ประสิทธิภาพไอของกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

EFFICIENCY OF VAPOR PHASE-ACETIC ACID, LACTIC ACID AND CITRIC ACID ON REDUCTION OF CONTAMINATED *Staphylococcus aureus* ON FRESH-CUT JACKFRUIT

อุไรวรรณ พจนี

URAIWAN PODJANEE

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-FI-M-054-369

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFICIENCY OF VAPOR PHASE-ACETIC ACID, LACTIC ACID AND CITRIC ACID ON REDUCTION OF CONTAMINATED *Staphylococcus aureus* ON FRESH-CUT JACKFRUIT

URAIWAN PODJANEE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SAFETY MANAGEMENT

FACULTY OF FOOD INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2020

KMITL-2020-FI-M-054-369

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2020

FACULTY OF FOOD INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ประสิทธิภาพไอของกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

EFFICIENCY OF VAPOR PHASE-ACETIC ACID, LACTIC ACID AND CITRIC ACID ON REDUCTION OF CONTAMINATED *Staphylococcus aureus* ON FRESH-CUT JACKFRUIT

ชื่อนักศึกษา นางสาวอุไรวรรณ พจนี

รหัสนักศึกษา 58608022

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา การจัดการความปลอดภัยอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง	
ผศ.ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ	
ผศ.ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ	
ผศ.ดร.ภาวินี ดีแท้	
รศ.ดร.สุเมธ ตันตระเธียร	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 24 กันยายน 2563 เวลา 09.00-12.00 น.

ณ ห้องวิเคราะห์ 2 อาคารเรียนและปฏิบัติการแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมอาหาร

คณะอุตสาหกรรมอาหารรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมอาหาร

วันที่ 8 เดือน ต.ค. พ.ศ. 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพไอของกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค
นักศึกษา	นางสาวอุไรวรรณ พจนี
รหัสประจำตัว	58608022
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
พ.ศ.	2563
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของไอกรดอะซิติก กรดแลกติก และไอกรดซิตริก ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค จากการแยกเชื้อจากจำนวน 30 ตัวอย่างในเขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร พบว่า 40% ของตัวอย่างมีการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในระดับ $10^2 - 10^3$ cfu/g ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของกรดทั้งสามชนิดในรูปของสารละลายที่ความเข้มข้น 10% (v/v) ด้วยวิธี Disc Diffusion Method พบว่ากรดอะซิติกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด โดยเกิดโซนยับยั้ง 2.09 $\pm$ 0.05 cm รองลงมาคือกรดแลกติก 1.46 $\pm$ 0.04 cm และกรดซิตริก 1.24 $\pm$ 0.06 cm จากนั้นได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของกรดทั้งสามชนิดในรูปของไอกรดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยทำการ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Ager (TSA) ในระดับการปนเปื้อนสูง (10^6 cfu/mL) และระดับการปนเปื้อนต่ำ (10^3 cfu/mL) นำไปรมไอที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที พบว่าการรมไอกรดอะซิติกเป็นเวลา 30 นาที (0.99 $\pm$ 0.02 mM acetic acid content) และ 20 นาที (0.65 $\pm$ 0.05 mM acetic acid content) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้น 10^6 และ 10^3 cfu/mL ตามลำดับ ในขณะที่ไอกรดแลกติกและไอกรดซิตริกไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ แม้ทำการรมไอเป็นเวลานานถึง 120 นาที ดังนั้นจึงเลือกไอกรดอะซิติกในการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในปริมาณ 10^6 และ 10^3 cfu/mL ที่ถ่ายลงในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค ขนาด 25 กรัม รมไอเป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง พบว่า ไอกรดอะซิติกความเข้มข้น 8.30 $\pm$ 0.11 mM สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับ 3.47 $\pm$ 0.01 log CFU/g ได้อย่างสมบูรณ์ (100 %) ในขณะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับ 5.03 $\pm$ 0.01 log

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CFU/g ได้เพียง 20.6 % เท่านั้น เมื่อพิจารณาจากระดับการปนเปื้อนของ *S. aureus* ที่ได้จากการสำรวจและความสามารถของไอกรดอะซิติกในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จึงได้ทำการศึกษาอายุการเก็บรักษาของขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ยืดอายุการเก็บรักษาโดยการรมไอกรดอะซิติก ทั้งในด้านจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะด้านกายภาพและประสาทสัมผัส พบว่าด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และเนื้อสัมผัสของขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ผ่านการรมไอเก็บรักษาที่ระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากกว่าขนุนที่ไม่ได้ผ่านการรมไอ แต่ผู้บริโภคยอมรับในรสชาติของขนุนที่ไม่ผ่านการรมไอมากกว่า ทั้งนี้เนื่องจากขนุนเป็นผลไม้ที่มีความหวานเป็นลักษณะเฉพาะ การรมไอกรดทำให้เกิดรสที่เปรี้ยวขึ้น จึงต้องมีการปรับปรุงปริมาณของกรดในการรมไอที่เหมาะสมต่อไปเพื่อให้ได้รสชาติที่ได้รับการยอมรับมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Efficiency of vapor phase - acetic acid, lactic acid and citric acid on reduction of contaminated *Staphylococcus aureus* on fresh-cut jackfruit.
Student	Miss Uraiwan Podjanee
Student ID	58608022
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2020
Thesis Advisor	Professor Dr. Warawut Krusong

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the inhibitory impact of vapor phase- acetic acid (AA), lactic acid (LA) and citric acid (CA) on *Staphylococcus aureus* contaminated on fresh-cut jackfruit. The contamination survey of *S. aureus* was conducted by 30 samples fresh-cut jackfruit in the local market, Ladkrabang district, Bangkok. *S. aureus* was found in 40% of samples (12/30) 10^2-10^3 cfu/g. Then, two inhibitory treatments *in vitro* on isolated *S. aureus* were carried out including agar disc diffusion and vapor exposure. Results of agar diffusion on Tryptone Soya Agar (TSA) found that inhibition zone of 10% of AA, LA, and CA on growth of *S. aureus* was 2.09 ± 0.05 cm, 1.46± 0.04 cm and 1.24± 0.06 cm, respectively. AA caused the strongest effect than LA and CA. For vapor exposure treatment, the suspension of *S. aureus* at low (10^3 CFU/mL) and high (10^6 CFU/ mL) were spread on TSA plate and placed in vapor exposure box (0.25x0.30x0.25 m) at 30°C. To generate the evaporated vapor of each acid solution, the ambient cleaned air was pumped to 500 mL liquid solution at 10% v/v concentration in a 1,000 mL closed bottle. Then, the delivery of vapor phase of each acid from the headspace of the bottle was pumped into the box. Results revealed that AA vapor provided the strongest inhibitory effect on *S. aureus* when compared with LA and CA vapors at 120 min exposure period. Complete inhibition after treatment with AA vapor at 20 min exposure period (0.65 ± 0.05 mM AA content) for low inoculation and at 30 min (0.99 ± 0.02 mM AA content) for high

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

inoculation were observed. The effectiveness of inhibitory impact on *S. aureus* showed that AA is suitable to apply as a bio-control agent for reducing the potential pathogen contamination of fresh-cut jackfruit product. Then, AA vapor exposure was applied on fresh-cut jackfruit with low and high inoculation. Results showed the complete inhibition of 3.47 ± 0.01 log CFU/g and 20.6% inhibition for 5.03 ± 0.01 log CFU/g after treatment AA vapor at 4 hr exposure period (8.30 ± 0.11 mM AA content). Shelf life study was conducted after applied low inoculation of *S. aureus* of fresh-cut jackfruit and exposed by AA vapor at 4 hr, then, stored at 4 °C for 7 days. The complete inhibition was observed after storage at 4°C for 3 days. However, *S. aureus* slightly grew to 1.36 + 0.01 log CFU/g at 7 days storage. Study the change in physical appearance and sensation of fresh-cut jackfruit with AA vapor. Fresh-cut jackfruit with AA vapor, which was kept in 4 °C for 7 days, was accepted in physical appearance, color, odor and texture by consumer more than fresh-cut jackfruit without AA vapor (control). However, consumer accepted taste of control more than that in fresh-cut jackfruit with AA vapor. This is because jackfruit has sweet-taste characteristic as consumer perception. When it was vapor exposed with AA, jackfruit tended to a little bit sour taste. For a further study, an appropriate quantity of AA using in vapor exposure should be optimized to improve taste.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้แต่โดยดี โดยความอนุเคราะห์ของอาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ครูส่ง และคณาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาวินี ดีแท้, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ ที่ได้ให้เกียรติในการให้ความรู้และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ในการแก้ไขปัญหาอุปสรรคต่างๆ ที่เกิดขึ้นในการทดลอง จนกระทั่งการศึกษาหัวข้อวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีและได้ผลที่เป็นแนวทางในการศึกษาเพื่อขยายผลต่อไป

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ภาวินี ดีแท้, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ และ รองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร ที่ได้ให้เกียรติมาเป็นกรรมการในการสอบปกป้องวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ของข้าพเจ้า ซึ่งได้ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัยนี้ ตลอดจนตรวจสอบความถูกต้องให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณรัตติพร โพธิมล นักศึกษาระดับปริญญาเอกที่แนะนำแนวทางในการทดลอง แนวทางในการแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในการทดลอง ตลอดจนช่วยประสานงานในการส่งตรวจวิเคราะห์กับห้องปฏิบัติการภายนอก และประสานงานกับคณะในการขอใช้ห้องปฏิบัติการ รวมถึงการขอใช้อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ต่าง ๆ ให้สามารถดำเนินการทดลองได้อย่างราบรื่นและต่อเนื่อง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ทุกท่าน เพื่อนๆ ร่วมชั้นเรียนที่ให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือซึ่งกันและกันมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัว และกัลยาณมิตรทั้งหมดในชีวิตของข้าพเจ้า ที่เป็นกำลังใจและคอยสนับสนุนการศึกษาของข้าพเจ้าในครั้งนี้ด้วยดีเสมอมา

