} - L \text{ วันที่ 0}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

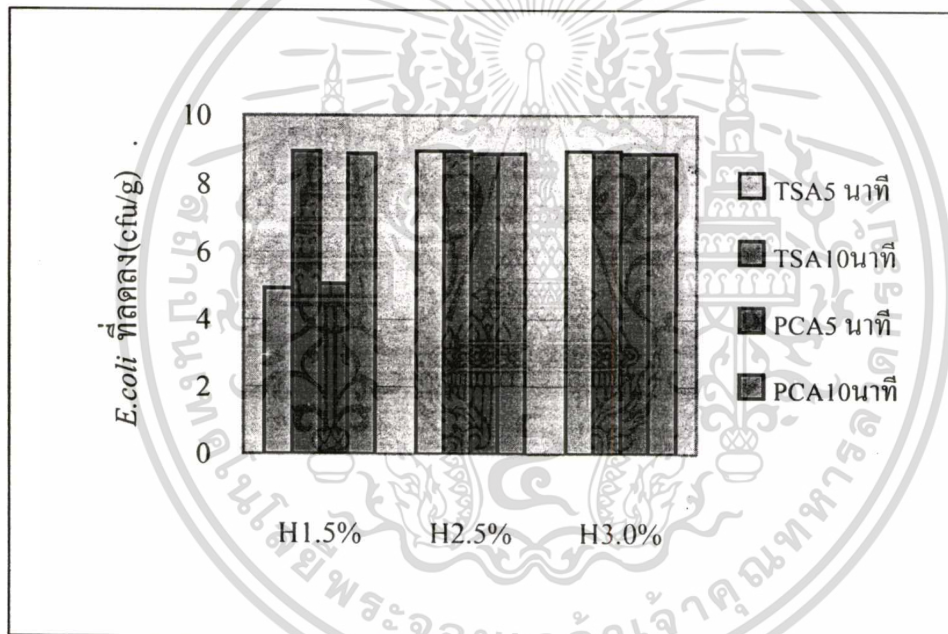
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของสารละลายเคมีต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง

4.1.1 ผลของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide) ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง

ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 %, 2.5 %, 3.0 % และ ระยะเวลาการแช่ที่ 5 นาที และ 10 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli*

ผลของ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลองแสดงดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 *E.coli* ที่ลดลงโดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในหลอดทดลองที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA

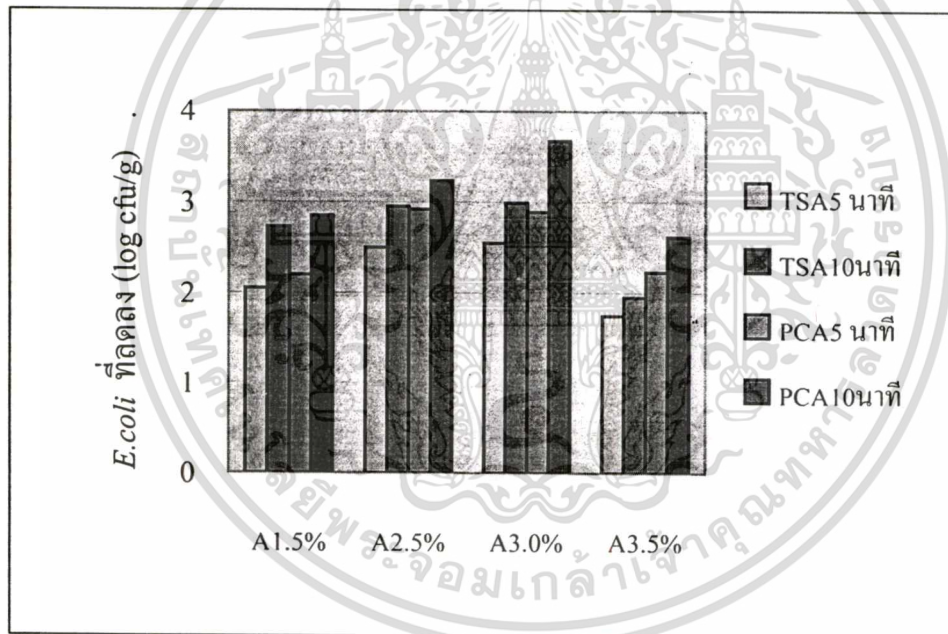
พบว่าที่เวลา 5 นาทีที่ความเข้มข้น 1.5 %, 2.5 % และ 3.0 % สามารถทำลายจุลินทรีย์ ได้ 4.94, 8.95 และ 8.95 log cfu /g ในอาหาร TSA และ ได้ 5.06, 8.87 และ 8.87 log cfu /g ในอาหาร PCA

ส่วนที่เวลา 10 นาที ที่ทุกความเข้มข้น สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมดคือ 8.95
 log cfu /g ในอาหาร TSA และ 8.87 log cfu /g ในอาหาร PCA

แสดงว่าที่ความเข้มข้น 1.5 % ต้องใช้เวลา 10 นาทีขึ้นไปจึงจะสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ส่วนที่ความเข้มข้น 2.5 % และ 3.0 % ใช้เวลา 5 นาทีขึ้นไปจึงจะสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด

4.1.2 ผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง

ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิก ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 %, 2.5 %, 3.0 % และ 3.5 % ระยะเวลาการแช่ที่ 5 นาที และ 10 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ผลของสารละลายกรดแอสคอร์บิกต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลองแสดงดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 *E.coli* ที่ลดลงโดยสารละลายกรดแอสคอร์บิกในหลอดทดลองที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA

พบว่าที่เวลา 5 นาทีที่ความเข้มข้น 1.5 %, 2.5 %, 3.0 และ 3.5 % สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 2.05, 2.50, 2.55 และ 1.75 log cfu /g ในอาหาร TSA และได้ 2.20, 2.92, 2.89 และ 2.23 log cfu /g ในอาหาร PCA

ส่วนที่เวลา 10 นาที ที่ความเข้มข้น 1.5 % , 2.5 % , 3.0 % และ 3.5 % สามารถทำลาย จุลินทรีย์ได้ 2.73, 2.95, 2.99 และ 1.95 log cfu /g ในอาหาร TSA และได้ 2.85, 3.23, 3.67 และ 2.62 log cfu /g ในอาหาร PCA

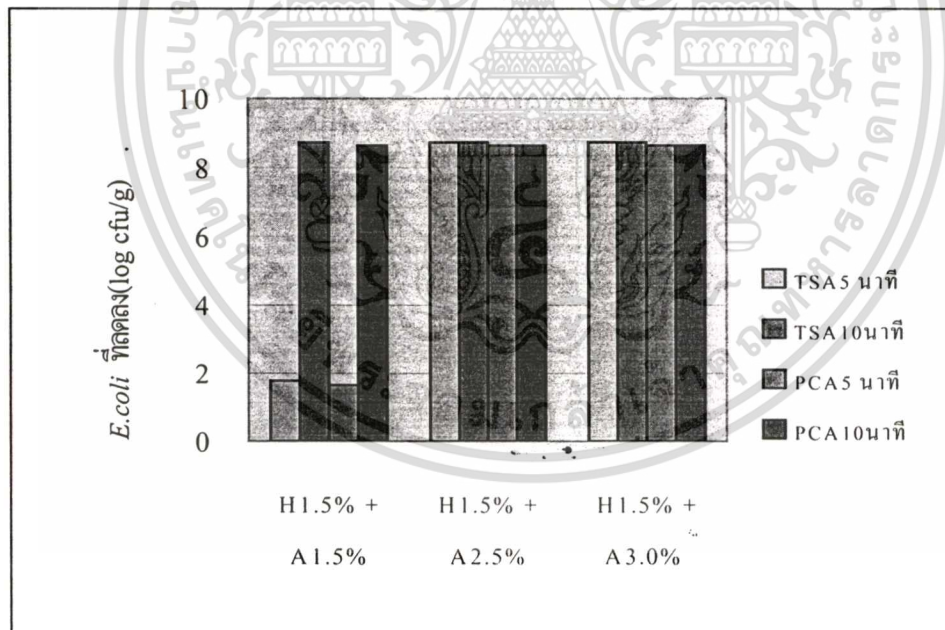
แสดงว่าในสารละลายกรดแอสคอบิกที่ความเข้มข้น 1.5 % - 3.5 % จะสามารถทำลาย จุลินทรีย์ได้สูงสุด ที่ความเข้มข้น 3.0 % ที่เวลา 10 นาที

แต่เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์กับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่า สามารถทำลายได้น้อยกว่า

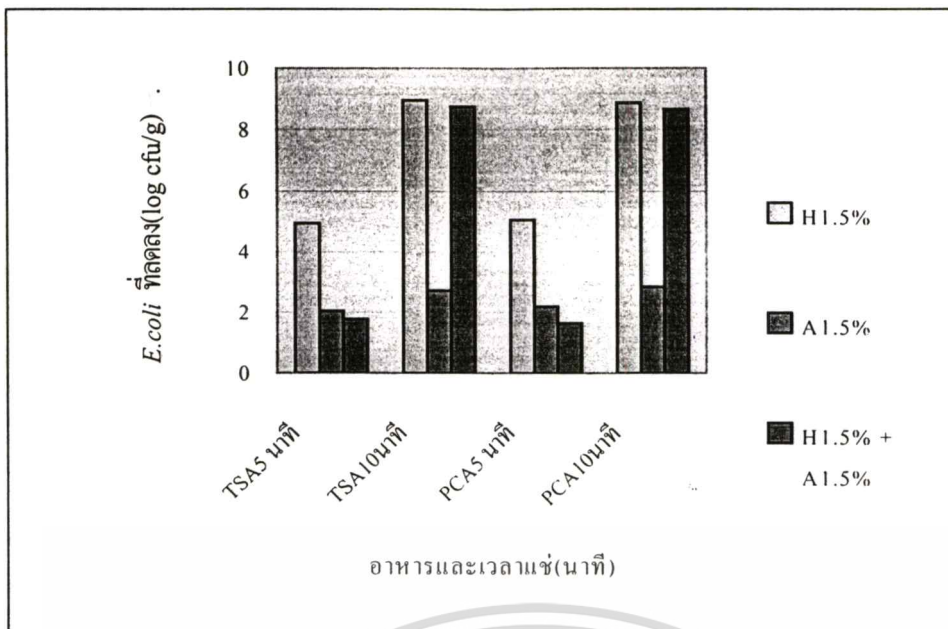
4.1.3 ผลของสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก (Hydrogen Peroxide Mixed with Ascorbic Acid) ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง

ศึกษาระดับความเข้มข้นของ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 % + 1.5 % , 1.5 % + 2.5 % และ 1.5 % + 3.0 % ระยะเวลาการ แช่ที่ 5 นาที และ 10 นาที ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli*

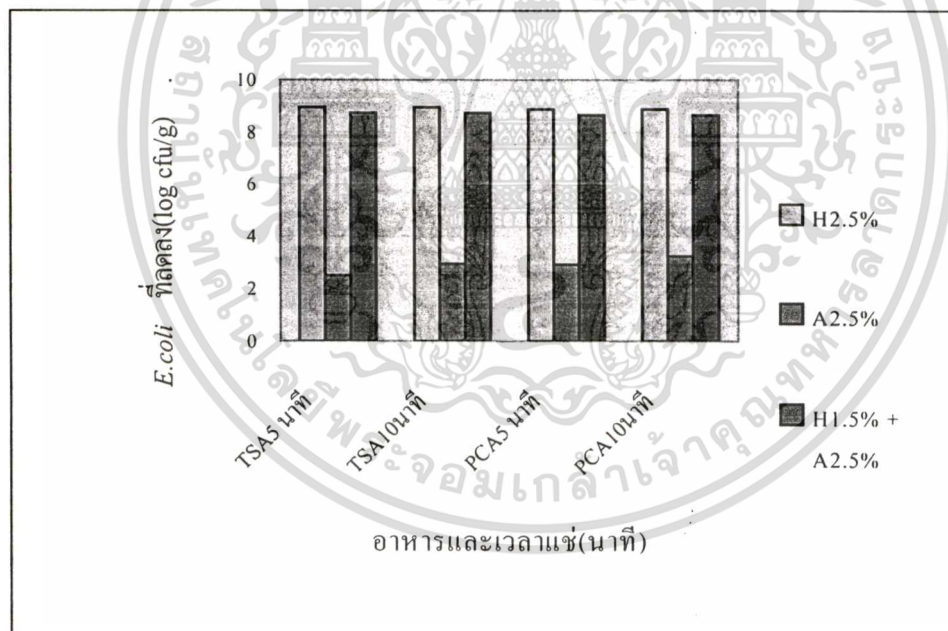
ผลของสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กับกรดแอสคอบิก ต่อการยับยั้งการ เจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลองแสดงดังภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 *E.coli* ที่ลดลงโดยสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกใน หลอดทดลอง ที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA

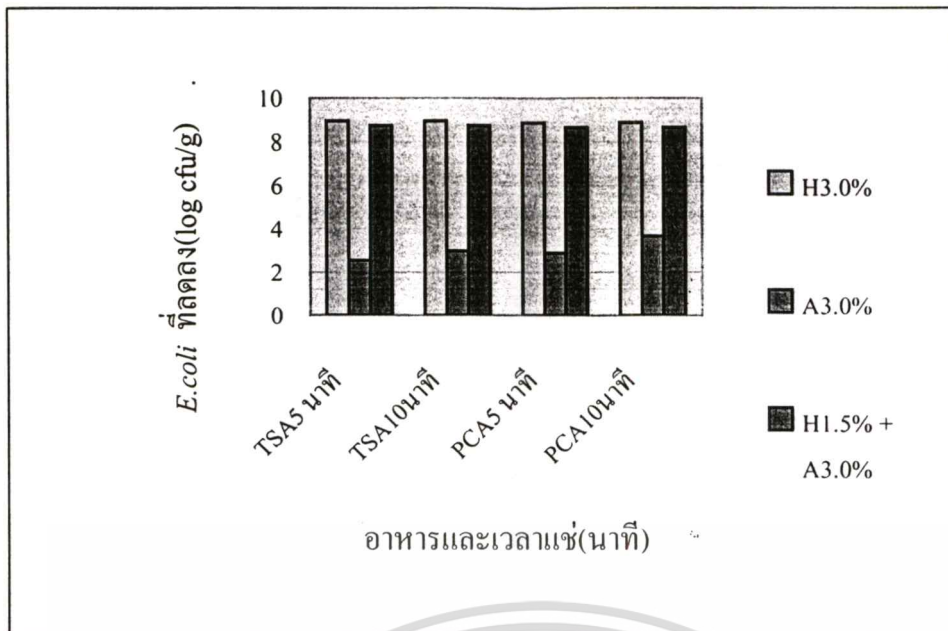


ภาพที่ 4.4 *E.coli* ที่ลดลงโดยสารละลายต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 % ในหลอดทดลอง