อุไรวรรณ พจนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... III

กิตติกรรมประกาศ..... V

สารบัญ..... VI

สารบัญตาราง..... VIII

สารบัญภาพ..... IX

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย..... 1

1.2 ขอบเขตของงานวิจัย..... 2

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

2.1 ขนุน..... 3

2.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*..... 8

2.3 กรดอะซิติก..... 9

2.4 กรดแลกติก..... 11

2.5 กรดซิตริก..... 13

2.6 กลไกการทำงานของกรดอ่อน..... 15

2.7 การรมไอ..... 16

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการทดลอง..... 18

3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย..... 18

3.2 อุปกรณ์การทดลอง..... 18

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารทดสอบ..... 19

3.4 สารเคมี..... 19

3.5 จุลินทรีย์..... 20

3.6 วิธีการทดลอง..... 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์..... 26

4.1 คัดแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค..... 26

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของกรดอะซิติก กรดแลกติกและกรดซิตริกในรูปของสารละลาย ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี disc agar diffusion..... 26

4.3 การศึกษาประสิทธิภาพไอของกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริกในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (*In vitro*)..... 28

4.4 การศึกษาประสิทธิภาพไอกรดอะซิติก ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ถ่ายเชื้อลงบนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค..... 32

4.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษาขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค 35

4.6 ศึกษาลักษณะโครงสร้างของขนุนต่อการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus*..... 41

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 45

บรรณานุกรม..... 47

ภาคผนวก..... 54

ภาคผนวก ก..... 54

ภาคผนวก ข..... 58

ภาคผนวก ค..... 59

ประวัติผู้เขียน..... 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ผลการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคในเขตพื้นที่ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 26

4.2 โซนการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ด้วยวิธี disc agar diffusion โดยการใช้สารละลายกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ความเข้มข้น 10% ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน..... 28

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอกรดอะซิติก กรดแลคติก และ กรดซิตริก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนสูง บนอาหาร TSA..... 30

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนสูง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA..... 31

4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนต่ำ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA..... 32

4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนต่ำ บนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค.. 34

4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนสูง บนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค. 35

4.8 การเหลือรอดของเชื้อ *S. aureus* ที่ทำการถ่ายเชื้อในระดับ 10^3 cfu/mL ในขนุนตัดแต่งที่ไม่ผ่านการรมไอ เปรียบเทียบกับขนุนตัดแต่งที่ผ่านการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศา-เซลเซียส..... 36

4.9 การทดสอบด้านประสาทสัมผัสของขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ผ่านและไม่ผ่านการรมไอกรดอะซิติกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน..... 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
4.1	โซนการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ด้วยวิธี disc agar diffusion โดยใช้สารละลายกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ความเข้มข้น 10% ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน.....	28
4.2	ภาพ Box Model ที่ใช้ในการรมไอขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค	33
4.3	ลักษณะทางกายภาพของขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ไม่ได้ถ่ายเชื้อและไม่ผ่านการรมไอ (JF-N), ขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL ไม่ผ่านการรมไอ (JF-S) และ ขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (JF-SV) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	39
4.4	ภาพแสดงลักษณะของพื้นพิวขนุนภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า (ก) พื้นผิวขนุนที่ไม่มีการถ่ายเชื้อ *S. aureus* (JF-N) (ข) พื้นผิวขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL (JF-S) ที่ไม่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% (ค) พื้นผิวขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL (JF-SV) ที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง	42
4.5	ภาพแสดงลักษณะการเกาะติดของเชื้อ *S. aureus* บนพื้นพิวขนุนภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 10000 เท่า (ก) พื้นผิวขนุนที่ไม่มีการถ่ายเชื้อ *S. aureus* (JF-N) (ข) พื้นผิวขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL (JF-S) ที่ไม่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% (ค) พื้นผิวขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL (JF-SV) ที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหางานวิจัย

ในสังคมที่ผู้คนต้องการความสะดวกสบายในการดำรงชีวิต ทำให้อาหารสำเร็จรูปพร้อมบริโภคได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น แม้กระทั่งการบริโภคผลไม้ มีกระบวนการล้าง ปอกเปลือก หั่น และบรรจุถุงขายแบบพร้อมรับประทาน การปนเปื้อนเชื้อก่อโรคในผลไม้สำเร็จรูปพร้อมบริโภคที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อใดๆ เป็นปัญหาที่มักพบบ่อย ซึ่งแหล่งที่มาของการปนเปื้อนในผลไม้พร้อมบริโภคก็มีความหลากหลาย (Laanen and Scott, 2001) โดยเชื้อที่เป็นปัญหาได้แก่ *Staphylococcus aureus* ที่อาจปนเปื้อนจากสุขลักษณะของผู้สัมผัสอาหารในขั้นตอนการเตรียม หรือปนเปื้อนจากอุปกรณ์และภาชนะ จากสภาวะแวดล้อม คุณภาพน้ำ จากการปนเปื้อนของเชื้อในระหว่างการวางจำหน่าย และปัจจัยอื่นๆ ที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน (Patil and Joshi, 2008) ทั้งนี้จากรายงานผลการดำเนินงานโครงการกรุงเทพเมืองอาหารปลอดภัยปี พ.ศ.2557 พบว่าในอาหารดิบที่เตรียมหรือปรุงในสภาพบริโภคได้ทันทีในกลุ่มผักและผลไม้มีการปนเปื้อนไม่ผ่านเกณฑ์ทางด้านจุลินทรีย์ถึง 9.1% โดยขนุนเป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีการตรวจสอบจำนวน 11 ตัวอย่าง และมีการพบ *S. aureus* 1 ตัวอย่าง ในขณะที่ผลไม้อื่นๆ ได้แก่ มะละกอ แตงโม แคนตาลูปและมะม่วง ก็มีการปนเปื้อน *S. aureus* เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการสำรวจเชิงคุณภาพทางจุลชีววิทยาของผลไม้สดหั่นชิ้นจากร้านหาบเร่แผงลอยที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ถึง 7% เมื่อพิจารณาในแง่ของความปลอดภัย พบว่า ขนุนเป็นผลไม้ที่มีความเสี่ยงสูงที่สุดต่อการได้รับเชื้อโรค เนื่องจากพบเชื้อ *S. aureus* 2 ตัวอย่างจาก 3 ตัวอย่าง (Sapoo *et al.*, 2013) ขนุนเป็นผลไม้ประเภทหนึ่งที่จำเป็นต้องใช้กระบวนการในการปอกเปลือก แกะเนื้อ มีการใช้มือสัมผัสอาหาร ผู้บริโภคมีความเสี่ยงต่อการได้รับเชื้อและสารพิษจากการบริโภคผลไม้ชนิดนี้ เชื้อ *S. aureus* สามารถสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) ที่ก่อโรคอย่างเฉียบพลัน ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน ในรายที่รุนแรงอาจช็อคได้ ความรุนแรงของอาการขึ้นกับปริมาณที่ได้รับ (Fetsch *et al.*, 2014)

จากพฤติกรรมของผู้บริโภคที่ต้องการอาหารที่ปลอดภัยจากเชื้อก่อโรคและสารเคมี อีกทั้งผู้ผลิตในระดับอุตสาหกรรมต้องการยืดอายุในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้สามารถเก็บได้นานขึ้น จึงมีการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้กรดอินทรีย์ทั้งในรูปของสารละลายและไอ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารอย่างกว้างขวาง กรดอินทรีย์จากธรรมชาติที่มีรายงานถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ กรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ตัวอย่างเช่น การใช้ไอของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมักความเข้มกรด 8% รมไอเป็นเวลา 50 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ปนเปื้อนในผักชีที่ปนเปื้อน 4 log CFU/mL ได้อย่างสมบูรณ์ (Krusong *et al.*, 2015) เป็นต้น

อย่างไรก็ตามยังไม่พบว่ามีการประยุกต์ใช้ไอของกรดอินทรีย์ได้แก่ กรดอะซิติก กรดแลกติก และ กรดซิตริก ในการลดการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ในผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ไอกรดอินทรีย์ ซึ่งสามารถหาซื้อได้ทั่วไป ราคาไม่แพง เพื่อให้ผู้ค้าสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการลดการปนเปื้อนโดยวิธีการที่เลือกใช้นั้นไม่กระทบต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสของขนุนและสามารถยืดอายุการเก็บรักษาให้ผลไม้เก็บรักษาได้นานขึ้น

1.2 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการแยกเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคโดยใช้ตัวอย่างขนุนจำนวน 30 ตัวอย่าง จากเขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร จากนั้นจะทำการศึกษาประสิทธิภาพของไอกรดอินทรีย์ 3 ชนิด ซึ่งประกอบด้วยกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ในการลดปริมาณของเชื้อ *S. aureus* ในระดับห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) และในสภาพที่ทำการถ่ายเชื้อบนขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค จากนั้นศึกษาผลของการยืดอายุการเก็บรักษาขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคด้วยไอของกรดที่เหมาะสมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.3.1 เพื่อแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

1.3.2 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยไอกรดอะซิติก ไอกรดแลกติก และไอกรดซิตริก

1.3.3 เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* และยืดอายุการเก็บรักษาขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* และการสร้างสารพิษในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค ด้วยสารจากธรรมชาติ เป็นทางเลือกเพื่อความปลอดภัยจากสารเคมีที่ตกค้าง และช่วยให้เก็บรักษาสินค้าได้นานขึ้น เหมาะสำหรับพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการส่งออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ขนุน

ขนุน (Jackfruit) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Artocarpus heterophyllus* Lamk. อยู่ในวงศ์ Moraceae เป็นไม้ผลยืนต้นขนาดใหญ่ มีถิ่นกำเนิดในเอเชียใต้แถบตะวันตกของประเทศอินเดีย (Baliga *et al.*, 2011) และแพร่หลายมายังเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และสามารถเจริญเติบโตได้ทุกพื้นที่ในประเทศไทย ทำให้มีการเรียกต่างกันในแต่ละภูมิภาค เช่น ภาคอีสานเรียก หมากมี่ ภาคเหนือเรียกว่า บ่ะหนุน ภาษาใต้เรียกว่า หนุน เป็นต้น สามารถบริโภคได้ทั้งดิบและสุก โดยผลดิบสามารถทำอาหารคาว ส่วนผลสุกสามารถรับประทานได้ทันทีหรือใช้เป็นส่วนประกอบในขนมหวาน ไอศกรีม และยังสามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ได้อย่างหลากหลาย เช่น ขนุนอบแห้ง ขนุนกระป๋อง ไซรัปขนุนชนิดผง (สมฤดี ไทพาณิชย์, 2555) และยังเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมและมีการส่งออกจำนวนมาก (รายงานของสำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ นครแวนคูเวอร์, 2559)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของขนุน (กลุ่มสารสนเทศการเกษตร, 2562)

ลำต้น ขนุนเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ลำต้นสูงประมาณ 15-30 เมตร มียางขาวทั้งต้น เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลดำถึงสีดำ เมื่อขูดเปลือกจะมีน้ำยางสีขาวไหลออกมา เนื้อแก่นไม้เป็นไม้เนื้ออ่อนมีสีเหลือง

ใบ มีสีเขียวเข้ม มีลักษณะรูปไข่ ใบกว้าง 5 - 8 เซนติเมตร ยาว 10 - 15 เซนติเมตร ผิวใบหยาบสาก เป็นมัน มองเห็นเส้นกลางใบเด่นชัด เมื่อเด็ดหรือหักใบจะมีน้ำยางสีขาวไหลออกมา

ดอก ขนุนออกดอกเป็นช่อสีเขียว อัดกันแน่น แยกเพศ แต่อยู่บนต้นเดียวกัน แต่ละช่อมีดอกประมาณ 1-5 ช่อ แต่ละช่อประกอบด้วยดอกจำนวนมากที่เจริญเป็นผลเดียว ดอกเพศผู้จะเรียกว่า ส่าขนุน เพราะมีกลิ่นเหมือนส่าเหล้า มีขนาดเล็กกว่าดอกเพศเมียและมีจำนวนดอกมากกว่า ดอกเพศเมียจะออกบริเวณลำต้นและกิ่งแก่ ส่วนดอกเพศผู้จะออกตามปลายกิ่ง ทำให้มักเห็นขนุนติดผลมากตามลำต้นและกิ่งแก่ขนาดใหญ่ ไม่ติดผลตามยอดกิ่ง เพราะเมื่อดอกเพศผู้เลยช่วงปล่อยเกสรแล้วก็จะร่วงไป ส่วนดอกเพศเมียเมื่อผสมแล้วก็จะติดผลเจริญเป็นผลขนุนต่อไป ขนุนสามารถออกดอกได้ตลอดปี แต่จะออกดอกมากในช่วงเดือนธันวาคมถึงมกราคม และอีกช่วงหนึ่งคือช่วงเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผล ดอกทั้งช่อจะเจริญร่วมกันเป็นผลรวม โดย 1 ดอกกลายเป็น 1 ยวง ใน 1 ผลจึงมีหลายเมล็ด ผลมีลักษณะรูปไข่ ยาวรี หรือเป็นผลกลม มีเปลือกเป็นหนามสั้น ๆ และทู่ ผลอ่อนจะมีสีเขียวอ่อน เมื่อผลแก่สีจะเข้มขึ้น และหนามจะห่างกันมากขึ้น เปลือกมีสีเหลืองเมื่อสุก และมีสีน้ำตาลเมื่อสุกเต็มที่ หากตัดบริเวณขั้วผลจะมีน้ำยางไหลออกมาจำนวนมากกว่าบริเวณอื่น ๆ ผลขนุนจะมีน้ำหนักประมาณ 15 - 50 กิโลกรัม ขึ้นกับสายพันธุ์ ขนุนในประเทศไทยมีหลายสายพันธุ์ สีของเนื้อจะต่างไปตามพันธุ์ เช่น พันธุ์ฟ้าถล่ม ผลขนาดใหญ่มาก ค่อนข้างกลม เนื้อสีเหลืองทอง พันธุ์ทองสุดใจ ผลใหญ่ ยาว เนื้อสีเหลือง ภายในของผลขนุน ประกอบไปด้วย เนื้อขนุน เมล็ดขนุน และซังขนุน เป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัว ยิ่งสุกมากความเปรี้ยวจะลดน้อยลง และยังประกอบไปด้วยสารอาหารมากมาย ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินซี เหล็ก โพแทสเซียม สังกะสี กรดโฟลิก มีไฟเบอร์และโปรตีนสูง ไขมันและคอเลสเตอรอลต่ำ (เนตรา สมบูรณ์แก้ว และ นิรมล สันติภาพวิวัฒนา, 2548)

เมล็ด ใน 1 ผลมีเมล็ดประมาณ 100 – 500 เมล็ด เมล็ดจะมีเปลือกหุ้ม 2 ชั้น ชั้นนอกเป็นเยื่อแข็งบาง ๆ สีครีม ผิวเรียบมัน ชั้นใน เป็นเยื่อบาง ๆ สีน้ำตาล ส่วนเนื้อเมล็ดมีสีขาว มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก สามารถรับประทานได้โดยทำให้สุกด้วยการต้มหรือทอด

ยางขนุน น้ำยางจากต้นขนุนเป็นกลุ่มโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์โปรติเอส (Protease) และตัวยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (Protease inhibitor) ซึ่งเคยมีรายงานว่า hydrolysis enzymes จากน้ำยางของพืช ที่มี protease ช่วยป้องกันพืชจากการติดเชื้อต่าง ๆ ได้ จึงได้มีการทดลองเพื่อแยกโปรตีนที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียจากยางขนุนนำไปทดสอบกับเชื้อ*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 พบว่าสารสกัดโปรตีน AMP48 (Antimicrobial protein 48 kDa) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *P. aeruginosa* ATCC 27853 ได้ ในขณะที่ไม่สามารถทำปฏิกิริยายับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ (จารุวรรณ ศิริเทพทวี, 2554)

2.1.2 สายพันธุ์ขนุน (กลุ่มสารสนเทศการเกษตร, 2562)

ขนุนหนัง เป็นพันธุ์ที่พบมากที่สุด เนื้อมีลักษณะแข็ง กรอบ ไม่เละ แกะเป็นยวงและแกะเมล็ดออกง่าย เนื้อมีสีเหลืองเข้ม หรือสีจำปา นิยมนำมารับประทานสด ขนุนหนังมีหลายพันธุ์ดังนี้

- พันธุ์ตาบ๊วย เป็นพันธุ์ต้นกำเนิดของพันธุ์ฟ้าถล่ม มีเนื้อหนา สีเหลือง รสหวาน ซังมีสีขาว เมล็ดค่อนข้างเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- พันธุ์ฟ้าถล่ม มีรสหวานที่สุดในบรรดาขนุนทั้งหมด ผลมีขนาดใหญ่ กลมยาว ค่อนไปทางทรงกระบอก เปลือกหนาสีน้ำตาลอมแดง ยวงมีสีเหลือง ให้รสหวาน กรอบ ซังมีสีขาว

- พันธุ์ทองสุดใจ ลำต้นไม่สูงมาก โตเร็ว แตกกิ่งก้านมาก ให้ผลดกกว่าพันธุ์ฟ้าถล่ม เนื้อและซังมีสีเหลืองเข้ม มีซังน้อย รสหวาน กรอบ เมล็ดมีขนาดเล็กและเปลือกเมล็ดบาง

- พันธุ์คุณวิชาญ ผลมีลักษณะยาว คล้ายสากหิน เนื้อมีสีเหลืองปานกลางหรือสีส้มเหลือง (สีจำปา) มีรสหวาน เนื้อนิ่มเล็กน้อย

- พันธุ์จำปากรอบ กลายพันธุ์มาจากการปลูกด้วยเมล็ดของพันธุ์ฟ้าถล่ม โดยจากเนื้อสีเหลืองกลายเป็นเนื้อสีจำปา เนื้อหนา กรอบ แต่ไม่หนาเท่าพันธุ์ฟ้าถล่มและทองสุดใจ นิยมนำมาแกะขายสด แปรรูปทำขนุนอบแห้ง และขนุนกระป๋อง

- พันธุ์สีทอง ผลมีลักษณะใหญ่คล้ายพันธุ์จำปากรอบ เนื้อและซังมีสีเหลือง รสหวานกรอบ เมล็ดมีขนาดเล็ก

- พันธุ์อีถ่อ พัฒนามาจากพันธุ์ตาบ๊วย ให้ผลดก เปลือกบาง ยางน้อย ซังมีสีเหลือง ยวงมีสีเหลืองเข้ม นิยมนำมาขายสด ทำขนุนตากแห้ง และทำขนมหวาน

- พันธุ์ละแม หรือพันธุ์เบาเปลือกหวาน เป็นพันธุ์จากภาคใต้ ยวงและซังหนา มีสีเหลือง รสหวาน มียางน้อย

- พันธุ์ทองประเสริฐ ผลค่อนข้างกลม ใหญ่ เปลือกสีเขียวเข้ม ไม่หนามาก เนื้อสีเหลืองทอง ยวงหนา รสชาติหวานกลมกล่อม ตัดจากต้นแล้วสามารถเก็บไว้ได้นานหลายสัปดาห์

ขนุนจำปาดะ เป็นพันธุ์จากภาคใต้ ให้ผลดกมาก ลักษณะลำต้น ใบและผล คล้ายกับขนุนหนังมาก แต่ผลมีขนาดเล็กกว่า มีรูปทรงยาว มีหนามแหลม เปลือกบาง ยางน้อย เปลือกฉีกออกง่าย เนื้อยวงค่อนข้างเละและรสหวานจัดมีกลิ่นหอมแรง

2.1.3 ประโยชน์และสรรพคุณของขนุน (จารุวรรณ ศิริเทพทวี, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบขนุน ใบสดนำมาตำให้ละเอียด อุ่นแล้วพอกแผล ใบแห้งให้บดเป็นผงโรย หรือใช้ผสมทาตรงที่เป็นแผล ใช้สำหรับภายนอก รักษาแผลมีหนองเรื้อรัง

ยาง มีรสจืด ฝาดเล็กน้อย ให้ใช้ยางสดทาบริเวณที่บวมอักเสบแก้อาการบวมอักเสบ ช่วยแก้อาการต่อมน้ำเหลืองอักเสบ หรือแผลมีหนองอักเสบเรื้อรัง

เยื่อหุ้มเมล็ดสุก ช่วยบำรุงกำลัง เป็นยาระบายอ่อน ๆ

เนื้อในเมล็ด ช่วยบำรุงกำลัง บำรุงน้ำนม ขับน้ำนมในสตรีหลังคลอดที่มีน้ำนมน้อยหรือไม่มีน้ำนม ควรนำไปต้มหรือเผาสุกก่อนรับประทาน

ผลสุก ช่วยแก้อาการกระหายน้ำ แก้อาการเมาสุรา

ลำต้น สามารถนำไปทำเฟอร์นิเจอร์ ส่วนแก่นสามารถทำสีย้อมผ้า โดยจะให้สีน้ำตาลแก่

นอกจากนี้ขนุนยังเป็นแหล่งของสารอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามินและแร่ธาตุยังมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านเชื้อรา ต้านสารก่อมะเร็งอีกด้วย (Baliga *et al.*, 2011)