ภาพที่ 4.5 *E.coli* ที่ลดลงโดยสารละลายต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 % ในหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 *E.coli* ที่ลดลงโดยสารละลายต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 3.0 % ในหลอดทดลอง

พบว่าที่เวลา 5 นาทีที่ความเข้มข้น 1.5 % + 1.5 %, 1.5 % + 2.5 % และ 1.5 % + 3.0 % สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 1.78, 8.74 และ 8.74 log cfu /g ในอาหาร TSA และได้ 1.65, 8.65 และ 8.65 log cfu /g ในอาหาร PCA

ส่วนที่เวลา 10 นาที ที่ความเข้มข้น 1.5 % + 1.5 %, 1.5 % + 2.5 % และ 1.5 % + 3.0 % สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 8.74 log cfu /g ทั้งหมด ในอาหาร TSA และได้ 8.65 log cfu /g ทั้งหมด ในอาหาร PCA

แสดงว่าในสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก ความเข้มข้น 1.5 % + 1.5 % ที่เวลา 5 นาที ไม่เพียงพอในการทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด

ที่ความเข้มข้น 1.5 % + 2.5 % และ 1.5 % + 3.5 % สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ที่เวลา 5 นาทีและ 10 นาที

แต่เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์กับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าที่ความเข้มข้น 1.5 % + 1.5 % เวลา 5 นาที ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถทำลายได้ 4.94 log cfu /g และ 5.06 log cfu /g ใน TSA และ PCA ขณะที่ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกสามารถทำลายได้ 1.78 log cfu /g และ 1.65 log cfu /g ใน TSA และ PCA แสดงว่าสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกสามารถทำลายได้น้อยกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

สรุปโดยรวมการทดลองในหลอดทดลองประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์เป็นดังนี้
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มากกว่า สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรด
แอสคอบิก และมากกว่า กรดแอสคอบิก

4.2 ผลของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ในฟรังสดแห้งขึ้น

ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ และเวลาการจุ่มแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที นำไปจัดเก็บที่ 4 °C เป็นเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน และ 9 วัน

ผลของ *E. coli* ที่ลดลงในฟรังสดแห้งขึ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA เป็นดังภาพที่ 4.7

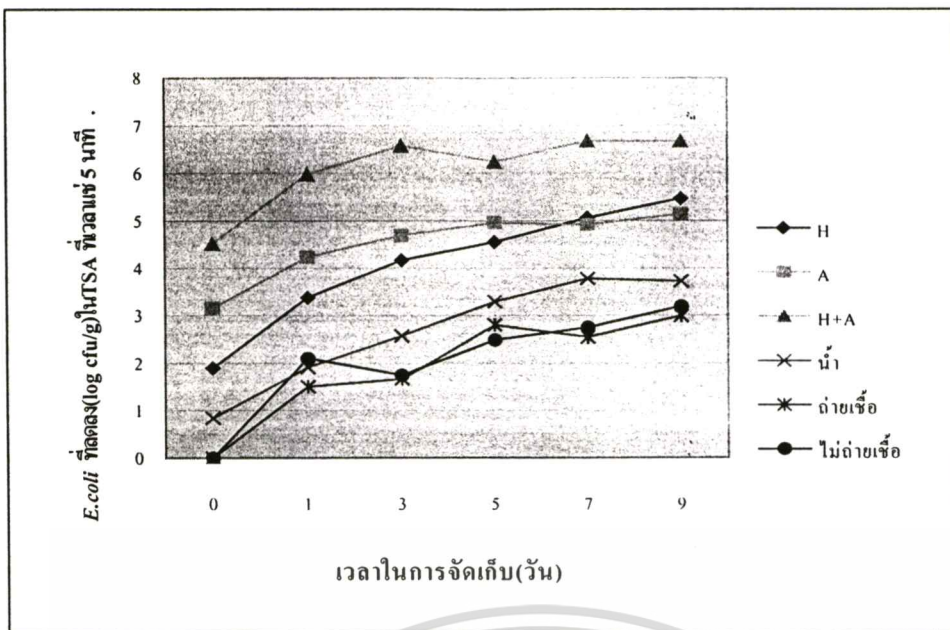
ผลของ *E. coli* ที่ลดลงในฟรังสดแห้งขึ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA เป็นดังภาพที่ 4.8

ผลของ *E. coli* ที่ลดลงในฟรังสดแห้งขึ้น ที่เวลาการแช่ 10 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA เป็นดังภาพที่ 4.9

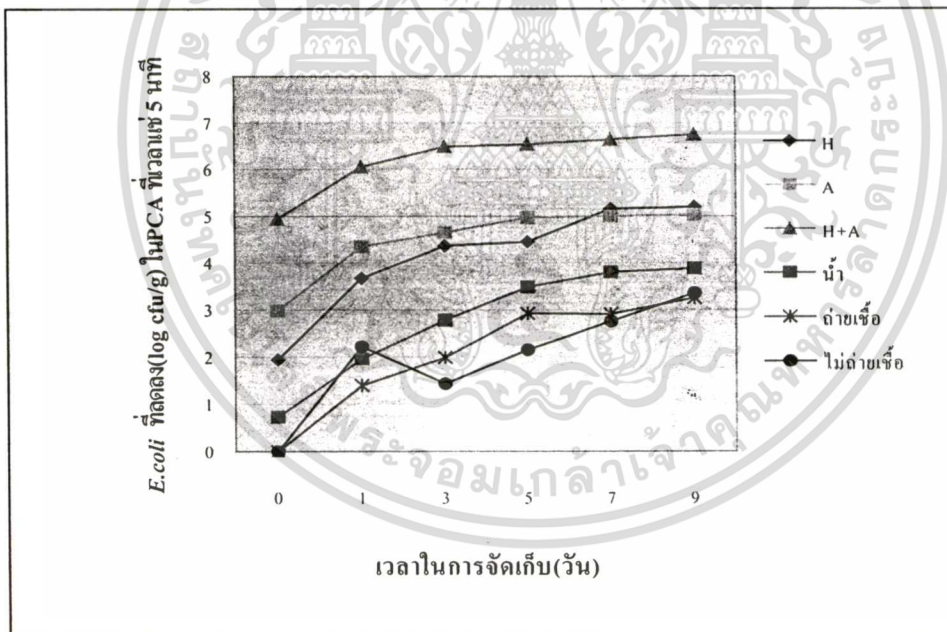
ผลของ *E. coli* ที่ลดลงในฟรังสดแห้งขึ้น ที่เวลาการแช่ 10 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA เป็นดังภาพที่ 4.10

ผลของ *E. coli* ที่ลดลงในฟรังสดแห้งขึ้น ที่เวลาการแช่ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA เป็นดังภาพที่ 4.11

ผลของ *E. coli* ที่ลดลงในฟรังสดแห้งขึ้น ที่เวลาการแช่ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA เป็นดังภาพที่ 4.12

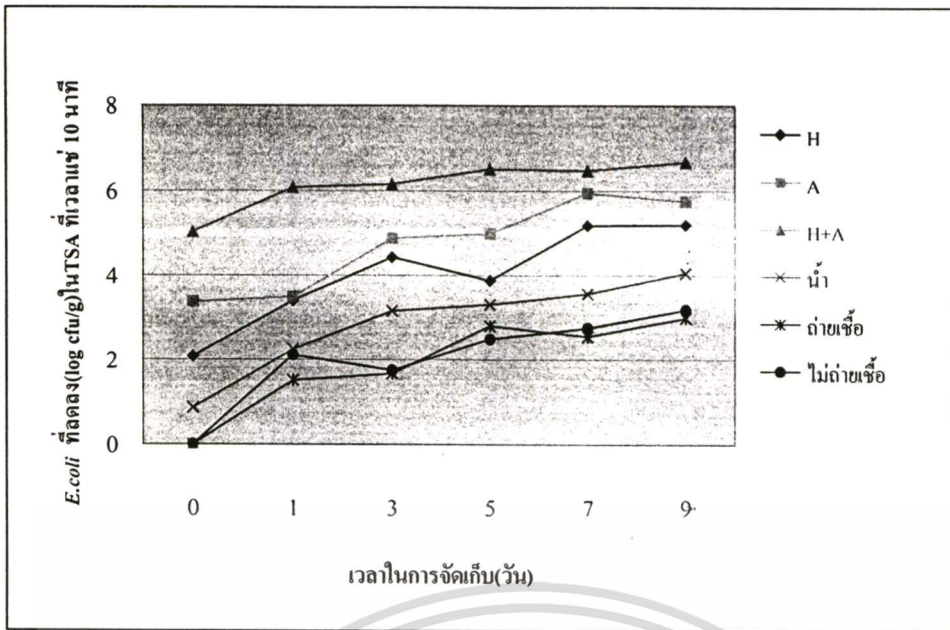


ภาพที่ 4.7 *E. coli* ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA

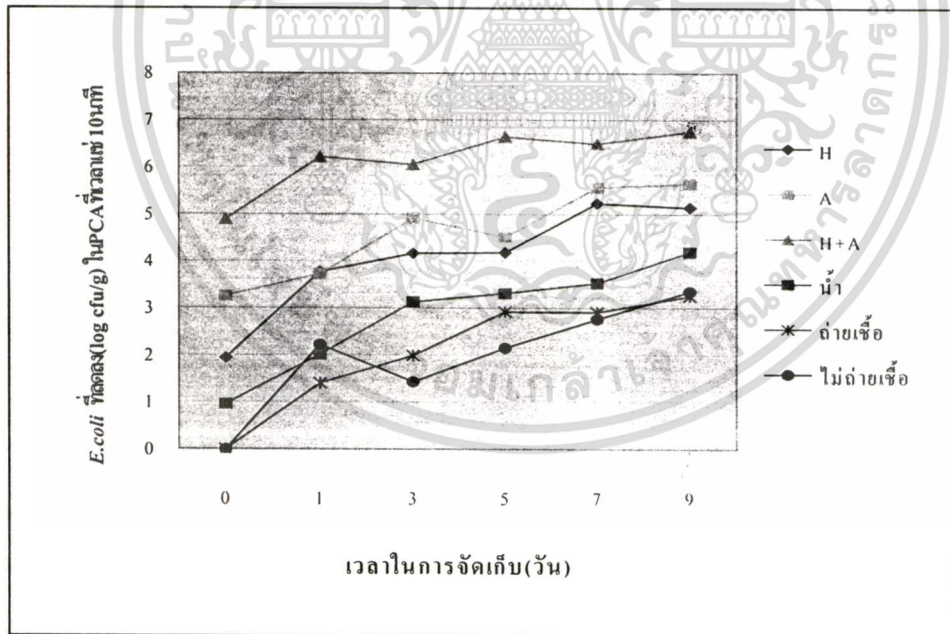


ภาพที่ 4.8 *E. coli* ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

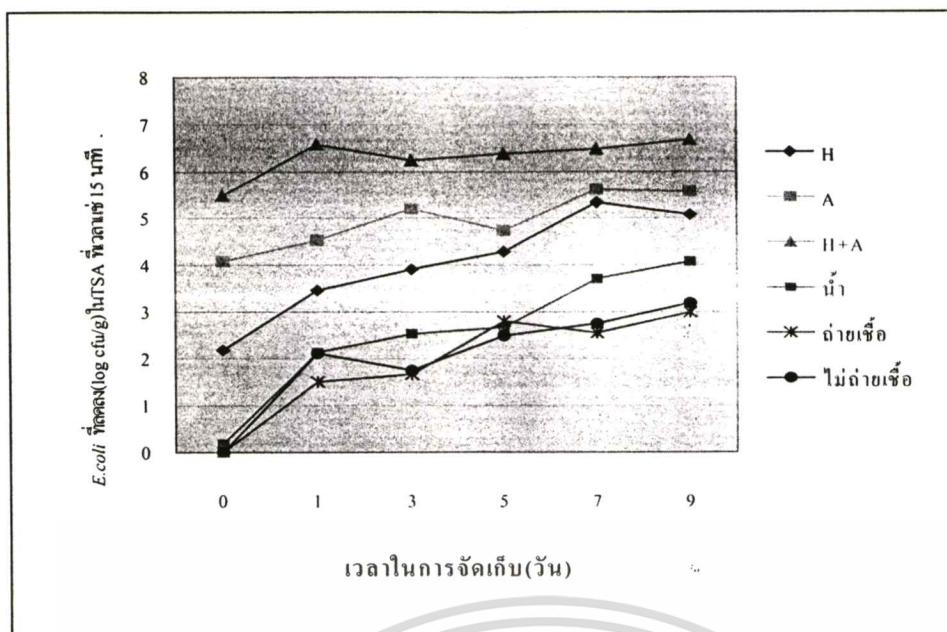


ภาพที่ 4.9 *E. coli* ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 10 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA

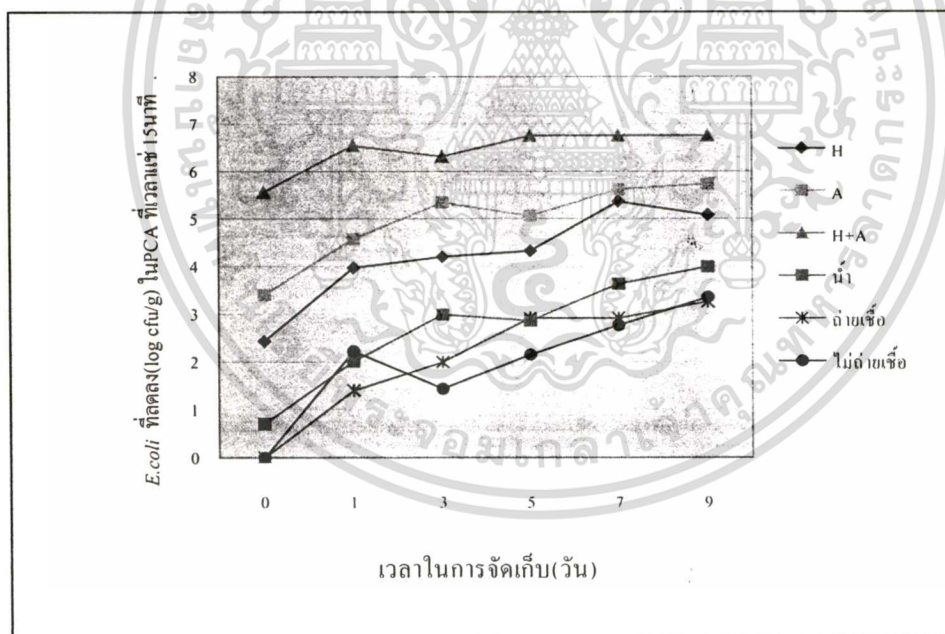


ภาพที่ 4.10 *E. coli* ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 10 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