2.1.4 การเก็บเกี่ยว

ขนุนเป็นพืชโตเร็ว หากปลูกด้วยวิธีการทาบกิ่งจะให้ผลผลิตเร็วกว่าการปลูกด้วยเมล็ด สามารถเก็บผลผลิตได้เมื่อมีอายุประมาณ 3 – 5 ปี ขนุนมีดัชนีการเก็บเกี่ยว 9 – 10 เดือนหลังจากดอกบาน หรือเมื่อใบสุดท้ายที่ก้านผลมีสีเหลือง หนามบนผลโตเต็มที่และแยกออกจากกัน (หนามห่าง) มีกลิ่นหอม เมื่อเคาะผลจะมีเสียงทึบ หากต้องการเก็บเกี่ยวเพื่อบริโภคทันที ควรเก็บเกี่ยวเมื่อขนุนมีลักษณะดังที่กล่าวมาข้างต้น แต่หากต้องใช้เวลานานในการขนส่ง ควรเก็บเกี่ยวขณะที่ผลยังแข็ง ไม่มีกลิ่น ใบใกล้ผลเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง หนามโตเต็มที่และเริ่มแยก เนื้อขนุนในระยะนี้จะกรอบแข็ง มีสีเหลืองอ่อน (สุรพล มนัสเสรี, 2541)

2.1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในขนุนนั้นสามารถเกิดได้ในกระบวนการตัดแต่งที่ทำให้เชื้อ จุลินทรีย์ที่ติดบนผิวเปลือกขนุนปนเปื้อนไปยังเนื้อขนุน (Barth *et al.*, 2009) อีกทั้งขนุนยังอุดมไปด้วยสารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้และก่อให้เกิดปัญหา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเน่าเสีย รวมถึงจุลินทรีย์ก่อโรคที่ส่งผลกระทบกับผู้บริโภคด้วย (Selvaratnam, 2014) และปัญหาการปนเปื้อนในขนุนที่ส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาในระดับอุตสาหกรรมจึงมีงานวิจัยที่ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์ในการล้างขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค พบว่า สามารถช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ได้แก่ Total plate count , Total coliform bacteria , yeast และ mold อีกทั้งยังสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อขนุนได้นาน 12 วัน (Bunsiri *et al.*, 2012)

นอกจากนี้การดัดแปลงสภาวะการจัดเก็บสามารถยืดอายุการเก็บรักษาขนุน โดยทดสอบขนุนที่นำมาจุ่มสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ กรดแอสคอบิก และโซเดียมเบนโซเอท อัดแก๊สผสม O_2 (3kPa) และ CO_2 (5kPa) ซึ่งเป็นอัตราส่วนความเข้มข้นของออกซิเจน (O_2) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ที่เหมาะสมที่สุดในการลดอัตราการหายใจและการสร้างเอธิลีนเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่ทำจากพอลิเอทิลีน (Polyethylene: PE) และพอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (Polyethylene terephthalate: PET) ปิดฝาด้วยซิลิโคน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอย่างที่มีการจุ่มสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ กรดแอสคอบิก และโซเดียมเบนโซเอท มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาขนุนได้ถึง 35 และ 31 วัน ตามลำดับ ตัวอย่างที่มีการจุ่มสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ กรดแอสคอบิก และโซเดียมเบนโซเอท จะมีสีของขนุนเข้มกว่า และมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพและคุณภาพเพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้ทำการจุ่มสารละลายดังกล่าว การเก็บรักษาสภาวะของแก๊สในบรรจุภัณฑ์ พอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (Polyethylene terephthalate: PET) ปิดฝาด้วยซิลิโคน มีประสิทธิภาพดีกว่าการเก็บในถุงพอลิเอทิลีน (Polyethylene: PE) ที่สภาวะเดียวกัน (Saxena *et al.*, 2008; 2009a)

การเก็บรักษาขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคสามารถใช้วิธีการควบคุมปัจจัยร่วม (Hurdle Technology) โดยควบคุมค่าวอเตอร์แอคทีวิตี้ (Water Activity : a_w) ทำให้เป็นกรด (acidification) และพาสเจอร์ไรส์ในหีบห่อ (in-pack pasteurization) โดยสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการดึงน้ำออกที่อุณหภูมิ 68.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 180.6 นาที จนกระทั่งขนุนมีค่าของแข็งที่ละลายในสารละลาย 65.9 องศาบริกซ์ เป็นระดับที่มีการสูญเสียน้ำมากที่สุดที่ยังสามารถรักษาคุณสมบัติทางกายภาพให้คงเป็นที่ยอมรับได้ และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 6 องศาเซลเซียส สามารถทำให้เกิดการสูญเสียสารแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด และเก็บรักษาได้นานที่สุดถึง 8 เดือน เมื่อเทียบกับการจัดเก็บที่อุณหภูมิห้อง (22-32 องศาเซลเซียส) และ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเก็บรักษาขนุนได้ 6 เดือน และ 4 เดือน ตามลำดับ (Saxena *et al.*, 2009b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

เชื้อ Staphylococcus จะแบ่งกลุ่มเป็น *Staphylococcus aureus* ซึ่งมีเอนไซม์ Coagulase กระตุ้น Coagulation cascade ในพลาสมาทำให้จับตัวเป็นก้อน fibrin clot และกลุ่ม coagulase-negative staphylococci (http://www.med.nu.ac.th/) เชื้อ *S. aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ สร้างสารพิษในช่วงอุณหภูมิ 10-46 องศาเซลเซียส (Kroning *et al.*, 2016) มีช่วงอุณหภูมิและ pH ในการเจริญที่กว้าง ทนเกลือและทนสภาวะแห้งได้ เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) พบตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายมนุษย์ได้แก่ ในเส้นผม ผิวหนัง สิว บาดแผล การก่อโรคของ *S. aureus* สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังที่ไม่รุนแรง ไปจนถึงส่งผลกระทบรุนแรงเช่น ทำให้เกิดปอดอักเสบ เยื่อบุหัวใจอักเสบเป็นต้น (Tong *et al.*, 2015) โดยทั่วไปจะส่งผลต่อระบบทางเดินอาหารทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยแสดงอาการหลังจากได้รับเชื้อ 30 นาที ถึง 8 ชั่วโมงหลังจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน (Hennekinne *et al.*, 2012) โดยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ปวดหัว ท้องร่วง ในรายที่รุนแรงอาจช็อคได้ ความรุนแรงของอาการขึ้นกับปริมาณที่ได้รับ ซึ่งไม่ได้มาจากการรับเชื้อ แต่เกิดจากการได้รับสารพิษ enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้น สารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 ต่อกรัมอาหาร ประมาณร้อยละ 30 – 50 ของเชื้อ *S. aureus* สร้างสารพิษชนิดนี้ ซึ่งแบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ ชนิด A, B, C1,C2, C3, D, E และ H สารพิษนี้สามารถทนความร้อนและทนต่อการถูกทำลายด้วยเอนไซม์ต่างๆ สามารถทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้แม้ได้รับในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม (ยิ่งลักษณ์ การะวิโก, 2555) ดังเช่นกรณีการระบาดจากการบริโภคไอศครีมในงานเลี้ยงที่โรงแรมแห่งหนึ่งในประเทศเยอรมันที่มีผู้เข้าร่วมงาน 31 คน มีอาการป่วยจากการได้รับสารพิษ *Staphylococcus* enterotoxins (SEs) ถึง 13 คน โดยมีอาการหลังจากการบริโภคไอศครีม 3-4 ชั่วโมง และมี 7 คนที่ต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล (Fetsch *et al.*, 2014)

เชื้อ *S. aureus* ยังมีความสามารถในการสร้าง Biofilm โดยมีงานวิจัยที่พบการปนเปื้อน *S. aureus* 12% ในตัวอย่าง Sweet homemade จากการใช้อุปกรณ์ที่ผิวหน้ามีการสะสมของ Biofilm ของเชื้อชนิดนี้ (Kroning *et al.*, 2016)

การปนเปื้อนทางด้านจุลินทรีย์ในผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภคพบได้ทั่วไปไม่ว่าจะเป็นผลไม้สดหรือ ผลไม้แปรรูป โดยพบว่า มีการปนเปื้อน *S. aureus* ในตัวอย่าง 0.1 g ในผลไม้เชื่อมผลไม้ดอง และผลไม้แช่อิ่มถึง 62.99% (คู่ทรัพย์ มาตรณาคุณ และดาริวรรณ เศรษฐีธรรม, 2559) และพบ *S. aureus* ในตัวอย่างขนุน 2 ตัวอย่างจากทั้งหมด 3 ตัวอย่าง (Sapoo *et al.*, 2013) ซึ่งเป็นอัตราที่สูงมาก เนื่องจาก *S. aureus* เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร การใช้มือสัมผัสอาหารอาจทำให้เกิดการปนเปื้อน ทำให้ผู้บริโภคเป็นโรคอาหารเป็นพิษได้ การปนเปื้อนอาจมาจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะ มีการสัมผัสอาหารทำให้เกิดการปนเปื้อน และตั้งไว้เป็นเวลานาน ทำให้เชื้อสามารถเจริญและสร้างสารพิษได้ ผู้บริโภคมีความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษ และปัญหาทางการแพทย์ในการรักษา คือ ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งการตรวจสอบเชื้อจากมือผู้ประกอบอาหาร พบว่า มี *S. aureus* ถึง 65.88-74.12% และจากเชื้อที่พบมีความต้านทานต่อ Ampicillin 72.30%, Penicillin 53.38%, Nitrofurantonin 4.73%, Chloramphenical และ Trimethoprin 1.35%, Kanamycin และ Tetracyclin 0.68% อย่างไรก็ตามมีเพียง 5.41% จากจำนวนที่ตรวจพบทั้งหมด มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะหลายชนิดร่วมกัน (multidrug) (Tan *et al.*, 2014)

ด้วยวิทยาการสมัยใหม่ได้มีการนำเทคโนโลยีต่าง ๆ มาใช้ในการลดปัญหาการปนเปื้อนทางด้าน จุลินทรีย์ในผลไม้ ได้แก่ การฉายรังสี UVC ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์และคุณภาพของแก้วมังกรตัดแต่งพร้อมบริโภค (หทัยทิพย์ นิมิตรเกียรติไกล และ สุภัทรชา ไชยชมภู, 2557) การใช้ High Pressure processing ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* (Baptista *et al.*, 2016) ทั้งนี้สารจากธรรมชาติอื่น ๆ ได้แก่ น้ำผึ้ง ก็สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ โดยน้ำผึ้ง Manuka มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น 20% (v/v) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ต้านทาน methicillin ได้ และ ความเข้มข้น 10% (v/v) สามารถยับยั้งการเจริญของ Sensitive *S. aureus* ได้ (Almasaudi *et al.*, 2017)

2.3 กรดอะซิติก (Acetic acid)

กรดอะซิติก หรือ กรดน้ำส้ม เป็นกรดอินทรีย์ ประเภทกรดคาร์บอกซิลิก สูตรโมเลกุล $C_4H_4O_2$ หรือ CH_3COOH มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ละลายในน้ำได้ดี มีรสเปรี้ยวและมีกลิ่นฉุน มีฤทธิ์กัดกร่อนทำให้เกิดอาการระคายเคือง และยังมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนเมื่อละลายน้ำ มีมวลโมเลกุล 60.05 g/mol มีจุดหลอมเหลว 16.5 องศาเซลเซียส จุดเดือดที่ 118.1 องศาเซลเซียส ค่าคงที่การแตกตัว Ka ที่ 25 องศาเซลเซียสเท่ากับ 4.76 กรดชนิดนี้สามารถผลิตได้จากกระบวนการหมักหรือจากการสังเคราะห์ทางเคมี กรดอะซิติกจัดเป็นวัตถุเจือปนอาหาร ที่ใช้ในการปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหาร ใช้ปรับให้อาหารเป็นกรด และใช้เป็นสารกันเสียโดยควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ การเจือจางกรดอะซิติกให้มีความเข้มข้น 4 – 5% จะเรียกสารละลายนั้นว่า น้ำส้มสายชู (Vinegar) (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์)

น้ำส้มสายชูเป็นของเหลวที่ได้จาก alcoholic และ subsequence acetous จากการหมักคาร์โบไฮเดรต มีประโยชน์ต่อสุขภาพหากมีการบริโภคเป็นประจำ เนื่องจากมีสาร polyphenol, micronutrients และ bioactive compound ที่มีผลเป็น antimicrobial, antidiabetic, anti-oxidant และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

antihypertensive ชนิดของน้ำส้มสายชูมีความหลากหลายขึ้นกับวัตถุดิบที่นำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมัก สายพันธ์ของยีสต์ และขั้นตอนการหมัก กรดอะซิติกทำให้น้ำส้มสายชูมีกลิ่นเปรี้ยวแรงมาก ซึ่งกลิ่นนั้นมาจากสารประกอบของ alcohol, acid, ester, aldehyde และ ketones (Ho *et al.*, 2017)

มีงานวิจัยมากมายที่กล่าวถึงการใช้น้ำส้มสายชูชนิดต่างๆ ทั้งในรูปของสารละลายและไอของกรดในการประยุกต์ใช้ เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ได้แก่ การใช้น้ำส้มสายชูหมักบาลซามิก (Balsamic vinegar) ที่ผลิตจากองุ่น 50% v/v ล้างเพื่อลดปริมาณของ *Listeria monocytogenes* ในผักกาดหอม ให้ประสิทธิภาพดีกว่าการล้างด้วย white wine vinegar ที่นิยมใช้ครัวเรือนทั่วไป และกรดอะซิติก 50% v/v ส่วนการล้างด้วยน้ำ ก็สามารถลดปริมาณเชื้อได้แต่น้อยมากเมื่อเทียบกับการล้างด้วยสารละลายน้ำส้มสายชู (Ramos *et al.*, 2014) การใช้สารผสมระหว่างน้ำเลมอนกับน้ำส้มสายชูในอัตราส่วน 1 : 1 สามารถลดปริมาณ *Salmonella* Typhimurium ที่ปนเปื้อน 10^6 และ 10^3 ในแครอทให้ลดลงจนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจพบได้ ภายใน 30 นาที (Sengun and Karapinar, 2004) ข้อมูลสนับสนุนในเรื่องของความเข้มข้นของกรดต่อประสิทธิภาพ คือ ผลจากการใช้ Rice vinegar ลดปริมาณของ *E. coli* O157:H7 ในผักกาดแก้ว โดยแช่ผักกาดแก้วในน้ำส้มสายชูที่มีกรดอะซิติก 5% pH 3 ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดเชื้อได้ถึง 3 log ขณะที่น้ำส้มสายชู 0.5 และ 0.05% ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย (Chang and Fang, 2007) การใช้กรดอะซิติก 4% โดยไม่มีการเจือจางที่ 21 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที มีประสิทธิภาพในการกำจัดไข่พยาธิ (Costa *et al.*, 2009) ไอของกรดยังสามารถลดการเจริญของเส้นใย *Aspergillus flavus* ที่สร้างสาร Aflatoxin ได้ภายใน 5 ชม. โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งจะดียิ่งขึ้นเมื่อความเข้มข้นของกรดเพิ่มขึ้น (Pornpukdeewattana *et al.*, 2017)

สำหรับในกลุ่มอาหารพร้อมบริโภค ได้มีการทดสอบผลของกรดอะซิติกหรือกรด ซิตริก 0.1 0.3 และ 0.5% ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในเนยงา (Sesame paste) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 21 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่า กรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 0.1% ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส เก็บรักษา 14 วัน และที่ 37 องศาเซลเซียส เก็บรักษา 28 วัน ไม่พบเชื้อ *S. aureus* และเมื่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงขึ้น 0.5% สามารถยับยั้งเชื้อจนไม่สามารถตรวจพบได้ตั้งแต่ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 21 และ 37 องศาเซลเซียส และ 14 วันที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกรดอะซิติกและกรดซิตริก สรุปได้ว่ากรดอะซิติกมีความสามารถในการยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีกว่ากรดซิตริก (Olaimat *et al.*, 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 กรดแลกติก (Lactic acid)

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของกรดแลกติก

2.4.2 กรดแลกติก (Lactic acid) หรือกรดน้ำนม (Milk acid) มีชื่อทางเคมีคือ 2-hydroxypropanoic acid สูตรโมเลกุล $C_3H_6O_3$ หรือ $CH_3CH(OH)COOH$ ประกอบด้วยหมู่แอลกอฮอล์ (OH) และหมู่คาร์บอกซิลิก (COOH) มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ละลายในน้ำและตัวทำละลายได้ดี มีการระเหยต่ำ (สมคิด ดีจริง และ อรุณี คงดี, 2556) กรดแลกติกนี้เองที่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในอาหารกลุ่มนม เช่น นมเปรี้ยว ชีส (กนกวรรณ ยอดอินทร์, 2556) มีมวลโมเลกุล 90.08 g/mol จุดหลอมเหลวชนิด D- และ L+ ที่53 องศาเซลเซียส ชนิด DL ที่ 16.8 องศาเซลเซียส จุดเดือดที่ 122 องศาเซลเซียส ค่าคงที่การแตกตัว Ka ที่ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 3.86 (https://en.wikipedia.org/wiki/Lactic_acid)

กรดแลกติกเป็นของเสียที่ได้จากกระบวนการเผาผลาญพลังงานแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic metabolism) กรดแลกติกที่มีความบริสุทธิ์สูงสามารถตกผลึกได้ในแบบ monoclinic มีลักษณะเป็นผลึก ไม่มีสี ละลายน้ำได้ดี แต่ระเหยยาก มีรสเปรี้ยว แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

- ชนิด L+ ผลิตได้จากการสังเคราะห์ จุลินทรีย์และในร่างกายมนุษย์
- ชนิด D- ผลิตได้จากการสังเคราะห์และจุลินทรีย์
- ชนิด DL ผลิตได้จากการสังเคราะห์และจุลินทรีย์

2.4.3 การผลิตกรดแลกติก (กนกวรรณ ยอดอินทร์, 2556)

2.4.2.1 การสังเคราะห์ทางเคมี

เริ่มจากการใช้กรดไฮโดรเจนไซยาไนด์ ทำปฏิกิริยากับแอเซทิลดีไฮด์เป็นแลคโตไนไตรด์ จากนั้นนำแลคโตไนไตรด์ มาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับกรดไฮโดรคลอริก จนได้กรดแลกติก เกลือแอมโมเนียม และสารประกอบอื่น นำกรดแลกติกมาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยการทำให้กลายเป็นอนุพันธ์เอสเทอร์ methyl lactate แล้วกลั่นเอาเอสเทอร์ออก ตามด้วยการทำ hydrolyzed methyl lactate จนกลายเป็นกรดแลกติกบริสุทธิ์ โดยระหว่างกระบวนการจะกำจัดเมธานอล ไฮโดรเจนไซยาไนด์ และสารอื่นออก

2.4.2.2 การใช้จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลกติกได้ จะอยู่ในกลุ่มของแลคโตบาซิลลัส (Lactobacillus) ด้วยกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคสด้วยจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิมากกว่า 40 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส ทำให้ได้ผลผลิตคือ กรดแลกติก เอธานอล กลีเซอรอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปฏิกิริยาการหมักที่ทำให้เกิดกรดแลกติกแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ

1. ปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดแลคเตทเพียงอย่างเดียว เรียกว่า โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (Homofermentative)

2. ปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดแลคเตทร่วมกับสารอื่น เรียกว่า เฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (Heterofermentative)

2.4.2.3 ประโยชน์ของกรดแลกติก

กรดแลกติกถูกนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง และอื่น ๆ โดยถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมากที่สุด ซึ่งสามารถผลิตขึ้นได้เอง หรือการเติมในกระบวนการหมัก เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ขนมปัง เบียร์ เนยเทียม ผักผลไม้ดอง ไส้กรอก และเครื่องดื่มบางชนิด นอกจากนั้นยังใช้เติมในอาหารเพื่อให้มีกลิ่น รสเปรี้ยวที่น่ารับประทาน หรือเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่ทำให้อาหารเน่าบูด สำหรับการถนอมอาหารอาจมีการใช้กรดแลกติกร่วมกับกรดอะซิติกสำหรับป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งจะมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้กรดแลกติกเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังมีการใช้กรดแลกติกในรูปของเกลือสำหรับป้องกันการเน่าบูด เช่น โซเดียมและโพแทสเซียมแลคเตท ทำให้มีรสเค็มเล็กน้อย นิยมใช้ในอาหารประเภทเนื้อต่าง ๆ เช่น เนื้อไก่ เนื้อปลา อาหารทะเล เป็นต้น