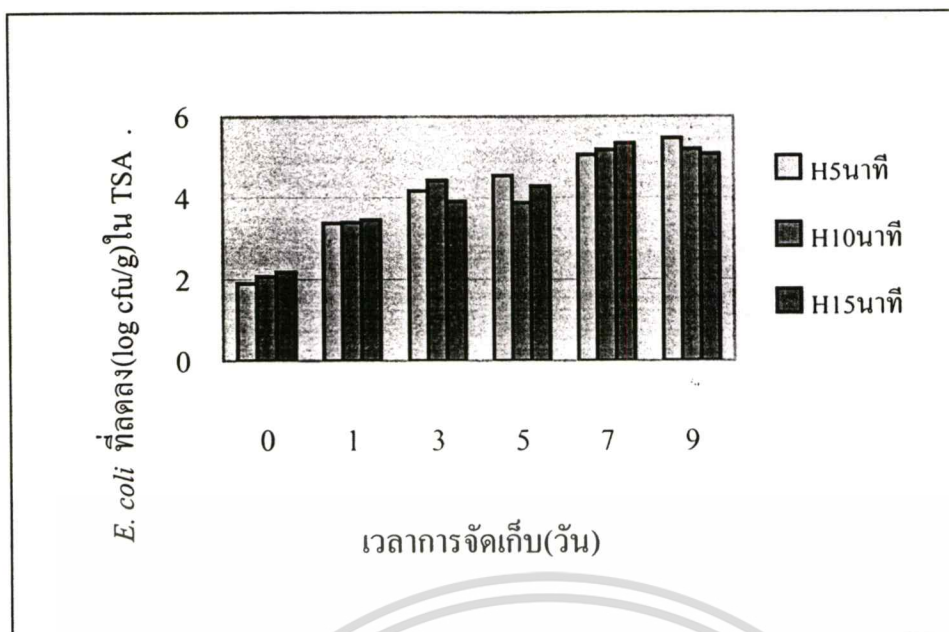


ภาพที่ 4.11 *E. coli* ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA

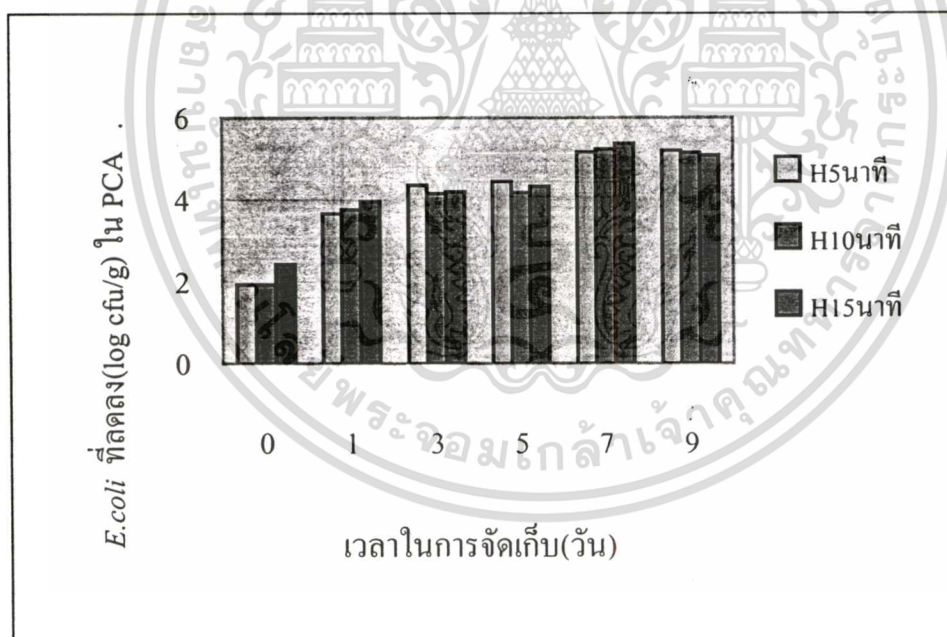


ภาพที่ 4.12 *E. coli* ที่ลดลงในฟร้งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

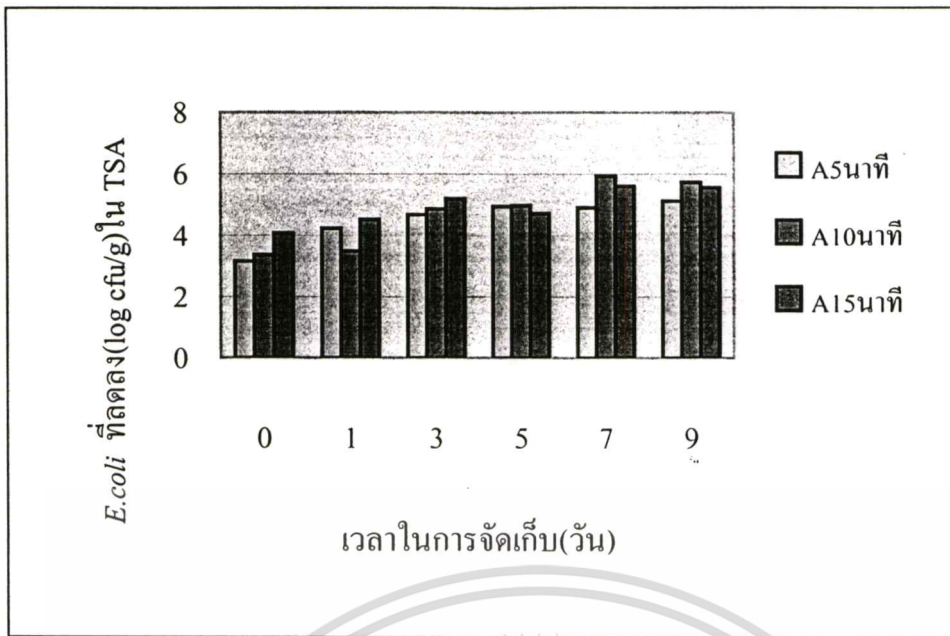


ภาพที่ 4.13 *E. coli* ที่ลดลงในฟรังก์สตันซัน โดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA

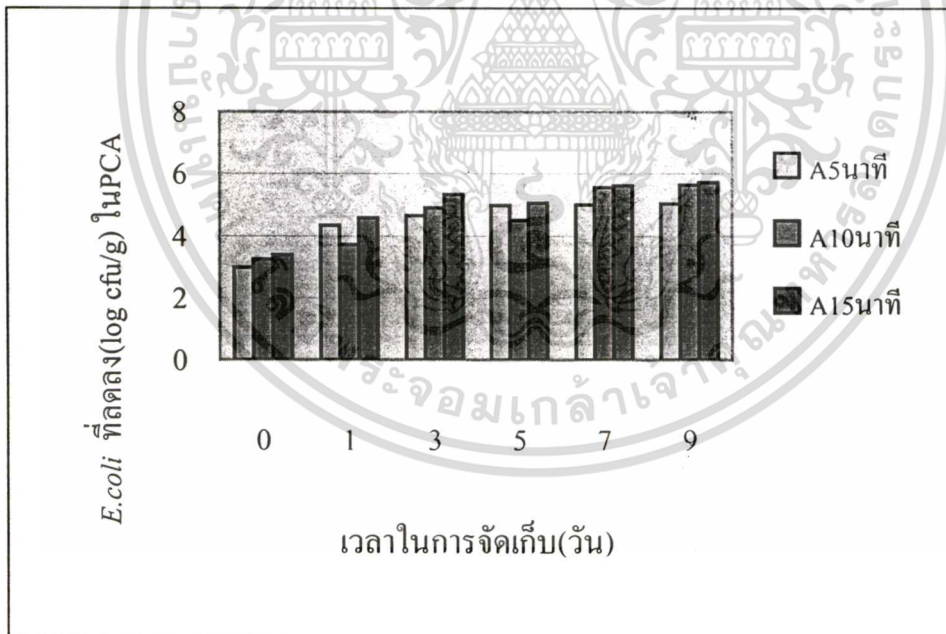


ภาพที่ 4.14 *E. coli* ที่ลดลงในฟรังก์สตันซัน โดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

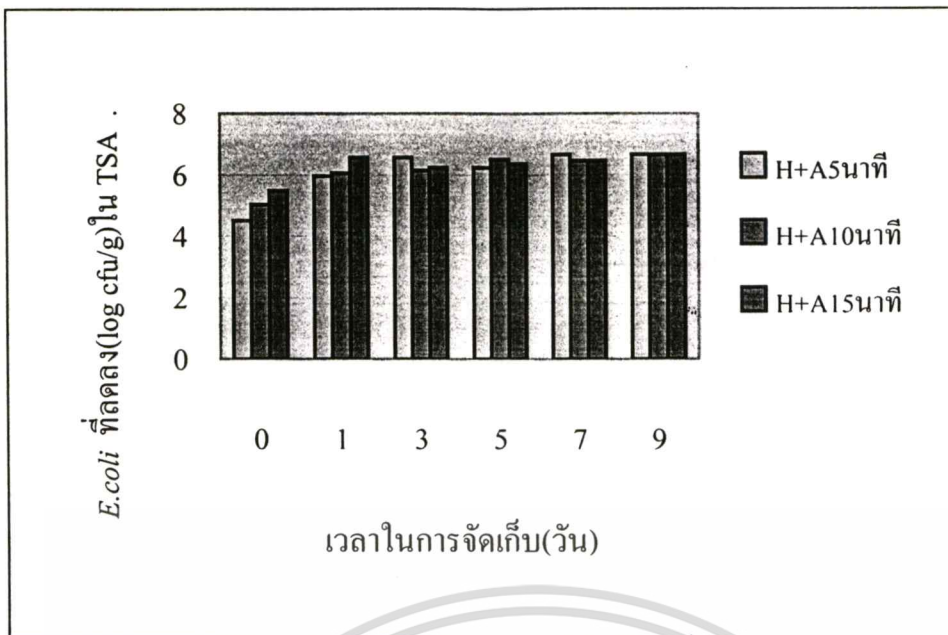


ภาพที่ 4.15 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้นโดยสารละลายกรดแอสคอบิกที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA

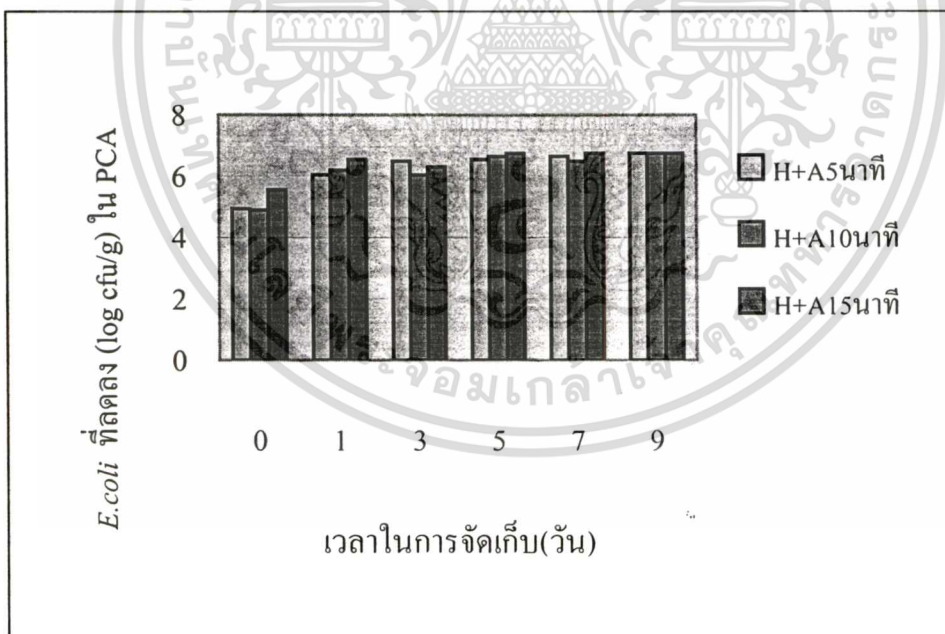


ภาพที่ 4.16 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้นโดยสารละลายกรดแอสคอบิกที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.17 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งสดที่ขึ้นขึ้นโดยสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร TSA



ภาพที่ 4.18 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งสดที่ขึ้นขึ้นโดยสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก ที่เวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหาร PCA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เวลาการแช่ 5 นาที

ในอาหาร TSA พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดแอสคอบิก และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 5.47, 5.14 และ 6.68 log cfu /g โดยในน้ำ , ชูต่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 3.72, 2.99 และ 3.19 log cfu /g

ในอาหาร PCA พบว่า กรดแอสคอบิก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 5.20, 5.03 และ 6.75 log cfu /g โดยในน้ำ ชูต่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 3.88, 3.25 และ 3.35 log cfu /g

แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างกันของน้ำ ชูต่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้มากที่สุด โดยประสิทธิภาพ ในการทำลายจุลินทรีย์บนฝรั่งที่เวลาการแช่ 5 นาที เป็นดังนี้

สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก มากกว่าไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ และมากกว่า กรดแอสคอบิก

ที่เวลาการแช่ 10 นาที

ในอาหาร TSA พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดแอสคอบิก และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 5.20, 5.75 และ 6.68 log cfu /g โดยในน้ำ ชูต่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 4.05, 2.99 และ 3.19 log cfu /g

ในอาหาร PCA พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดแอสคอบิก และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 5.14, 5.64 และ 6.75 log cfu /g โดยในน้ำ ชูต่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 4.19, 3.25 และ 3.35 log cfu /g

แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างกันของน้ำ ชูต่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้มากที่สุด โดยประสิทธิภาพ ในการทำลายจุลินทรีย์บนฝรั่งที่เวลาการแช่ 10 นาที เป็นดังนี้

สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก มากกว่ากรดแอสคอบิก และมากกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ที่เวลาการแช่ 15 นาที

ในอาหาร TSA พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดแอสคอบิก และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 5.08, 5.58 และ 6.68 log cfu /g โดยในน้ำ ชูด่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 4.08, 2.99 และ 3.19 log cfu /g

ในอาหาร PCA พบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดแอสคอบิก และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 5.08, 5.73 และ 6.75 log cfu /g โดยในน้ำ ชูด่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ 3.99, 3.25 และ 3.35 log cfu /g

แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างกันของน้ำ ชูด่ายเชื้อ และ ไม่ถ่ายเชื้อ และสารละลายผสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้มากที่สุด โดยประสิทธิภาพ ในการทำลายจุลินทรีย์บนฝรั่งที่เวลาการแช่ 15 นาที เป็นดังนี้

สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก มากกว่ากรดแอสคอบิก และมากกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

เมื่อเปรียบเทียบผลของเวลาในการแช่ต่อความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์

ในชูด่ายเชื้อมีค่าจุลินทรีย์ลดลงในวันที่ 0 ในอาหาร TSA และ PCA เป็น 0 log cfu /g และ 0 log cfu /g ในวันที่ 9 เป็น 2.99 log cfu /g และ 3.25 log cfu /g

ขณะที่ชูดไม่ถ่ายเชื้อ มีค่าจุลินทรีย์ลดลงในวันที่ 0 ในอาหาร TSA และ PCA เป็น 0 log cfu /g และ 0 log cfu /g ในวันที่ 9 เป็น 3.19 log cfu /g และ 3.35 log cfu /g

ชูดที่แช่น้ำมีค่าจุลินทรีย์ลดลงในวันที่ 0 ในอาหาร TSA และ PCA เป็น 0.18-0.86 log cfu /g และ 0.70-0.96 log cfu /g ในวันที่ 9 เป็น 3.72-4.08 log cfu /g และ 3.88-4.19 log cfu /g โดยไม่มีความแตกต่างของเวลาในการแช่

ในชูดแช่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในวันที่ 0 และวันที่ 1 พบว่าเวลาในการแช่มีผลต่อการลดลงของจุลินทรีย์ หลังจากนั้นพบว่ามีค่าการลดลงของจุลินทรีย์ขึ้นๆลงๆ ไม่แปรผันตามเวลาการแช่

ในชูดแช่กรดแอสคอบิกที่เวลาการจัดเก็บ 9 วัน พบว่าเวลาการแช่มีผลต่อการลดลงของจุลินทรีย์

ในชูดแช่สารละลายผสมให้ผลคล้ายกับในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยในวันที่ 0 และวันที่ 1 พบว่าเวลาในการแช่มีผลต่อการลดลงของจุลินทรีย์ หลังจากนั้นพบว่ามีค่าการลดลงของจุลินทรีย์ขึ้นๆลงๆ ไม่แปรผันตามเวลาการแช่ แต่ที่เวลา 9 วันสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมดที่เวลาการแช่ทั้งสามคือ ที่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที

ที่เวลาการจัดเก็บ 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าจุลินทรีย์ในชุดถ่ายเชื้อ ไม่ถ่ายเชื้อและชุดแช่น้ำจะลดลงประมาณ 3-4 log cfu/g ซึ่งเป็นผลจากอุณหภูมิต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ ขณะที่ในสารละลายเค็มจะสามารถทำลายได้มากกว่า โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถลดลงได้ประมาณ 5 log cfu/g กรดแอสคอบิกสามารถลดลงได้ประมาณ 5.0-5.8 log cfu/g และสารละลายผสมสามารถลดลงได้ประมาณ 6.6-6.8 log cfu/g แสดงว่าสารเค็มมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากกว่าที่ไม่ใช้สารเคมีประมาณ 1-3.5 log cfu/g

ผลของจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดคือ TSA และ PCA ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการถ่ายเชื้อในหลอดทดลอง และจุลินทรีย์เริ่มต้นในการถ่ายเชอบนฝรั่งไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นหากสามารถควบคุมการทดลองอย่างปลอดภัยได้ทุกขั้นตอน ก็ไม่จำเป็นต้องใช้อาหารสองชนิด โดยเพื่อให้สอดคล้องกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการศึกษา สำหรับ *E. coli* จึงเหมาะสมที่จะใช้อาหาร TSA เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุนในการทดลอง

ผลการทดลองในเรื่องสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกต่อการยับยั้ง *E. coli* ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งได้ประมาณ 8 log cfu/ml ในหลอดทดลอง และ 6 log cfu/g บนฝรั่ง มีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ Venkitanarayanan *et al.* (2002) ที่ศึกษาวิธีที่มีประสิทธิภาพสำหรับการยับยั้งหรือลด *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis และ *Listeria monocytogenes* บนแอปเปิ้ล ส้ม และมะเขือเทศ ซึ่งมีการถ่ายเชื้อแบบเป็นจุดบน แอปเปิ้ล ส้ม และมะเขือเทศ ด้วยจุลินทรีย์ผสม 5 สายพันธุ์ของ *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis และ *Listeria monocytogenes* โกล์กับก้านและจุ่มในน้ำปลอดเชื้อ (sterile deionized water) ที่ประกอบด้วยกรดแลคติก 1.5 % ผสมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % เป็นเวลา 15 นาที ที่ 40 °C ตัวอย่างที่ถูกถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ถูก ทริทด้วยน้ำปลอดเชื้อที่อุณหภูมิเดียวกันและระยะเวลาเหมือนกัน เป็นชุดควบคุม จุลินทรีย์ก่อโรคนบนผลไม้ที่ถูกทริทด้วยสารละลายเค็มจะลดลงมากกว่า 5 log₁₀ cfu/ผล ในขณะที่น้ำปลอดเชื้อลดจุลินทรีย์ก่อโรคได้เพียง 1.5-2.0 log₁₀ cfu/ผล

และสอดคล้องกับการศึกษาของ Bailey *et al.* (1999) ซึ่งศึกษาการใช้สารละลายแลคติก 1.5 % ร่วมกับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 % 15 นาที ที่ 40 °C ในการลด *E. coli* O157:H7 ในผักกาดหอม แอปเปิ้ลและส้ม โดยสามารถลด *E. coli* O157:H7 ของส่วนใบลง 3.5 log₁₀ cfu /ใบ 5 log₁₀ cfu /ผล และลด *Salmonella* Enteritidis ส่วนใบลง 3 log₁₀ cfu /ใบ 4-5 log₁₀ cfu /ผล และลด *Listeria monocytogenes* ลง 2 log₁₀ cfu /ใบ 3.5-4 log₁₀ cfu/ผล จากการประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัสพบว่าแอปเปิ้ลและส้มที่แช่ในสารละลายกรดแลคติก 1.5 % และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5% เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 40 °C ให้ผลดีกว่าผักกาด

หอม โดยผักกาดหอมต้อง ใช้ ที่อุณหภูมิต่ำกว่า (20°C) และใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงกว่า (2 %) กับกรดแอสคอบิก 1.5 % ในเวลาสั้นกว่า (5 นาที)

สำหรับผลในหลอดทดลองเปรียบเทียบกับผลบนฝรั่ง พบว่ามีความแตกต่างกันในเรื่องชนิดของสารละลายเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยผลในหลอดทดลองพบว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีประสิทธิภาพสูงสุด ขณะที่บนฝรั่งพบว่าสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกมีประสิทธิภาพสูงสุด ผลที่เป็นเช่นนั้นเนื่องมาจากในหลอดทดลองมีการใช้ความเข้มข้นของสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกที่ 1.5 % + 3.0% ขณะที่ความเข้มข้นของสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกบนฝรั่งใช้ที่ 1.5 % + 3.5% โดยความเข้มข้นของกรดแอสคอบิกที่มากขึ้น 0.5 % อาจมีผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้ง *E. coli* บนฝรั่งมากกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 1.5 %

อย่างไรก็ตามการพิจารณาผลอื่นๆ เช่น ลักษณะสี หรือการเกิดสีน้ำตาลเมื่อเวลาการจัดเก็บต่างๆ ก็มีส่วนสำคัญที่ต้องพิจารณาเพื่อให้ผลที่ดีที่สุดในเรื่องการยับยั้งจุลินทรีย์และคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ดี

4.3 ผลของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งสดหั่นชิ้น

ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ และเวลาการแช่ 5 นาที 10 นาที และ 15 นาที นำไปจัดเก็บที่ 4°C เป็นเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน และ 9 วัน โดยทำการตรวจวัดค่า L และคำนวณหาค่า ΔL เพื่อศึกษาผลของการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล

ผลการทดลองเป็นดังนี้

4.3.1 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 5 นาที เป็นดังภาพที่ 4.19

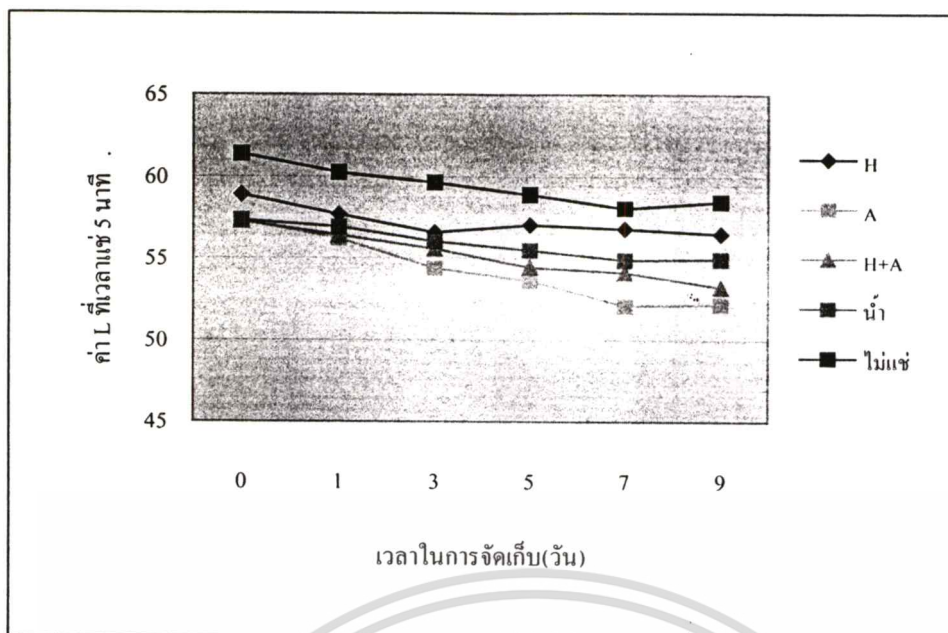
4.3.2 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 10 นาที เป็นดังภาพที่ 4.20

4.3.3 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 15 นาที เป็นดังภาพที่ 4.21

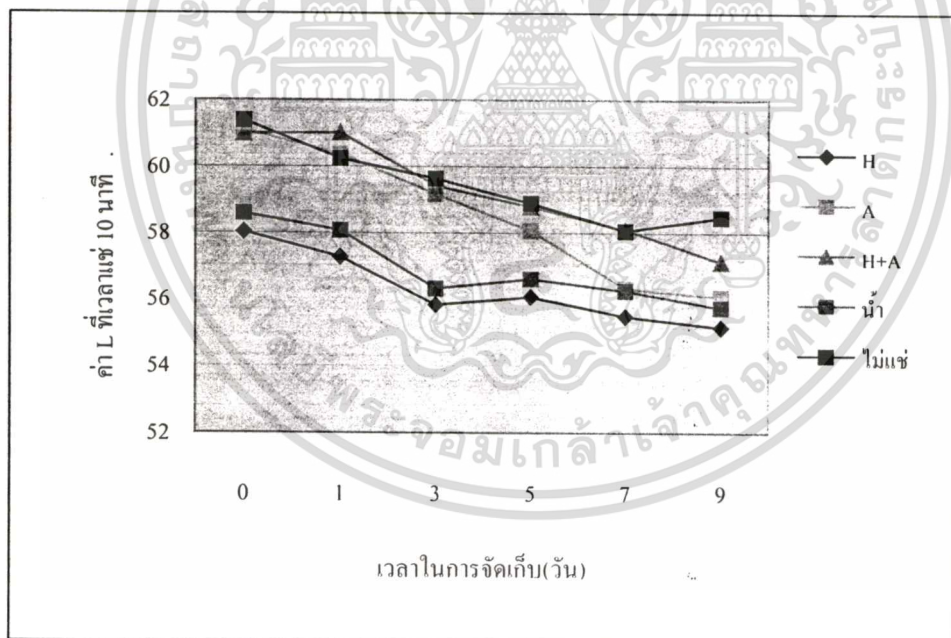
4.3.4 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 5 นาทีเป็นดังภาพที่ 4.22

4.3.5 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 10 นาทีเป็นดังภาพที่ 4.23

4.3.6 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 15 นาทีเป็นดังภาพที่ 4.24