2.4.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกรดแลกติก

มีงานวิจัยมากมายที่นำสารอินทรีย์มาประยุกต์ใช้ในการลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ดัง เช่น การจุ่มขนุนตัดแต่ง และ สับปะรดตัดแต่งในกรดแลกติก (LA) 1.5% เป็นเวลา 2 นาที สามารถลดปริมาณ Total aerobic counts ได้ (Acedo *et al.*, 2016) การทดสอบประสิทธิภาพของกรดแลกติก (LA) หรือ acidic electrolyzed water (AEW) ในการลดการปนเปื้อนของ mesophilic bacteria, *E. coli* และ *Sal.* Typhimurium ในใบโหระพา โดยการใช้กรดแลกติก 2% ร่วมกับการให้ความร้อน 50 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณเชื้อ mesophilic bacteria, *E. coli* และ *Sal.* Typhimurium ได้ประมาณ 3 log CFU/g ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ AEW ร่วมกับการให้ความร้อน 50 องศาเซลเซียส (Tirawat *et al.*, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดแลกติกนิยมใช้เป็นสารลดการปนเปื้อนในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ กรดแลกติก 4% สามารถลดปริมาณเชื้อ Aerobic plate count, Psychrotrophs และ Enterobactericeae ที่เก็บรักษาด้วยการแช่เย็นไว้ 120 ชั่วโมง ได้ถึง 2 log นอกจากสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อให้สามารถเก็บได้นานกว่า 120 ชั่วโมงแล้ว ยังช่วยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และช่วยเสริมคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสของเนื้ออีกด้วย (Melcon *et al.*, 2017) สอดคล้องกับรายงานวิจัยทางด้านเนื้อสัตว์ที่ระบุว่า กรดแลกติก 4% หรือ โซเดียมเมทาซิลิเคต 4% เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *E. coli* O157:H7, non-O157 Shiga-toxin producing *E. coli (*STEC*), Salmonella* spp. และ *L. monocytogenes* ในเนื้อวัว เนื้อหมู และในอาหารสำเร็จรูป ซึ่งการแยกใช้กรดแต่ละชนิดเพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อได้ดีกว่าการใช้กรดทั้งสองชนิดร่วมกัน อย่างไรก็ตามการใช้กรดทั้งสองชนิดเพียงอย่างเดียวไม่สามารถลดปริมาณ *L. monocytogenes* ในอาหารสำเร็จรูปได้ (DeGeer *et al.*, 2016)

การใช้กรดซิตริก-กรดแลกติก 1.2% และสารร่วมคลอรีนไดออกไซด์ 10 ppm สามารถลดปริมาณ *Salmonella* spp. บนหนังไก่ได้สูงสุดทั้งในขั้นตอนการล้างไก่ และการแช่ไก่ ได้ถึง 99% (ดวงพร แสงปลั่ง, 2544)

การใช้กรดแลกติกและกรดซิตริกในการลดปริมาณเชื้อ *Campylobacter* ในทวารหนักไก่ได้ 2.0-2.5 log ในเวลา 4 นาที มีเพียงกรดแลกติก 5% v/v เท่านั้นที่สามารถลด *Campylobacter* ในซากไก่ได้ และมีเพียงกรดซิตริก 5% v/v และ 10% v/v ที่สามารถลด Psychrophilic หรือ mesophilic total viable count ได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ยังไม่มีรายงานว่าสารใดสามารถลดปริมาณ Total Enterobacteriaceae count (TEC) ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Meredith *et al.*, 2013)

2.5 กรดซิตริก (Citric acid)

กรดซิตริก หรือกรดมะนาว เป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่ง จัดเป็นกรดอ่อน (Weak acid) พบได้ทั่วไปในผักผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว โดยเฉพาะจำพวกพืชตระกูลส้ม ได้แก่ ส้ม มะนาว มะกรูด เลมอน และในผลไม้ทั่วไป เช่น สับปะรด อะโวกาโด้ มะเฟือง ซึ่งจะมีกรดซิตริกเป็นส่วนประกอบประมาณ 7 – 9% (กรรณิกา ศรีประย่า และ ณฐนนท์ ตราชู, 2551) กรดซิตริกจัดเป็นวัตถุเจือปนอาหารชนิดหนึ่งที่ได้รับการยอมรับให้ใช้ในวงการอาหารและเครื่องดื่มอย่างกว้างขวาง ทำให้อาหารมีรสเปรี้ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 ลักษณะทั่วไปของกรดซิตริก

กรดซิตริกมีชื่อทางเคมีคือ 2-Hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid สูตรโมเลกุล $C_6H_8O_7$ มีน้ำหนักโมเลกุล 192.12 กรัมต่อโมล มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น รสเปรี้ยว มีจุดหลอมเหลวที่ 153 องศาเซลเซียส กรดซิตริกมี 2 ชนิด ได้แก่ (อภิษฐา ช่างสุพรรณ, 2552)

2.5.1.1 Citric acid Monohydrate หมายถึง กรดซิตริกที่มีโมเลกุลของน้ำอยู่ 1 โมเลกุล ($C_6H_8O_7.H_2O$) เป็นองค์ประกอบ มีน้ำหนักโมเลกุล 210.14 กรัมต่อโมล มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น มีรสเปรี้ยว สามารถละลายได้ดีในน้ำและแอลกอฮอล์

2.5.1.2 Citric acid Anhydrous เป็นกรดซิตริกที่ไม่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ มีน้ำหนักโมเลกุล 192.12 กรัมต่อโมล

2.5.2 การผลิตกรดซิตริก (อุษา ภูคัสมาส, 2553)

2.5.2.1 ผลิตจากมะนาวโดยตรง ทำได้โดยการคั้นน้ำมะนาวผสมกับแคลเซียมออกไซด์ จะได้เกลือแคลเซียมซิเตรท จากนั้นเติมกรดซัลฟุริก เพื่อให้กรดซิตริกแยกตัวออก นำกรดซิตริกไปตกผลึก และอบแห้ง

2.5.2.2 ผลิตจากการหมัก เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในระดับอุตสาหกรรม เป็นการสังเคราะห์กรดซิตริกจากน้ำตาลกลูโคส โดยอาศัยวิถีไกลโคไลซิสของจุลินทรีย์ (Glycolysis pathway) วัตถุดิบที่นิยมนำมาหมักได้แก่ กากน้ำตาล หรือ มันสำปะหลัง ส่วนเชื้อที่นิยมนำมาใช้ในการหมักได้แก่เชื้อรา *Aspergillus niger* และ ยีสต์ *Candida lipolytica*

2.5.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกรดซิตริก

กรดซิตริกมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดียิ่งขึ้น เมื่อมีการใช้ร่วมกับสารอื่น เช่น การใช้กรดซิตริก 2.5 mM ร่วมกับกรดคาพรีลิก (Caprylic) 5.0 mM ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา มากกว่า 5 นาที สามารถกำจัดเชื้อ *E. coli* O157:H7 ที่เติมลงไป 3.31 log CFU/mL ในน้ำแครอทคั้น จนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจพบเชื้อได้ ซึ่งนอกจากจะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ ยังสามารถทำให้สีของน้ำแครอทคั้นยังคงเป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภคด้วย ในขณะเดียวกันหากใช้กรดซิตริกหรือกรดคาพรีลิก (Caprylic acid) เพียงชนิดเดียว ผลการทดสอบไม่แสดงให้เห็นถึงการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์อย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับการใช้สารทั้งสองชนิดร่วมกัน (Kim and Rhee , 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกเหนือจากการใช้กรดซิตริกร่วมกับกรดชนิดอื่นแล้วยังสามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับการฉายรังสี UV ได้ด้วย ซึ่งผลการทดสอบการใช้ 0.5% Citric acid (5% CA) , UV และ UV ร่วมกับ CA ในการเก็บรักษาแอปเปิ้ลฟูจิตัดแต่งพร้อมบริโภคพบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ 1.5 , 2.1 และ 2.6 log CFU/g ตามลำดับ กรดซิตริกเพียงอย่างเดียวจะเร่งให้แอปเปิ้ลเกิด Browning และสูญเสียน้ำหนักมากที่สุด การใช้ UV+CA สามารถทำให้การเก็บรักษาของแอปเปิ้ลตัดแต่งพร้อมบริโภคได้นานถึง 15 วัน โดยที่องค์ประกอบต่าง ๆ ของแอปเปิ้ล ได้แก่ Chlorogenic acid, epicatechin, catechin และ caffeic acid สูงกว่าชุดควบคุม และสามารถลดการเกิด Browning ได้ดีกว่าการใช้กรดซิตริกเพียงอย่างเดียว (Chen *et al.*, 2016)

2.6 กลไกการทำงานของกรดอ่อน

กรดอะซิติก กรดแลกติก และ กรดซิตริก จัดเป็นกรดอ่อนที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งในเชิงที่เป็นส่วนประกอบของอาหารหรือกระทั่งใช้ล้างเพื่อลดการปนเปื้อนของอาหาร เนื่องจากกรดอ่อนมีความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยชะลอหรือยับยั้งการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ยับยั้งการสร้างสารพันธุกรรมของจุลินทรีย์ ชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ สามารถใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ในกลุ่มของแบคทีเรียและรา (Higgins and Brinkhaus, 1999 ; Acedo *et al.*, 2016) เนื่องจากกรดอ่อนทำให้โปรตีนและกรดนิวคลีอิกของจุลินทรีย์เสียสภาพโดยการออกซิเดชั่น และทำลายผนังเซลล์ด้วยไฮดรอกซิล เมื่อโปรตีนเสียสภาพจะขัดขวางการขนส่งของผนังเซลล์ และรบกวนการผ่านเข้าออกที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด (Davidson and Harrison, 2002)

2.6.1 ปัจจัยในการทำลายและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยกรดอ่อน

2.6.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เมื่อ pH เข้าใกล้ค่า pH ต่ำสุดที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ จะมีผลทำให้อัตราการเจริญลดลง เพิ่มจำนวนได้ลดลง และยืดระยะ lag phase กระทั่งเพิ่มอัตราการตายของจุลินทรีย์ในที่สุด (Davidson and Harrison, 2002)