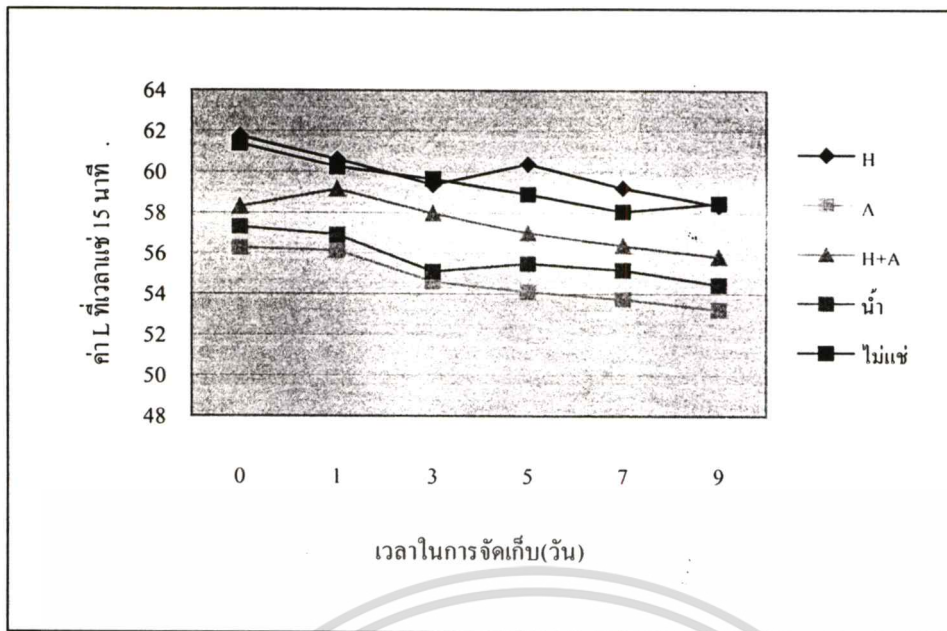


ภาพที่ 4.19 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 5 นาที

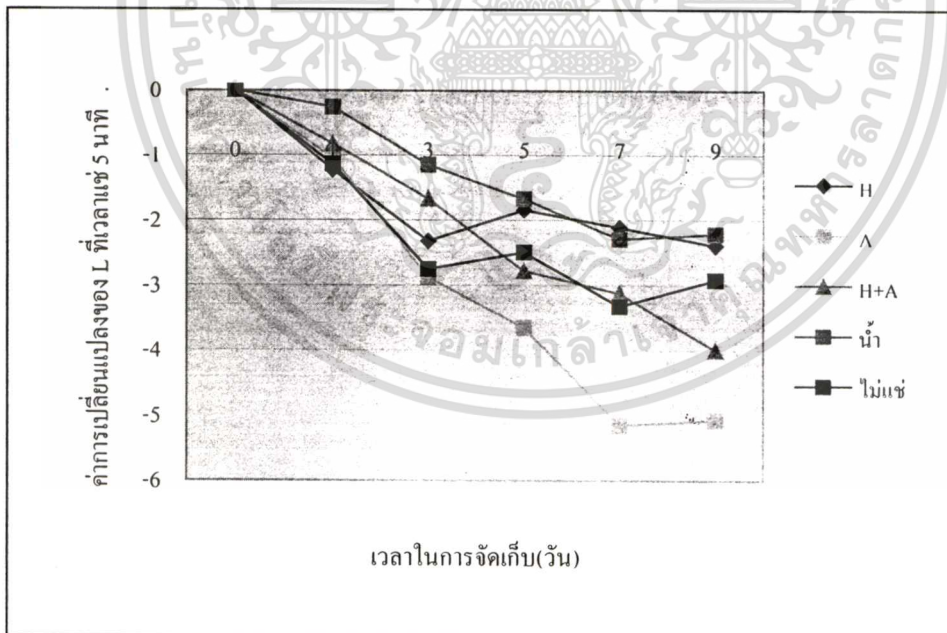


ภาพที่ 4.20 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

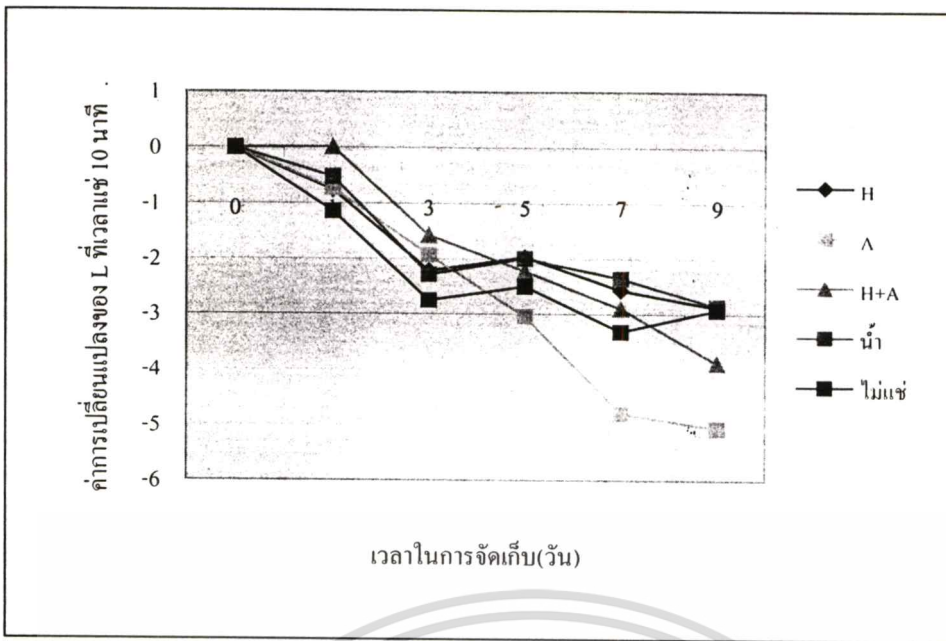


ภาพที่ 4.21 ค่า L ของฝรั่งที่เวลาในการแช่ 15 นาที

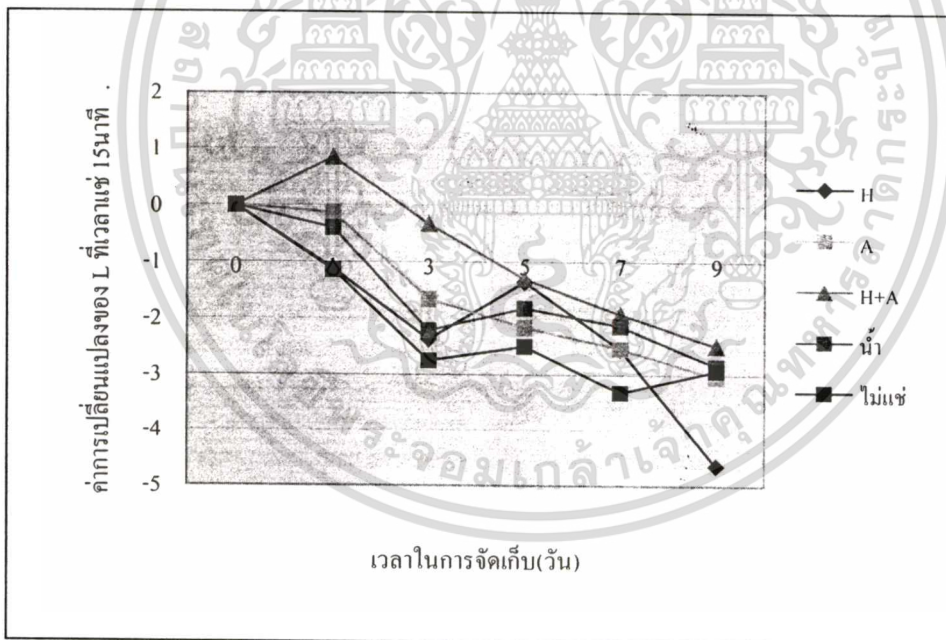


ภาพที่ 4.22 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.23 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 10 นาที



ภาพที่ 4.24 ค่าการเปลี่ยนแปลงของ L ที่เวลาในการแช่ 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น. ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า L ในภาพที่ 4.19, 4.20 และ 4.21 พบว่า ที่เวลาผ่านไปของการจัดเก็บ 9 วัน ทุกสารละลายจะมี L ลดลง จากเมื่อเริ่มจัดเก็บ ค่าการเปลี่ยนแปลงของค่า L เป็น 54.95, 55.74 และ 54.46 ตามลำดับ ดังนั้นไม่มีความแตกต่างกันของน้ำ 5นาทึ, น้ำ 10 นาทึ และ น้ำ 15 นาทึ

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ได้แช่ทรินเมนต์ใดๆ ซึ่งมีค่า L เป็น 58.47 จะพบว่าชุดที่แช่น้ำมีค่าต่ำกว่า

เมื่อเปรียบเทียบสารละลายต่างๆ พบว่า สารละลายกรดแอสคอบิกจะมีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด โดยที่ 5 นาทึ, 10 นาทึ และ 15 นาทึ มีค่า L เป็น 52.18, 56.05 และ 53.22 รองลงมาคือ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก โดยที่ 5 นาทึ, 10 นาทึ และ 15 นาทึ มีค่า L เป็น 53.24, 57.12 และ 55.85 และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 5 นาทึ, 10 นาทึ และ 15 นาทึ มีค่า L เป็น 56.5, 55.15 และ 58.35

จากภาพที่ 4.22, 4.23 และ 4.24 พบว่าค่า ΔL ของกรดแอสคอบิกซึ่งมีค่าเป็น -5.07 , -5.06 และ -3.04 ที่เวลาการแช่ 5 นาทึ 10 นาทึ และ 15 นาทึ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อเวลาการแช่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าที่เวลา 15 นาทึให้ผลการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้สูงสุด ส่วนสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มี ค่า ΔL เป็น -2.39 , -2.88 และ -4.64 ที่เวลาการแช่ 5 นาทึ 10 นาทึ และ 15 นาทึ ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่ามีค่าการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นเมื่อเวลาการแช่เพิ่มขึ้น แสดงว่าการใช้เวลาในการแช่นานขึ้นมีผลยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้น้อยลง การใช้กรดแอสคอบิกร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มี ค่า ΔL เป็น -4.00 , -3.88 และ -2.48 ที่เวลาการแช่ 5 นาทึ 10 นาทึ และ 15 นาทึ ตามลำดับ จะให้ผลในลักษณะคล้ายกันกับกรดแอสคอบิกคือ ที่เวลาการแช่เพิ่มขึ้นจะมีค่า ΔL ลดลง แสดงว่าการใช้เวลาแช่นานขึ้นมีผลเพิ่มการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล

ที่เวลาแช่ 5 นาทึ

ค่า ΔL ของชุดไม่แช่ทรินเมนต์ ชุดแช่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และชุดแช่น้ำมีค่าเป็น -2.92 , -2.39 และ -2.21 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดกรดแอสคอบิกและสารละลายผสมซึ่งมีค่า ΔL เป็น -4.00 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงมากกว่า แสดงให้เห็นว่ากรดแอสคอบิกและสารละลายผสม มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งที่เวลาการแช่ 5 นาทึ

ที่เวลาแช่ 10 นาที

ค่า ΔL ของชุดไม้แช่ทริทแมนด์ ชุดแช่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ ชุดแช่น้ำมีค่า -2.92, -2.88 -2.85 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดเกรดแอสคอบิกและสารละลายผสมซึ่งมีค่า ΔL เป็น -5.06 และ -3.88 ซึ่งมีค่าการเปลี่ยนแปลงมากกว่า แสดงให้เห็นว่าเกรดแอสคอบิกและสารละลายผสม มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งที่เวลาการแช่ 10 นาที

เมื่อเปรียบเทียบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เวลาแช่ 5 นาทีเทียบกับ 10 นาที พบว่าที่เวลา 10 นาทีมีค่า ΔL มากกว่าแสดงว่าที่เวลาแช่ 10 นาทีมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลมากกว่าที่เวลาแช่ 5 นาที

เมื่อเปรียบเทียบเกรดแอสคอบิกที่เวลาแช่ 5 นาทีเทียบกับ 10 นาที พบว่าที่เวลา 10 นาทีมีค่า ΔL น้อยกว่าแสดงว่าที่เวลาแช่ 10 นาทีมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลน้อยกว่าที่เวลาแช่ 5 นาที

เมื่อเปรียบเทียบน้ำที่เวลาแช่ 5 นาทีเทียบกับ 10 นาที พบว่าที่เวลา 10 นาที มีค่า ΔL มากกว่าแสดงว่าที่เวลาแช่ 10 นาทีมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลมากกว่าที่เวลาแช่ 5 นาที

เมื่อเปรียบเทียบสารละลายผสมที่เวลาแช่ 5 นาทีเทียบกับ 10 นาที พบว่าที่เวลา 10 นาที มี ΔL น้อยกว่าแสดงว่าที่เวลาแช่ 10 นาทีมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลน้อยกว่าที่เวลาแช่ 5 นาที

ที่เวลาแช่ 15 นาที

ค่า ΔL ของชุดไม้แช่ทริทแมนด์ ชุดแช่เกรดแอสคอบิก และชุดแช่น้ำมีค่าเป็น -2.92, -3.04 และ -2.84 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน ขณะที่สารละลายผสมซึ่งมีค่า ΔL เป็น -2.42 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าแสดงว่าสารละลายผสมที่เวลาการแช่ 15 นาทีมีผลต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่ง

สำหรับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีค่า ΔL เป็น -2.73 เปรียบเทียบกับชุดไม้แช่ทริทแมนด์ ชุดแช่เกรดแอสคอบิก และชุดแช่น้ำพบว่าอยู่ในระดับใกล้เคียงถึงมากกว่าเล็กน้อย แสดงว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เวลาแช่ 15 นาทีมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่ง

เมื่อเปรียบเทียบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เวลาแช่ 15 นาทีเทียบกับที่เวลาแช่ 5 นาที และ 10 นาที พบว่าที่เวลา 15 นาทีมีค่า ΔL มากกว่าแสดงว่าที่เวลาแช่ 5 นาที และเวลาแช่ 10 นาทีแสดงว่ายิ่งเวลาในการแช่มากขึ้นยิ่งมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบเกรดแอสคอบิกที่เวลาแช่ 15 นาทีเทียบกับ ที่เวลาแช่ 5 นาที และ 10 นาที พบว่าที่เวลา 15 นาทีมีค่า ΔL น้อยกว่าแสดงว่ายิ่งเวลาในการแช่มากขึ้นยิ่งมีผลต่อการยับยั้งเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบสารละลายผสมที่เวลาแช่ 15 นาทีเทียบกับ ที่เวลาแช่ 5 นาที และ 10 นาที พบว่าที่เวลา 15 นาทีมีค่า ΔL น้อยกว่าแสดงว่ายิ่งเวลาในการแช่มากขึ้นยิ่งมีผลต่อการยับยั้งเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น ซึ่งให้ผลเหมือนกับในเกรดแอสคอบิก

เมื่อเปรียบเทียบน้ำที่เวลาแช่ 15 นาทีเทียบกับ ที่เวลาแช่ 5 นาที และ 10 นาที พบว่าที่เวลา 15 นาทีมีค่า ΔL มากกว่าแสดงว่ายิ่งเวลาในการแช่มากขึ้นยิ่งมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น

จากผลการทดลองทั้งในเรื่องผลของสารละลายเคมีต่อการยับยั้ง *E.coli* และผลต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล หากต้องการผลที่ดีที่สุดทั้งสองด้านแล้วควรใช้สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกที่เวลาการแช่ 15 นาที ซึ่งสามารถทำลาย *E.coli* ได้ 6.68 และ 6.75 log cfu/g ในอาหาร TSA และ PCA ตามลำดับ และมีค่า L และ ΔL เป็น 55.82 และ -2.48 ตามลำดับที่เวลาการจัดเก็บ 9 วัน อุณหภูมิ 4 °C รองลงมาคือสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เวลาการแช่ 5 นาที ซึ่งสามารถทำลาย *E.coli* ได้ 5.47 และ 5.2 log cfu/g ในอาหาร TSA และ PCA ตามลำดับ และมีค่า L และ ΔL เป็น 56.5 และ -2.39 ตามลำดับที่เวลาการจัดเก็บ 9 วัน อุณหภูมิ 4 °C

การที่สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกให้ผลยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี เป็นผลจากสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับสารละลายกรดแอสคอบิก ดังเช่นผลการทดลองที่พบว่าเฉพาะสารละลายกรดแอสคอบิกจะสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ประมาณ 1.7-3.67 log cfu/g ในหลอดทดลองและ 5.0-5.7 log cfu/g บนฝรั่ง ขณะที่สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ประมาณ 4.9-8.8 log cfu/g ในหลอดทดลองและ 5.0-5.4 log cfu/g บนฝรั่ง แต่เมื่อใช้ร่วมกันทั้งสองชนิดพบว่าสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ประมาณ 1.6-8.7 log cfu/g ในหลอดทดลองและ 6.6-6.7 log cfu/g ซึ่งเท่ากับจุลินทรีย์ทั้งหมดบนฝรั่ง

ส่วนผลในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลนั้น ในสารละลายกรดแอสคอบิกและสารละลายผสมเมื่อเวลาการแช่นานขึ้นให้ผลยับยั้งสีน้ำตาลได้ดีขึ้น ส่วนในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะให้ผลตรงกันข้ามคือ ยิ่งเวลาในการแช่มากขึ้นจะมีผลทำให้เกิดสีน้ำตาลได้มากขึ้น โดยกรดแอสคอบิกช่วยยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ 2 วิธี คือ การเกิดปฏิกิริยากับควิโนนโดยกรดแอสคอบิกจะรีดิวซ์ควิโนนให้กลับไปเป็นฟีนอลตามเดิมก่อนที่ควิโนนจะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล (Zawistowski *et al.* 1991) โดยการยับยั้งเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสโดยผ่านทางารเกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ไปปิด Active site ของเอนไซม์ (Zawistowski *et al.* 1991) และ 2) กรดแอสคอบิกยังถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ภายในเซลล์ได้ง่าย หรือเกิดออกโตออกซิเดชัน โดยมีเหล็กหรือทองแดงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เมื่อเกิดการออกซิไดซ์โดยปฏิกิริยาเหล่านี้ทำให้กรดแอสคอบิกซึ่งทำหน้าที่เป็นโปรออกซิเดชันเองก็สามารถเกิดปฏิกิริยาให้สีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์ได้ และยับยั้งโดยที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ กรดแอสคอบิกสามารถยับยั้งการทำงานของโพลีฟีนอลออกซิเดสได้ ดังนั้นจากการทดลอง กรดแอสคอบิกในสารละลายอาจถูกออกซิไดซ์โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำให้กรดแอสคอบิกที่อยู่บนผิวฝรั่งถูกออกซิไดซ์โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บางส่วน จึงสามารถให้ผลการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลบนฝรั่งได้

สรุปผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาของระดับความเข้มข้นของสารละลายและเวลา ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง พบว่าประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ในหลอดทดลองเป็นดังนี้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มากกว่า สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก และมากกว่า กรดแอสคอบิก
 - 1.1 ผลการศึกษาของระดับความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และเวลา ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.5 %, 2.5 % และ 3.0 % ทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมดเมื่อแช่เป็นเวลา 10 นาทีที่ความเข้มข้น 1.5 % และ 5 นาทีที่ความเข้มข้น 2.5 % และ 3.0 %
 - 1.2 ผลการศึกษาของระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอบิก และเวลา ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง แสดงให้เห็นว่าในสารละลายกรดแอสคอบิกจะสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้สูงสุด ที่ความเข้มข้น 3.0 % ที่เวลา 10 นาที แต่ประสิทธิภาพน้อยกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
 - 1.3 ผลการศึกษาของระดับความเข้มข้นของสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก และเวลา ต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในหลอดทดลอง แสดงให้เห็นว่าในสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก ที่ความเข้มข้น 1.5 % + 2.5 % และ 1.5 % + 3.5 % สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด ที่เวลา 10 นาทีและ 10 นาที แต่ประสิทธิภาพน้อยกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
2. ผลการศึกษาของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ในฝั่รงสดหั่นชิ้น
 - 2.1 ประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์บนฝั่รง เป็นดังนี้ สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกมากกว่า กรดแอสคอบิกและมากกว่า ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
 - 2.2 ผลของเวลาการแช่ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของเวลาการแช่ต่อการยับยั้งจุลินทรีย์
 - 2.3 สารเคมีมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ได้มากกว่าชุดถ่ายเชื้อ ไม่ถ่ายเชื้อและชุดแช่น้ำประมาณ 1-3.5 log cfu/g

3. ผลการศึกษาของสารละลายเคมีต่อการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งสดหั่นชิ้น
- 3.1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในฝรั่งสดหั่นชิ้นเป็น สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มากกว่า สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิก และมากกว่า กรดแอสคอบิก
- 3.2 ในทุกทริทเมนต์เมื่อเวลาผ่านไปของการจัดเก็บ 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ° C จะพบว่าการเปลี่ยนแปลงเกิดสีน้ำตาลมากขึ้นที่เวลาการจัดเก็บนานขึ้น
- 3.3 การใช้เวลาในการแช่หั่นชิ้นในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และในน้ำมีผลยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้น้อยลง
- 3.4 การใช้เวลาในการแช่หั่นชิ้นในกรดแอสคอบิกและสารละลายผสมมีผลยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้มากขึ้น
- 3.5 หากต้องการผลที่ดีที่สุดทั้งการยับยั้งจุลินทรีย์และยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล ควรใช้สารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกที่เวลาการแช่ 15 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* มีหลายสายพันธุ์ ดังนั้นหากผู้ศึกษามีความสนใจจะศึกษา ควรพิจารณาสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับ ชนิดอาหารที่ต้องการศึกษา โดยพิจารณาปัจจัยต่างๆ เช่น ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ ค่าออกเทอร์แอคติวิตี และอื่นๆ ร่วม เพื่อเป็นประโยชน์ในการศึกษาและสามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์
2. สารเคมีที่ใช้ในการศึกษา ควรคำนึงถึงเรื่อง ราคา ปริมาณที่ใช้ ความปลอดภัยทางด้านอาหาร คุณสมบัติในการทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงสี และอื่นๆ
3. การป้องกันการปนเปื้อนเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการลดความเสี่ยงต่อผู้บริโภค ดังนั้นผู้ผลิตจึงควรตระหนักและให้ความสนใจเรื่องสุขาภิบาลและความสะอาดในขั้นตอนต่างๆ ของการผลิต มากกว่าการแก้ไขปัญหาหลังการผลิต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- ปิยรัตน์ ดิษฐ์แก้ว และ ศรีแทน คุณหงษ์. 2542. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของผักหั่นพร้อมปรุงบรรจุถุงโพลีเอทิลีน. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. 51-52.
- สุมาลี เหลืองสกุล. 2535. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.
- Adams, M.R. and C.J. Hall. 1988. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *Int. J. Food Sci. and Technol.* 23 :287-292.
- Bailey, H. et. al. 1999. Efficacy of Different Combinations of Chemicals and Temperatures to Inactivate Pathogenic Microorganisms of Fresh Fruits and Vegetables. [online]. Available: [http:// www.griffin.peachnet.edu/fst/pages/Produce.html](http://www.griffin.peachnet.edu/fst/pages/Produce.html)
- Bolin, H.R. 1977. Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. *J. Food Sci.* 56 : 60-62.
- Brackett, R.E. 1992. Microbiological safety of chilled foods : Current issues. *Trends Food Sci. Technol.* 3(4) : 81-85.
- Brecht, J.K., A.O.U. Sabaa-Srur, S.A. Sargent and R.J. Bender. 1993. Hypochlorite Inhibition of Enzymic Browning of Cut Vegetables and Fruits. *Acta Horticulturae.* 343 : 341-344.
- Cutter, C.N. and G.R. Siragusa. 1994. Efficacy of organic acids against *Escherichia coli* O157:H7 attached of beef carcass tissue using a pilot scale model carcass washer. *J. Food Prot.* 57 : 97-103.
- Davidson, M.P. and K.V. Juneja. **Antimicrobial agents.** In : Food Additives. Edited by Branen, L.A. and M.P. Davidson, New York : Marcel Dekker, 1990 : 102-105, 494, 634-681.
- Davidson, M.P. 1997. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds, P.520-577. In M.P. Doyle, L.R. Beuchat and T.J. Montville (eds.). **Food Microbiology : Fundamentals and Frontiers.** ASM Press, Washington D.C.
- Doyle, M.P., L.R. Beuchat and T.J. Montville. 1997. **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers.** AMS press, Washington, D.C. 768 p.
- Fain, A.R. 1996. A review of the microbiological safety of fresh salads. *Dairy Food Environ. Sanit.* 16 : 146-149.
- Foster, J.W. 1993. The acid tolerance response of *Salmonella Typhimurium* involves transient synthesis of key shock proteins. *J. Bacteriol.* 75 : 1981-1987.

- Foster, J.W. and H.K. Hall. 1990. Adaptive acidification tolerance response of *Salmonella Typhimurium*. **J.Bacteriol.** 172 : 771-778.
- Foster, J.W. and H.K. Hall. 1991. Inducible pH homeostasis and the acid tolerance response of *Salmonella Typhimurium*. **J.Bacteriol.** 173 : 5129-5135.
- Garg, N., J.J. Churey and D. F.Spittstoesser. 1990. Effect of processing condition on the microflora of fresh cut vegetable. **J.Food Prot.** 53(8) : 701-703.
- Gunes, G.and C.Y.Lee. 1997. Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packaging and antibrowning agents. **J. of Food Sci.** 62(3) : 572-575.
- Guthrie, B.D. and R.B.Beelman. 1989. Control of bacterial deterioration in fresh washed mushroom. **Mashroom Sci.** 12 : 689-700.
- Hagenmaier, R.D. and R.A. Baker. 1998. Microbial population of shredded carrot in modified atmosphere packaging as related to irradiation treatment. **J. of Food Sci.** 63(1) :162-164.
- Harrigan, W.F. and R.W.A. Park. 1991. **Making Safe Food : A Mangement Guide for Microbiological Quality.** Academic Press, London. 178p.
- Heimann, W. **Fundamentals of Food Chemistry.** England : Ellis Horwood, 1980 : 137, 254-301.
- Honnay,R. 1988. Process for improving the preservation of fresh vegetables and fruits. **Europ. Patent** 0 255 814.
- Klapes, N.A. and D. Vesley. 1990. Vapor phase hydrogen peroxide as a surface decontamination and sterilant. **Appl. Environ. Microbiol.** 56 : 503-506.
- Langdon, T.T. 1987. Preventing of Browning in Fresh Prepared Potatoes without the Use of Sulfiting agents. **Food Tech.** 41(5) : 64-67.
- Leyer,G.J., L.Wang and E.A. Johnson. 1995. Acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 increase survival in acidic foods. **Appl.Environ.Microbiol.** 61: 3752-3755.
- Lonzano, J.E., R. Drudis-Biscarri and A. Ibarz-Ribaz. Enzymatic Browning in Apple Pulps. **J. of Food Sci.** 59(3) (1994) : 564-567.
- Lou, Y. and A.E. Yousef. 1996. Resistance of *Listeria monocytogenes* to heat after acception to environmental stresses. **J. Food Prot.** 59 : 465-471.
- McConnell,A.L. 1991. Evaluation of wash treatments for the improvement of quality and shelf life of fresh mushrooms. M.S. thesis, Dept. of Food Science, Pennsylvania State University Park.
- McEvily, J.A., R. Iyengar and A. Gross. 1991.Composition and Methods for Inhibiting Browning in Food Using Resorcinol Derivatives. **U.S.Pat.** 5,059,438, Oct. 22,

- McEvily, J.A., R. Iyengar and S. Otwell. 1991. Sulfite Alternative Prevents Shrimp Melanosis. **Food Tech.** 45(9) : 80-86.
- McLachlan, A. and R. Stark. 1985. **Modified atmosphere packaging of selected prepared vegetables.** Technical memorandum No. 412, Campden Food Preservation Research Association, Campden, U.K.
- Monsalve-Gonzalez, A., V.G. Barbosa-Canovas, P.R. Cavalieri, J.A. McEvily and R. Iyengar. 1993. Control of Browning During Storage of Apple Slices Preserved by Combined Methods 4-Hyxyresorcinol as Anti-Browning Agent. **J. Food Sci.** (4) : 797-800.
- Oktay, M., I. Kufrevioglu, I. Kocacaliskan and H. Sakiroglu. 1995. Polyphenoloxidase from Amasya Apple. **J. of Food Sci.** 60 (3) : 494-496.
- Paull, R.E. and W. Chen. 1997. Minimally processing of papaya (*Carica papaya* L.) and the physiology of halved fruit. **Postharvest Biology and Technol.** 12 : 93-99.
- Ponting, D.J. et al. 1972. Refrigerated Apple Slices Preservative Effects of Ascorbic Acid, Calcium and Sulfites. **J. Food Sci.** 37(3) : 434-436.
- Priepke, P.E., L.S. Wei and A.L. Nelson. 1976. Refrigerated storage of prepackaged salad vegetables. **J. of Food Sci.** 41 : 379-384.
- Rainey, P.B., C.L. Brodey and K. Johnstone. 1992. Biology of *Pseudomonas tolaasii*, cause of brown blotch disease of the cultivated mushroom. **Adv. Plant Pathol.** 8:95-117.
- Rji, R.E. and C.F. Forney. 1995. Phytotoxicity of vapor phase hydrogen peroxide to Thompson seedless grapes and *Botrytis cinerea* spores. **Crop. Prot.** 14 : 131-135.
- Robinson, S.D. **Food Biochemistry and Nutritional Value.** Hong Kong : Longman Group, 1987 : 377, 469-479.
- Sacharow, S. and R.C. Griffin. **Principles of Food Packaging.** 2nd. Westport, Connecticut : The AVI Publishing, 1980 : 239-256.
- Sapers, G.M., R.L. Miller and F.C. Miller. 1994. Enzymatic control in minimally processed mushrooms. **J. of Food Sci.** 59 (5) : 1042-1047.
- Sapers, G.M., R.L. Miller and G. Simmons. 1995. Effects of hydrogen peroxide treatment on fresh-cut fruits and vegetables. **Inst. of Food Technologists, Anaheim, Calif., June 3-7.**
- Sapers, G.M. and G.F. Simmons. 1998. Hydrogen Peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. **Food Technol.** 52 (2) : 48-53.

- Sapers,G.M. and M.A.Ziolkowski. 1987. Comparison of Erythorbic and Ascorbic Acids as Inhibitors of Enzymatic Browning in Apple. **J. of Food Sci.** 52 (6) : 1732-1733.
- Sapers,G.M., K.B.Hicks, J.G. Phillips, L. Garzarella,D.L. Pondish, R.M. Matulaitis, T.J. McCormack, S.M. Sondey, P.A. Seib and Y.S.Eiatawy. 1989. Control of Enzyme Browning in Apple with Ascorbic Acid Derivatives Polyphenoloxidase Inhibitors, and Complexing Agents. **J. of Food Sci.** 54 (4) : 997-1002.
- Seib, P.A. and Liao, M.L. Ascorbate-2-Polyphosphate Making Same. U.S. Pat. 4, 1987: 647, 672.
- Simmon, G.F., J.L. Smilanick and D.A.Margosan. 1995. Hydrogen peroxide vapor reduce microbe on raisins. **Inst. of Food Technologists,Anaheim,Calif.,June 3-7.**
- Simmon, G.F., J.L. Smilanick and D.A.Margosan. 1997. Reduction of microbial population on prunes by vapor phase hydrogen peroxide. **J. Food Protect.** 60 : 188-191.
- Tsai,Y. and S.C. Ingham. 1997. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in acidic condiments. **J. Food Prot.** 7 : 751-755.
- Venkitanarayanan, K. S. et. al. 2002. "Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Enteritidis*, and *Listeria monocytogenes* on Apples, Orange and Tomatoes by Lactic Acid with Hydrogen Peroxide." **J.Food Prot.**65:100-105.
- Wang, J.and R.T.Toledo. 1986. Sporicidal properties of mixtures of hydrogen peroxide vapor and hot air. **Food Technol.** 40(12) : 60-67.
- Watada, A.E. and K. Abe. 1990. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. **Food Technol.** 44 : 116-122.
- Wiley, R.C . 1994. **Minimally processed refrigerated fruit and vegetables**, Chapman & Hall. 135-167.
- Yang, S.F. 1985. Biosynthesis and association of ethylene. **Hort Science.** 20 : 41-45.
- Zawistowski,J., C.G. Biliaderis and M.A.N. Eskin, **Polyphenol Oxidase**. Edited by Robinson, D.S. and M.A.N. Eskin.London : Elsevier London: Elsevier Science Publishers. 1991: 217-252.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์

1. การเตรียมน้ำยาสำหรับเจือจาง (Diluent preparation)

เตรียมสารละลายเปปโตน 0.1 % น้ำหนักต่อปริมาตร เช่น ชั่ง 1 กรัม ต่อน้ำ 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี เทใส่ขวด ปิดฝาแล้วนำไปนิ่งฆ่าเชื้อ