2.6.1.2 การแตกตัวของกรด กรดแต่ละชนิดจะมีค่าการแตกตัว (K_a) ที่ใช้เปรียบเทียบความแรงของกรดได้ ถ้าค่า K_a มีค่ามากแสดงว่ากรดมีความแรงมาก แตกตัวได้ดี ถ้าค่า K_a น้อยแสดงว่ากรดแตกตัวได้น้อย มีความแรงน้อย สำหรับกรดที่แตกตัวได้ 100% จะไม่มีค่า K_a ค่า pH มีผลต่อการแตกตัวของกรด กรดในรูปที่ไม่แตกตัวมักพบที่ค่า pH ต่ำ ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลไกการทำลายจุลินทรีย์ของกรดอ่อน กรดที่ไม่แตกตัวจะแพร่เข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์ เนื่องจากสามารถละลายในไขมันและเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ขณะที่อิออนที่แตกตัวไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ขณะที่ภายในเซลล์จุลินทรีย์ กรดที่ไม่แตกตัวจะสามารถแตกตัวภายใต้สภาวะที่เป็นกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อย เซลล์จุลินทร์ย์จึงปั๊ม H+ ที่เกินออกมาภายนอกเซลล์ ทำให้ในเซลล์จุลินทรีย์มีความเป็นกรดสูงขึ้น โดย pH ที่ลดลงมีผลทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ลดลงและตายในที่สุด (Lambert and Stratford, 1999) ความแรงของกรดต่าง ๆ ที่ให้ผลยับยั้งจุลินทรีย์เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) กรดอะซิติก (acetic acid) กรดแลกติก (lactic acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) และกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) เป็นต้น (ธีรพร กงบังเกิด, 2546)

2.7 การรมไอ

การรมไอเป็นการใช้สารในรูปของไอระเหย โดยเปลี่ยนสถานะของสารจากของแข็งหรือของเหลว ไปเป็นสถานะก๊าซซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็ก สามารถแทรกตัวเข้าทำลายจุลินทรีย์เป้าหมายได้ดีกว่า (จริงแท้ ศิริพานิช, 2552) วิธีการเปลี่ยนสถานะกลายเป็นไอมี 3 รูปแบบดังต่อไปนี้

การระเหย (Evaporation) คือ การเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นก๊าซที่บริเวณผิวหน้าของของเหลว การระเหยสามารถเกิดได้แม้ว่าของเหลวนั้นจะไม่ได้มีอุณหภูมิถึงจุดเดือด แต่สามารถระเหยได้เมื่ออุณหภูมิต่ำกว่าจุดเดือด ณ ความดันหนึ่ง

การเดือด คือ การเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นก๊าซอย่างรวดเร็วในสภาวะที่อุณหภูมิของของเหลวเทียบเท่าหรือมากกว่าจุดเดือด การเดือดสามารถเกิดได้ทุกส่วนของของเหลว

การระเหิด คือ การเปลี่ยนสถานะจากของแข็งกลายเป็นก๊าซ ที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดหลอมเหลวโดยไม่ผ่านสถานะของเหลว การระเหิดจะเกิดได้มากหรือน้อยขึ้นกับพื้นที่ผิวของของแข็งนั้น

การรมไอมีการใช้งานอย่างกว้างขวางในวงการเกษตร เพื่อรักษาผลิตผลทางการเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งโดยมากมุ่งเน้นการกำจัดเชื้อราซึ่งเป็นสาเหตุของโรคพืช ได้แก่ การใช้เอทธิลีนกับลำไย ส่วนการใช้ไอของกรดอินทรีย์เป็นอีกแนวทางหนึ่ง ได้แก่ การใช้ไอของกรดอะซิติกเข้มข้น 99.5% ร่วมกับการอบด้วยลมร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที เพื่อยืดอายุการเก็บรักษามะขามหวานพันธ์สีทอง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* spp. อันเป็นสาเหตุของโรคพืชได้ (นฤมล นกพรม และคณะ, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีรายงานการใช้ไอของน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในอาหารได้ ได้แก่ การลดปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนในมะเขือเทศ องุ่น เชอร์รี่ สตรอเบอร์รี่ ผักกาดหอมหลังการเก็บเกี่ยว (Chu *et al.*, 1999; Sholberg *et al.*, 2000; Tzortzakis, 2010; Krusong *et al.*, 2012; Krusong *et al.*, 2015) รวมถึงยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* spp. ที่แยกจากขนมปัง (Pothimon and Krusong, 2016)

ในส่วนของน้ำส้มสายชูหมักในรูปของเหลวและไอสามารถยับยั้ง *Klebsiella pneumoniae* ในผักชีได้เช่นกัน (Krusong *et al.*, 2015) และไอกรดน้ำส้มสายชูหมักยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในเมล็ดข้าวโพดได้ (Krusong *et al.*, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

ขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคจากร้านค้าแผงลอยในเขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง ไม่เกิน 4 ชั่วโมง ก่อนทำการวิเคราะห์ สำหรับในขั้นตอนที่มีการเติมเชื้อลงในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค จะมีขั้นตอนในการล้างทำให้ขนุนปลอดเชื้อจุลินทรีย์ก่อนการเติมเชื้อจุลินทรีย์ในระดับที่ใช้ในการทดลอง

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

3.2.1 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)	Tomy รุ่น ES315	ประเทศญี่ปุ่น
3.2.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก (Weight balance)	Mettler Toledo รุ่น Dragon 3002	ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
3.2.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Heraeus	ประเทศเยอรมนี
3.2.4 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow)	Bosstech	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.5 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)	Memmert	ประเทศเยอรมนี
3.2.6 เครื่องตีปั่นผสมตัวอย่าง (Stomacher)	Seward รุ่น BA 7021	ประเทศอังกฤษ
3.2.7 เครื่องหมุนผสม (Vortex mixer)	Vortex Genie 2	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.8 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	Mettler Toledo	ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
3.2.9 เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (Vernier calipers)	Starnic	ประเทศออสเตรเลีย
3.2.10 McFarland turbidity Standard	Biosan Den-1B	ประเทศลัตเวีย
3.2.11 กล่องพลาสติกรมไอ (0.25 x 0.30 x 0.25 m) และปั๊ม		ประเทศไทย
3.2.12 ไมโครปิเปต (Micro pipette)	Thermo scientific	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.13 จานเพาะเชื้อแก้ว จานเพาะเชื้อพลาสติก		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.14 แท่งแก้วเกลี่ยตัวอย่าง

3.2.15 เครื่องแก้ว (หลอดทดลอง บีกเกอร์ กระบอกตวง)

3.2.16 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.17 ถุงพลาสติกใส

3.2.18 ถาดพลาสติกใสชนิดมีฝาปิด

3.2.19 ที่ใส่หลอดทดลอง (Rack)

3.2.20 กระดาษกรอง disc diffusion

3.2.21 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด Jeol รุ่นJSM-6610LV ประเทศญี่ปุ่น

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารทดสอบ

3.3.1 Baird-Parker medium (BP)	Difco	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.3.2 Trypticase (Tryptic) soy agar (TSA)	Himedia	ประเทศอินเดีย
3.3.3 Brain heart infusion (BHI) broth	Difco	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.3.4 Coagulate plasma (rabbit) with EDTA	Becton Dickinson	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.3.5 Potassium tellurite	Sigma Aldrich	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.3.6 Butterfield's Phosphate-Buffered		
3.3.7 Hydrogen peroxide for Catalase test		
3.3.8 Tryptic soy broth (TSB)	Himedia	ประเทศอินเดีย
3.3.9 Peptone water	Himedia	ประเทศอินเดีย

3.4 สารเคมี

3.4.1 กรดอะซิติก	Merck	ประเทศเยอรมนี
3.4.2 กรดแลกติก	Merck	ประเทศเยอรมนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 กรดซิตริก	Merck	ประเทศเยอรมนี
3.4.4 แอลกอฮอล์ 70 % และ 90 %		
3.4.5 ออกโซเนีย (Oxonia Actice 150)	Ecolab	ประเทศไทย

3.5 จุลินทรีย์

เชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่แยกเชื้อจากโคโลนีที่ขึ้นบนอาหาร Baird-Parker และยืนยันผลทางชีวเคมี จากตัวอย่างขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากร้านค้าแผงลอยในเขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 คัดแยกเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

3.6.1.1 สุ่มเก็บตัวอย่างขนุนพร้อมบริโภค จากร้านค้าแผงลอยในเขตพื้นที่ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยใส่ในบรรจุภัณฑ์ของทางร้านค้าที่มีทั้งใส่ในถุงพลาสติกหรือใส่ในถาดโฟมและมีการห่อด้วยฟิล์มใส นำมายังห้องปฏิบัติการทดลองและทำการวิเคราะห์ตัวอย่างหลังจากเก็บตัวอย่างภายในระยะเวลา 4 ชั่วโมง

3.6.1.2 วิเคราะห์เชื้อ *S. aureus* โดย ชั่งตัวอย่างขนุน 25 กรัม ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่องตีปั่นผสมตัวอย่าง ทำการเจือจางตัวอย่าง 1:10 1:100 และ 1:1000 ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ดูดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงบนอาหาร Baird Parker Agar ที่เตรียมไว้ในจานเพาะเชื้อ 3 จาน โดยใส่ตัวอย่างจานละ 0.3 , 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร จำนวน 2 ซ้ำ ในแต่ละระดับความเจือจาง ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิค Spread plate ให้ทั่ว บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 - 48 ชั่วโมง ตรวจสอบและนับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะจำเพาะ (Typical Colonies) และมีเชื้อเจริญ 20 – 200 โคโลนี โดยนับโคโลนีที่มีรูปร่างกลมนูน สีเทาหรือสีดำ รอบ ๆ โคโลนีขุ่น ทึบแสง (Opaque zone) หรือมีโซนใสรอบโคโลนี (Clear zone) ถ่ายเชื้อลงในอาหาร TSA เก็บไว้ รวมถึงทดสอบ Coagulase test และ Catalase test เพื่อยืนยันคุณสมบัติทางชีวเคมีของ *S. aureus* (BAM, 2002; Bennett *et al.*, 1986)