2. การเตรียมอาหาร

2.1 การเตรียมอาหารแข็งสแตนด์รด์เพลทเคาน์อาการ์ (Standard plate count agar, PCA)

ก. การเตรียมอาหารตามสูตร

1. ชั่งสารอาหารต่างๆ ตามสูตรอาหารดังนี้

ทริปโตน	5.0	กรัม
ยีสต์สกัด	2.5	กรัม
กลูโคส	1.0	กรัม
อาการ์	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิกรัม
pH	7.0 ± 1.0	

- นำวุ้นหรืออาการ์ (Agar) ใส่น้ำลงไปตามส่วนให้ความร้อนจนวุ้นละลาย ใส่ส่วนผสมต่างๆ ให้ละลายเข้ากันดี
- ปรับ pH เป็น 7 บรรจุอาหาร PCA ลงในขวดบรรจุอาหาร
- นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ข. การเตรียมอาหารจากอาหารผสมกึ่งสำเร็จรูป

เตรียมในอัตราส่วนตามฉลากข้างขวดบรรจุ

2.2 การเตรียมอาหารแข็งทริปโตสซอยอาร์กา (TSA)

ก. การเตรียมอาหารตามสูตร

1. ชั่งสารอาหารต่างๆ ตามสูตรอาหารดังนี้

Casein peptone	15.0	กรัม
Soymeal peptone	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม

Agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

- นำวุ้นหรืออาการ์ (Agar) ใส่น้ำลงไปตามส่วนให้ความร้อนจนวุ้นละลาย ใส่ส่วนผสมต่างๆ ให้ละลายเข้ากันดี
- ปรับ pH เป็น 7 บรรจุน้ำอาหาร PCA ลงในขวดบรรจุน้ำอาหาร
- นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ข. การเตรียมอาหารจากอาหารผสมกึ่งสำเร็จรูป

เตรียมในอัตราส่วนตามฉลากข้างขวดบรรจุ

2.3 การเตรียมอาหารอาหารเหลวทริปโตสซอຍบรอต (TSB)

ก. การเตรียมอาหารตามสูตร

- ชั่งสารอาหารต่างๆ ตามสูตรอาหารดังนี้

Casein peptone	17.0 กรัม
Soymeal peptone	3.0 กรัม
D(+) Glucose	2.5 กรัม
Sodium chloride	5.0 กรัม
Di-Potassium hydrogen phosphate	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

- นำวุ้นหรืออาการ์ใส่น้ำลงไปตามส่วนให้ความร้อนจนวุ้นละลาย ใส่ส่วนผสมต่างๆ ให้ละลายเข้ากันดี
- ปรับ pH เป็น 7 บรรจุน้ำอาหาร PCA ลงในขวดบรรจุน้ำอาหาร
- นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ข. การเตรียมอาหารจากอาหารผสมกึ่งสำเร็จรูป

เตรียมในอัตราส่วนตามฉลากข้างขวดบรรจุ

3. การเตรียมตัวอย่างฟรังสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *E.coli* และปริมาณเชื้อทั้งหมด

ชั่งตัวอย่าง 25 กรัมลงในใส่ในถุงปลอดเชื้อ เติมน้ำละลายเปปโตนที่ปลอดเชื้อลงไป 225 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องตีปั่นไฟฟ้า (stomacher) ให้เข้ากันนานประมาณ 30 วินาที จะได้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1:10

4. การเจือจางตัวอย่าง

4.1 การเจือจางตัวอย่างอาหารในขั้นต้น

การทำให้อาหารเจือจางในระดับ 1:10 เท่า โดยชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม เทน้ำยาเจือจาง 225 มิลลิกรัม นำไปตีปนอาหารโดยใช้เครื่องตีปั่นไฟฟ้า (stomacher) กรณีที่ไม่มีเครื่องมือ สามารถใช้มือบีบถุงเพื่อขยี้ให้อาหารแตกละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน โดยระมัดระวังอย่าให้เกิดการปนเปื้อน

4.2 การทำให้ตัวอย่างอาหารเจือจางลงตามลำดับ

ทำการเจือจางลงระดับละ 10 เท่า (ten fold serial dilution) โดยใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่บรรจุน้ำยาสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดด้วย เครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) ตัวอย่างอาหารในขั้นนี้ จะมีความเจือจาง 1:100 (10^{-2}) ถ้าต้องการเจือจางในระดับ ต่อไปคือ 1:1000 (10^{-3}) , 1:10000 (10^{-4}) เรื่อยไปตามลำดับ ให้ทำตามวิธีขั้นต้นและควรเปลี่ยนปิเปตใหม่ทุกครั้งในทุกระดับความเจือจางที่ต้องการเตรียม

5. การตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์โดยวิธีเขย่าจาน (Shake plate or pour plate)

เป็นการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ โดยทำให้ตัวอย่างอาหารเจือจางลงจนมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่ในระดับที่จะตรวจนับได้ด้วยวิธีนั้นๆ ได้ถูกต้องแม่นยำและต้องทำให้ตัวอย่างอาหารกระจายอยู่ในน้ำยาสำหรับเจือจาง (diluent) อย่างทั่วถึงจนเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) ซึ่งเรียกตัวอย่างอาหารที่ถูกทำให้เจือจางเป็นเนื้อเดียวกันว่า food homogeneous มีวิธีการเตรียมดังนี้

5.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่ต้องการ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วมาอุ่นให้ได้อุณหภูมิ ประมาณ $45-50^{\circ}\text{C}$ ใช้ปิเปตดูดอาหารแต่ละความเจือจาง โดยเริ่มจากตัวอย่างที่มีความเจือจางมากที่สุดใส่จานเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร แต่ละระดับความเจือจางควรทำอย่างน้อย 2 จาน และใช้ระดับความเจือจางอย่างน้อย 3 ระดับ โดยเรียงพร้อมกันสี่ใบ ดูดอาหารใส่จานเปล่าใบล่างสุดก่อนแล้วใส่ขึ้นมาจนถึงใบบนสุด เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานประมาณ 15-20 มิลลิลิตร โดยเริ่มจากจานใบล่างสุดเช่นเดียวกัน เขย่าจานที่ซ้อนกันอยู่ทั้งสี่ใบพร้อมกัน โดยหมุนไปทางขวา 3-4 ครั้ง หมุนไปทางซ้าย 3-4 ครั้ง ทิ้งไว้จนอุ่นแข็ง

5.2 การบ่มเชื้อ

บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงสำหรับ อาหาร TSB, TSA และ PCA

5.3 นับจำนวนโคโลนีทั้งหมด กำหนดหาปริมาณจุลินทรีย์ ทั้งหมดต่อกรัมของอาหารจากสูตร

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (เซลล์ต่อกรัม) = จำนวนโคโลนี x ความเจือจางของอาหาร

6. การเตรียมสารละลายเชื้อ *E.coli* เข้มข้น (Inoculum preparation)

- 6.1 เลี้ยงเชื้อ *E.coli* บนอาหารแข็งทริปโตสซอยอาร์กา (TSA) บ่มที่ 35 ° C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 6.2 นำไปถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลวทริปโตสซอยบรอก (TSB) โดยใช้หัวเข็มเชื้อ บนอาหารแข็งทริปโตสซอยอาร์กา 1 ลูบ ถ่ายลงในอาหารเหลวทริปโตสซอยบรอก 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ° C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
- 6.3 ถ่ายเชื้อจาก อาหารเหลวทริปโตสซอยบรอก 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวทริปโตสซอยบรอก 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ° C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง
- 6.4 ใช้ปิเปตถ่ายเชื้อในอาหารเหลวทริปโตสซอยบรอก 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีบัฟเฟอร์เปปโตโนวอเตอร์ (Buffered peptone water) 20 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น 10⁸ cfu/ml
- 6.5 หากต้องการเตรียมสารละลายเชื้อที่เข้มข้นน้อยกว่า ให้ทำการเจือจางระดับละ 10 เท่า เช่น ต้องการสารละลายเชื้อเข้มข้น 10⁶ cfu/ml ใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดตัวอย่างเข้มข้น 10⁸ cfu/ml 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่บรรจุน้ำยาสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) ถ้าต้องการสารละลายเชื้อเข้มข้น 10⁷ cfu/ml ใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดตัวอย่างเข้มข้น 10⁸ cfu/ml 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่บรรจุน้ำยาสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดด้วย เครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข


การวิเคราะห์หาค่าสีโดยเครื่อง COLORFLEX

1. การติดตั้งเครื่องมือ

- 1.1 ต่อสายแจ็ค (Jack for AC adapter cable) ของหม้อแปลงไฟฟ้าเข้าที่ช่องซ้ายมือด้านหลังเครื่อง COLORFLEX
- 1.2 เสียบปลั๊กต่อ UPS เข้ากับปลั๊กหม้อแปลงไฟฟ้า
- 1.3 เสียบปลั๊กของ UPS เข้ากับปลั๊กไฟ

2. การ Standardize เครื่องมือก่อนการใช้งาน

ให้ทำการ Standardize ทุกครั้งที่เริ่มใช้งานเครื่อง หรือทุก 4 ชั่วโมง ปฏิบัติดังนี้

- 2.1 ปรับปุ่มข้างเครื่องด้านขวามือ ไปที่เครื่องอ่าน (Read Key) 
 - เลื่อนเครื่องหมาย ▼ เพื่อเลือก STANDARDIZE กด ◀
- 2.2 นำแผ่นแก้วสีค่าที่สะอาดวางบนเป็น (Sample Plot) กดปุ่มอ่าน
- 2.3 เมื่ออ่านเรียบร้อยแล้ว หน้าจอจะแสดงคำว่า READ TO READY WHITE TILE ยกแผ่นแก้วสีค่าออกจากเป็น แล้ววางแผ่นสีขาว (White tile) ลงบนเป็น กดปุ่มอ่าน
- 2.4 หน้าจอจะแสดงคำว่า READY TO READ SAMPLE OR ID สามารถทำการตรวจวัดตัวอย่างได้

3. การเตรียมตัวอย่างและอุปกรณ์

- 3.1 ตัวอย่างที่เป็นของแข็ง เช่น ผลไม้ต่าง ๆ ตัดตัวอย่างที่ต้องการวัดให้ได้ขนาดกว้าง x ยาว 1.5" x 1.5"

4. การตรวจวัดสีของตัวอย่าง

- 4.1 เลือกปุ่มข้างเครื่องด้านขวามือ ไปที่เครื่องหมายอ่าน 
- 4.2 กดเครื่องหมาย ◀ หรือ ▶ เพื่อเลือกการวัดซึ่งมีดังนี้
 - DAYLIGHT COLOR (D65/10°) Lab
 - COLORMETER COLOR (D65/10°) L*a*b*
 - REFLECTANCE

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- SPECTRALDIFF
- COLOR PLOT (D65/10°) L*a*b*
- TRISTIMULUS VALUES (D65/10°) X Y Z
- COLORANT STRENGTH L*a*b* YI

4.3 การวัดตัวอย่างของแข็ง

- นำตัวอย่างที่ต้องการวัดวางบนแป้น โดยคิดว่าด้านที่ต้องการวัดลงบนแป้นวัด
- ใช้ถ้วยครอบแสงครอบลงตัวอย่าง กดปุ่มอ่าน

5. ข้อควรระวัง

- 5.1 ระวังอุปกรณ์ที่เป็นแก้วแตก
- 5.2 เช็ดอุปกรณ์ด้วยผ้านุ่มเท่านั้น เพื่อป้องกันรอยขีดข่วน ซึ่งจะมีผลต่อการตรวจวัด
- 5.3 เครื่องมือนี้ต้องต่อด้วยเครื่องสำรองไฟ (UPS)
- 5.4 หากไม่ได้ใช้เครื่องนานเกิน 30 นาที ให้ถอดปลั๊กออก





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 *E. coli* ที่ลดลงโดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในหลอดทดลองที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA

ความเข้มข้น ไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ (%)	<i>E. coli</i> ที่ลดลง (Log cfu /g) ^{1/}			
	TSA		PCA	
	เวลาแช่ 5 นาที	เวลาแช่ 10 นาที	เวลาแช่ 5 นาที	เวลาแช่ 10 นาที
1.5	4.94a	8.95a	5.06a	8.87a
2.5	8.95b	8.95a	8.87b	8.87a
3.0	8.95b	8.95a	8.87b	8.87a

^{1/} ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.2 *E. coli* ที่ลดลงโดยสารละลายกรดแอสคอบิกในหลอดทดลองที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA

ความเข้มข้น กรดแอสคอบิก (%)	<i>E. coli</i> ที่ลดลง (Log cfu /g) ^{1/}			
	TSA		PCA	
	เวลาแช่ 5 นาที	เวลาแช่ 10 นาที	เวลาแช่ 5 นาที	เวลาแช่ 10 นาที
1.5	2.05a	2.73a	2.20a	2.85a
2.5	2.50a	2.95a	2.92a	3.23a
3.0	2.55a	2.99a	2.89a	3.67a
3.5	1.75a	1.95a	2.23a	2.62a

^{1/} ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.3 *E. coli* ที่ลดลงโดยสารละลายผสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกรดแอสคอบิกในหลอดทดลอง ที่เวลาการแช่ 5 และ 10 นาที บนอาหาร TSA และ PCA

ความเข้มข้น ไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ผสมกรดแอส คอบิก (%)	<i>E. coli</i> ที่ลดลง (Log cfu /g) ¹			
	TSA		PCA	
	เวลาแช่ 5 นาที	เวลาแช่ 10 นาที	เวลาแช่ 5 นาที	เวลาแช่ 10 นาที
1.5 + 1.5	1.78a	8.74a	1.65a	8.65a
1.5 + 2.5	8.74b	8.74a	8.65b	8.65a
1.5 + 3.0	8.74b	8.74a	8.65b	8.65a

¹ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ตารางที่ ค.4 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งเศสหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงใน TSA

วันที่	จุลินทรีย์ที่ลดลง (Log cfu /g) ^{1'}		เวลาแช่ (นาที)	จุลินทรีย์ที่ลดลงบนอาหาร TSA (Log cfu /g) ^{1/2'}			
	ถ่าย เชื้อ	ไม่ถ่าย เชื้อ		ไฮโดรเจน เปอร์ ออกไซด์	กรดแอส คอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ผสม กรดแอสคอบิก	น้ำ
0	0.00a	0.00a	5	(a)1.90a	(a)3.15a	(a)4.51a	(a)0.84a
			10	(a)2.08a	(a)3.37a	(a)5.03a	(a)0.86a
			15	(a)2.18a	(a)4.08a	(a)5.49a	(a)0.18a
1	1.51ab	2.11ab	5	3.38b	4.24ab	5.98b	1.92b
			10	3.40b	3.49ab	6.08b	2.25b
			15	3.46b	4.53ab	6.58b	2.13b
3	1.67ab	1.75ab	5	4.17c	4.69bc	6.58b	2.57c
			10	4.43c	4.88bc	6.16b	3.16c
			15	3.91c	5.20bc	6.24b	2.53c
5	2.80b	2.49ab	5	4.55c	4.96bc	6.24b	3.29cd
			10	3.88c	4.99bc	6.52b	3.31cd
			15	4.29c	4.73bc	6.38b	2.67cd
7	2.55b	2.75b	5	5.06d	4.92c	6.68b	3.78de
			10	5.18d	5.95c	6.48b	3.56de
			15	5.34d	5.62c	6.48b	3.71de
9	2.99b	3.19b	5	5.47d	5.14c	6.68b	3.72e
			10	5.20d	5.75c	6.68b	4.05c
			15	5.08d	5.58c	6.68a	4.08e

^{1'}ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

^{1/2'}ตัวอักษรก่อนตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของเวลาในการแช่โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.5 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที โดยเฉพาะเลี้ยงใน PCA

วันที่	จุลินทรีย์ที่ลดลง (Log cfu /g) ^{1'}		เวลา แช่ (นาที)	จุลินทรีย์ที่ลดลงบนอาหาร PCA (Log cfu /g) ^{1,2'}			
	ถ่าย เชื้อ	ไม่ถ่าย เชื้อ		ไฮโดรเจน เปอร์ ออกไซด์	กรดแอส คอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ผสม กรดแอสคอบิก	น้ำ
0	0.00a	0.00a	5	(a)1.94a	(a)2.98a	(a)4.94a	(a)0.73a
			10	(a)1.94a	(a)3.25a	(a)4.89a	(a)0.96a
			15	(a)2.43a	(a)3.40a	(a)5.56a	(a)0.70a
1	1.40ab	2.22ab	5	3.67b	4.34b	6.05b	1.96b
			10	3.77b	3.72b	6.21b	2.01b
			15	3.97b	4.58b	6.54b	2.01b
3	1.99b	1.43ab	5	4.36b	4.65bc	6.49b	2.78c
			10	4.16b	4.91bc	6.05b	3.13c
			15	4.20b	5.34bc	6.31b	2.99c
5	2.92b	2.15ab	5	4.45b	4.97bc	6.54b	3.48cd
			10	4.18b	4.51bc	6.64b	3.31cd
			15	4.33b	5.06bc	6.75b	2.86cd
7	2.91b	2.76ab	5	5.16c	5.00c	6.64b	3.80de
			10	5.23c	5.56c	6.49b	3.53de
			15	5.37c	5.62c	6.75b	3.63de
9	3.25b	3.35b	5	5.20c	5.03c	6.75b	3.88e
			10	5.14c	5.64c	6.75b	4.19e
			15	5.08c	5.73c	6.75b	3.99e

¹ ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของวัน โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

² ตัวอักษรก่อนตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของเวลาในการแช่โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.6 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 5 นาที

ชนิดอาหาร	วันที่	จุลินทรีย์ที่ลดลง (Log cfu /g) ¹		จุลินทรีย์ที่ลดลงที่เวลาการแช่ 5 นาที (Log cfu /g) ¹			
		ถ่ายเชื้อ	ไม่ถ่ายเชื้อ	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	กรดแมสคอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ผสมกรดแมสคอบิก	น้ำ
TSA	0	0a	0a	1.9a	3.15a	4.51a	0.84a
	1	1.51ab	2.11ab	3.38b	4.24a	5.98ab	1.92ab
	3	1.67ab	1.75ab	4.17bc	4.69a	6.58b	2.57ab
	5	2.8b	2.49ab	4.55bc	4.96a	6.24ab	3.29b
	7	2.55b	2.75b	5.06c	4.92a	6.68b	3.78b
	9	2.99b	3.19b	5.47c	5.14a	6.68b	3.72b
PCA	0	0a	0a	1.94a	2.98a	4.94a	0.73a
	1	1.4ab	2.22ab	3.67b	4.34ab	6.05ab	1.96ab
	3	1.99b	1.43ab	4.36bc	4.65ab	6.49b	2.78bc
	5	2.92b	2.15ab	4.45bc	4.97b	6.54b	3.48bc
	7	2.91b	2.76ab	5.16c	5b	6.64b	3.8c
	9	3.25b	3.35b	5.2c	5.03b	6.75b	3.88c

¹ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของวัน โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.7 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 10 นาที

ชนิด อาหาร	วันที่	จุลินทรีย์ที่ลดลง		จุลินทรีย์ที่ลดลงที่เวลาการแช่ 10 นาที			
		(Log cfu /g) ¹		(Log cfu /g) ¹			
		ถ่าย เชื้อ	ไม่ถ่าย เชื้อ	ไฮโดรเจน เปอร์ ออกไซด์	กรดแอส คอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ผสม กรดแอสคอบิก	น้ำ
TSA	0	0a	0a	2.08a	3.37a	5.03a	0.86a
	1	1.51ab	2.11ab	3.4ab	3.49a	6.08a	2.25b
	3	1.67ab	1.75ab	4.43bc	4.88a	6.16a	3.16bc
	5	2.8b	2.49ab	3.88bc	4.99a	6.52a	3.31c
	7	2.55b	2.75b	5.18c	5.95a	6.48a	3.56c
	9	2.99b	3.19b	5.2c	5.75a	6.68a	4.05c
PCA	0	0a	0a	1.94a	3.25a	4.89a	0.96a
	1	1.4ab	2.22ab	3.77b	3.72ab	6.21a	2.01ab
	3	1.99b	1.43ab	4.16b	4.91ab	6.05a	3.13bc
	5	2.92b	2.15ab	4.18b	4.51ab	6.64a	3.31bc
	7	2.91b	2.76ab	5.23b	5.56ab	6.49a	3.53c
	9	3.25b	3.35b	5.14b	5.64b	6.75a	4.19c

¹ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของวัน โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ๘.8 *E. coli* ที่ลดลงในฝรั่งสดหั่นชิ้น ที่เวลาการแช่ 15 นาที

ชนิด อาหาร	วันที่	จุลินทรีย์ที่ลดลง		จุลินทรีย์ที่ลดลงที่เวลาการแช่ 15 นาที			
		(Log cfu /g) ¹		(Log cfu /g) ¹			
		ถ่าย เชื้อ	ไม่ถ่าย เชื้อ	ไฮโดรเจน เปอร์ ออกไซด์	กรดแอส คอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์ผสม กรดแอสคอบิก	น้ำ
TSA	0	0a	0a	2.18a	4.08a	5.49a	0.18a
	1	1.51ab	2.11ab	3.46ab	4.53a	6.58a	2.13b
	3	1.67ab	1.75ab	3.91bc	5.2a	6.24a	2.53b
	5	2.8b	2.49ab	4.29bc	4.73a	6.38a	2.67b
	7	2.55b	2.75b	5.34c	5.62a	6.48a	3.71c
	9	2.99b	3.19b	5.08bc	5.58a	6.68a	4.08c
PCA	0	0a	0a	2.43a	3.4a	5.56a	0.7a
	1	1.4ab	2.22ab	3.97ab	4.58ab	6.54a	2.01b
	3	1.99b	1.43ab	4.2b	5.34b	6.31a	2.99bcd
	5	2.92b	2.15ab	4.33b	5.06b	6.75a	2.86bc
	7	2.91b	2.76ab	5.37b	5.62b	6.75a	3.63cd
	9	3.25b	3.35b	5.08b	5.73b	6.75a	3.99d

¹ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวดังแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติโดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.9 ค่า L ของฝรั่งที่จัดเก็บที่ 4°C เป็นเวลา 9 วัน

วันที่	เวลาแช่	ค่า L ^{1,2}				
		ไม่แช่	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	กรดแอสคอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ผสมกรดแอสคอบิก	น้ำ
0	5	61.39a	(a)58.89b	(a)57.25c	(a)57.24b	(a)57.31b
	10		(a)58.03	(b)61.1	(c)61.00	(a)58.59
	15		(b)61.74	(a)56.26	(b)58.30	(a)57.31
1	5	60.24a	57.67ab	56.19bc	56.40b	56.90ab
	10		57.27	60.37	61.01	58.07
	15		60.62	56.13	59.14	56.91
3	5	59.64a	56.57a	54.37abc	55.57ab	56.02ab
	10		55.82	59.17	59.42	56.31
	15		59.37	54.6	57.97	55.10
5	5	58.9a	57.05ab	53.6abc	54.45ab	55.50ab
	10		56.06	58.06	58.79	56.60
	15		60.39	54.10	57.00	55.49
7	5	58.06a	56.78a	52.09ab	54.11ab	54.88ab
	10		55.47	56.31	58.10	56.24
	15		59.20	53.74	56.38	55.18
9	5	58.47a	56.5a	52.18a	53.24a	54.95a
	10		55.15	56.05	57.12	55.74
	15		58.35	53.22	55.82	54.46

¹ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีควมแตกต่างกันทางสถิติของวัน โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

²ตัวอักษรก่อนตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของเวลาในการแช่โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.10 การเปลี่ยนแปลงของค่า L ของฝรั่ง (ΔL)

วันที่	เวลาแช่	ค่า ΔL ^{1,2}				
		ไม่แช่	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	กรดแอสคอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ผสมกรดแอสคอบิก	น้ำ
0	5	0.00b	(a)0.00d	(a)0.00d	(a)0.00d	(a)0.00c
	10		(a)0.00	(a)0.00	(a)0.00	(a)0.00
	15		(a)0.00	(a)0.00	(a)0.00	(a)0.00
1	5	-1.14b	-1.23c	-1.05d	-0.83d	-0.26c
	10		-0.76	-0.73	0.01	-0.52
	15		-1.12	-0.13	0.84	-0.40
3	5	-2.75a	-2.32ab	-2.88c	-1.67cd	-1.15b
	10		-2.21	-1.93	-1.58	-2.28
	15		-2.37	-1.66	-0.33	-2.21
5	5	-2.49a	-1.84bc	-3.65bc	-2.78bc	-1.67b
	10		-1.97	-3.04	-2.22	-1.99
	15		-1.35	-2.16	-1.30	-1.82
7	5	-3.32a	-2.11ab	-5.15ab	-3.12ab	-2.29ab
	10		-2.56	-4.79	-2.90	-2.35
	15		-2.54	-2.53	-1.92	-2.13
9	5	-2.92a	-2.39a	-5.07a	-4.00a	-2.21a
	10		-2.88	-5.06	-3.88	-2.85
	15		-4.64	-3.04	-2.48	-2.84

¹ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของวัน โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

²ตัวอักษรก่อนตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของเวลาในการแช่โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.11 ค่า L และ ΔL ของฝรั่งที่เวลาการแช่ 5 นาที

วันที่		ไม่แช่	เวลาแช่ 5 นาที			
			ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	กรดแอสคอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ผสมกรดแอสคอบิก	น้ำ
0	ค่า L'	61.39a	58.89b	57.25a	57.24a	57.31a
1		60.24a	57.67ab	56.19a	56.40a	56.90a
3		59.64a	56.57a	54.37a	55.57a	56.02a
5		58.9a	57.05ab	53.6a	54.45a	55.50a
7		58.06a	56.78ab	52.09a	54.11a	54.88a
9		58.47a	56.5a	52.18a	53.24a	54.95a
0	ค่า $\Delta L'$	0.00b	0.00c	0.00c	0.00e	0.00c
1		-1.14b	-1.23b	-1.05bc	-0.83de	-0.26bc
3		-2.75a	-2.32a	-2.88abc	-1.67cd	-1.15abc
5		-2.49a	-1.84ab	-3.65ab	-2.78bc	-1.67abc
7		-3.32a	-2.11ab	-5.15a	-3.12ab	-2.29a
9		-2.92a	-2.39a	-5.07a	-4.00a	-2.21ab

'ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวดังแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของวัน โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.12 ค่า L และ ΔL ของฝรั่งที่เวลาการแช่ 10 นาที

วันที่		ไม่แช่	เวลาแช่ 10 นาที			
			ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	กรดแอสคอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ผสมกรดแอสคอบิก	น้ำ
0	ค่า L'	61.39a	58.03a	61.1a	61.00b	58.59a
1		60.24a	57.27a	60.37a	61.01b	58.07a
3		59.64a	55.82a	59.17a	59.42ab	56.31a
5		58.9a	56.06a	58.06a	58.79ab	56.60a
7		58.06a	55.47a	56.31a	58.10a	56.24a
9		58.47a	55.15a	56.05a	57.12a	55.74a
0	ค่า $\Delta L''$	0.00b	0.00b	0.00d	0.00c	0.00b
1		-1.14b	-0.76ab	-0.73cd	0.01c	-0.52b
3		-2.75a	-2.21ab	-1.93bc	-1.58b	-2.28a
5		-2.49a	-1.97ab	-3.04b	-2.22b	-1.99a
7		-3.32a	-2.56a	-4.79a	-2.90b	-2.35a
9		-2.92a	-2.88a	-5.06a	-3.88a	-2.85a

'ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของวัน โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ค.13 ค่า L และ ΔL ของฝรั่งที่เวลาการแช่ 15 นาที

วันที่		ไม่แช่	เวลาแช่ 15 นาที			
			ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	กรดแอสคอบิก	ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ผสมกรดแอสคอบิก	น้ำ
0	ค่า L ¹	61.39a	61.74b	56.26a	58.30a	57.31c
1		60.24a	60.62ab	56.13a	59.14a	56.91c
3		59.64a	59.37ab	54.6a	57.97a	55.10ab
5		58.9a	60.39ab	54.10a	57.00a	55.49b
7		58.06a	59.20ab	53.74a	56.38a	55.18ab
9		58.47a	58.35a	53.22a	55.82a	54.46a
0	ค่า ΔL ¹	0.00b	0.00c	0.00b	0.00a	0.00c
1		-1.14b	-1.12bc	-0.13b	0.84a	-0.40c
3		-2.75a	-2.37abc	-1.66a	-0.33a	-2.21b
5		-2.49a	-1.35bc	-2.16a	-1.30a	-1.82b
7		-3.32a	-2.54ab	-2.53a	-1.92a	-2.13b
9		-2.92a	-4.64a	-3.04a	-2.48a	-2.84a

¹ตัวอักษรที่ตามหลังตัวเลขที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติของวัน โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวผาณิต กิตติธีรนันท์ เกิดวันที่ 29 พฤศจิกายน พ.ศ. 2515 ที่จังหวัดร้อยเอ็ด จบการศึกษาวិทยาศาสตร์บัณฑิต คณะเทคโนโลยี สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จากมหาวิทยาลัยขอนแก่นในปีการศึกษา 2537 ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชา สุขาภิบาลอาหารเมื่อปี พ.ศ. 2544 และสำเร็จการศึกษาในปีการศึกษา 2546 ปัจจุบันทำงานบริษัทเอกชนเกี่ยวกับอุตสาหกรรมผลไม้กระป๋องในจังหวัดชุมพร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้