3.6.1.3 สำหรับตัวอย่างที่ผลทดสอบทางชีวเคมียืนยันว่าเป็น *S. aureus* ที่พบจากตัวอย่างขนุนที่สุ่มตรวจ นำมาถ่ายเชื้อไว้บนอาหาร TSA และส่งตรวจเพื่อยืนยันสายพันธุ์กับสถาบันวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) โดยคัดเลือกตัวอย่างส่งตรวจตามลักษณะทางสันฐานวิทยาที่ปรากฏบนอาหาร Baird-Parker agar

3.6.2 การศึกษาประสิทธิภาพของกรดอะซิติก กรดแลกติกและกรดซิตริกในรูปของสารละลาย ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี disc agar diffusion (Hudzicki, 2009)

3.6.2.1 การเตรียมตัวอย่างเชื้อเริ่มต้น ถ่ายเชื้อ *S. aureus* บริสุทธิ์จากอาหาร TSA ที่บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ลงในอาหาร TSB บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการเตรียมเชื้อเริ่มต้นเทียบความขุ่นกับ Mcfarland Standard ให้ได้ความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้นที่ต้องการที่ 10^6 cfu/mL โดยปิเปตเชื้อเริ่มต้นในอาหาร TSB ลงใน peptone water เขย่าให้เข้ากันและวัดด้วยเครื่อง Mcfarland Standard ให้อ่านได้ค่า 0.5 พร้อมทั้งยืนยันผลปริมาณเชื้อเปรียบเทียบกับความขุ่นที่เลือกใช้ และทำการเจือจางเพื่อให้ได้เชื้อที่ระดับตามต้องการ

3.6.2.2 เตรียมสารละลายกรดอินทรีย์ด้วยการเจือจางกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ให้มีความเข้มข้น 10% เพื่อใช้ในการทดลอง

3.6.2.3 เกลี่ยเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 10^6 cfu/mL ลงบนอาหาร TSA ให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี spread plate ตั้งไว้ 3 – 5 นาที ในตู้เขี่ยเชื้อเพื่อให้ผิวหน้าจานเพาะเชื้อแห้ง จากนั้นนำกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. จุ่มในสารละลายกรดทั้งสามชนิดเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นคีบออกมาให้ทำให้สะเด็ดน้ำก่อนวางลงบนผิวหน้าของจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.6.2.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายกรดที่ความเข้มข้น 10% ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยการใช้เวอร์เนียร์วัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง

3.6.3 การศึกษาประสิทธิภาพไอของกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (*In vitro*)

3.6.3.1 การเตรียมตัวอย่างเชื้อเริ่มต้น ถ่ายเชื้อ *S. aureus* บริสุทธิ์จากอาหาร TSA ที่บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ลงในอาหาร TSB บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ทำการเตรียมเชื้อเริ่มต้นเทียบความขุ่นกับ Mcfarland Standard ให้ได้ความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้นที่ต้องการ 10^3 และ 10^6 cfu/mL พร้อมทั้งยืนยันผลปริมาณเชื้อเปรียบเทียบกับความขุ่นที่เลือกใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3.2 เตรียมสารละลายกรดอินทรีย์ด้วยการเจือจางกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ให้มีความเข้มข้น 10% เพื่อใช้ในการทดลอง

3.6.3.3 ดูดสารละลายเชื้อ *S. aureus* 1 มิลลิลิตร ที่มีความเข้มข้นของเชื้อ 10^3 หรือ 10^6 cfu/mL ลงบนอาหาร TSA โดยใส่ตัวอย่างลงในจานเพาะเชื้อ 0.3, 0.3 และ 0.4 มิลลิลิตร จำนวน 3 ซ้ำ ในแต่ละระดับความเจือจาง ใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อเกลี่ยตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิค Spread plate ให้ทั่ว นำจานเพาะเชื้อทั้ง 3 จานไปทำการทดสอบประสิทธิภาพไอ ของกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ที่ความเข้มข้น 10% ดังนี้

3.6.3.3.1 หาชนิดของไอกรดและระยะเวลาการรมไอที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระดับการปนเปื้อนสูง 10^6 cfu/mL บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ทำการรมไอกรดแต่ละชนิดที่ระยะเวลา 0 (ชุดควบคุม) 30 60 90 และ 120 นาที ตามลำดับ เมื่อครบกำหนดในแต่ละสภาวะนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบอัตราการยับยั้งเชื้อของไอกรดแต่ละชนิด

3.6.3.3.2 นำชนิดของไอกรดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด หาระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระดับการปนเปื้อนสูง 10^6 cfu/mL บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ระยะเวลา 0 (ชุดควบคุม) 5 10 15 20 25 และ 30 นาทีตามลำดับ เมื่อครบกำหนดในแต่ละสภาวะ นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบอัตราการยับยั้งเชื้อในแต่ละระยะเวลาที่ทำการรมไอ

3.6.3.3.3 นำชนิดของไอกรดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด หาระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระดับการปนเปื้อนต่ำ 10^3 cfu/mL บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ระยะเวลา 0 (ชุดควบคุม), 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาทีตามลำดับ เมื่อครบกำหนดในแต่ละสภาวะนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.6.3.4 การอ่านผลการทดลองทำโดยการตรวจนับโคโลนีที่ปรากฏในจานเพาะเชื้อนำไปหาค่าเฉลี่ย เปรียบเทียบปริมาณเชื้อกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการรมไอ (ฐิตินันท์ ชยาวัชรกุล, 2555)

ทั้งนี้เมื่อได้ชนิดของสารเคมีและระยะเวลาที่เหมาะสมในการยับยั้ง *S. aureus* จึงนำไปประยุกต์ใช้กับการรมไอกรดในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

3.6.4 การศึกษาประสิทธิภาพไอกรดอะซิติกในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ถ่ายเชื้อลงบนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

3.6.4.1 เตรียมตัวอย่างขนุนตัวอย่างละ 25 กรัม มาล้างด้วยน้ำสะอาด 1 รอบ แช่ในสารละลายออกโซเนีย 3% (v/v) เป็นเวลา 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และล้างด้วยสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกโซเนีย 3% อีก 1 รอบ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้ออีก 2 รอบ จากนั้นนำขนุนไปทำให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 10 นาที

3.6.4.2 เติมสารละลายเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้สำหรับถ่ายเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 10^3 หรือ 10^6 cfu/mL ลงบนผิวหน้าของขนุน 0.2 มิลลิลิตร ต่อขนุน 25 กรัม ทำการเกลี่ยสารละลายให้ทั่วพื้นผิวขนุน ผึ่งตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ จนกระทั่งพื้นผิวขนุนแห้ง ไม่มีหยดน้ำติดบริเวณพื้นผิว นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อที่ติดบนพื้นผิวขนุนเพื่อยืนยันปริมาณเชื้อเริ่มต้นในการทดลองและใช้วิธีเดียวกันนี้กับตัวอย่างที่ทำการทดลอง

3.6.4.3 เตรียมสารละลายกรดอินทรีย์ด้วยการเจือจางกรดอะซิติก กรดแลกติกและกรดซิตริก ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ให้มีความเข้มข้น 10% เพื่อใช้ในการทดลอง

3.6.4.4 นำตัวอย่างขนุน 25 กรัม ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับ 10^3 หรือ 10^6 cfu/mL ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยไอกรดชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้น 10% ที่ ระยะเวลา 0 (ชุดควบคุม), 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อครบกำหนดในแต่ละสภาวะ นำขนุนแต่ละตัวอย่างไปวิเคราะห์โดยการเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร จนได้ความเจือจางเริ่มต้น 1 : 10 ทำการเจือจางตัวอย่าง 1: 100 และ Pour plate ด้วยอาหาร TSA บ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

3.5.4.5 การอ่านผลการทดลอง ทำโดยการตรวจนับโคโลนีทั้งหมด ที่ปรากฏในจานเพาะเชื้อ เปรียบเทียบปริมาณเชื้อกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการรมไอ

3.6.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษาขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

3.6.5.1 ศึกษาด้านจุลินทรีย์

ศึกษาผลของการยืดอายุการเก็บรักษาขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคด้วยไอของกรดชนิดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระยะเวลาที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ถ่ายเชื้อลงไปในปริมาณ 10^3 cfu/mL บนตัวอย่างขนุน 25 กรัม โดยแบ่งตัวอย่างขนุนออกเป็น 2 ชุด ได้แก่ ชุดควบคุมที่มีการถ่ายเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่ผ่านการรมไอ (Jackfruit with *S. aureus*: JF-S) และชุดทดลองที่มีการถ่ายเชื้อ *S. aureus* และผ่านการรมไอ (Jackfruit with *S. aureus* and Vapor: JF-SV) โดยขนุนทั้งสองชุดจะต้องผ่านการการล้างฆ่าเชื้อด้วยออกโซเนีย 3% และล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อ เพื่อควบคุมปริมาณเชื้อเริ่มต้น จากนั้นนำชุดทดลองไปผ่านการรมไอ จัดเก็บในถาดพลาสติก HDPE ชนิดมีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำตัวอย่างมาทำการทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ 0 1 3 5 และ 7 วัน ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภายของขนุนที่ทำการถ่ายเชื้อ *S. aureus* ในปริมาณ 10^3 cfu/mL บนตัวอย่างขนุน 25 กรัม ที่ผ่าน (JF-SV) และไม่ผ่านการรมไอ (JF-S) ของกรดชนิดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระยะเวลาที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เปรียบเทียบกับขนุนที่ไม่ผ่านกระบวนการล้างและรมไอ (Jackfruit Normal: JF-N) จัดเก็บในถาดพลาสติก HDPE ชนิดมีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตุการเปลี่ยนแปลงที่ 0 1 3 5 และ 7 วัน

3.6.5.3 ศึกษาด้านประสาทสัมผัส

ขนุนสำหรับการทดสอบด้านประสาทสัมผัสจะเป็นขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ไม่ผ่านการล้างฆ่าเชื้อ เพื่อป้องกันไม่ให้ขั้นตอนการล้างมีผลต่อลักษณะทางกายภาพและคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัสของขนุนระหว่างการจัดเก็บ แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด ได้แก่ ชุดควบคุม (C) และชุดทดลอง โดยชุดทดลองจะผ่านการรมไอกรดชนิดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระยะเวลาที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จัดเก็บในถาดพลาสติก HDPE ชนิดมีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการประเมินทางด้าน ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมในรูปของการให้คะแนน เปรียบเทียบกับขนุนชุดควบคุมที่ไม่ผ่านกระบวนการล้างและรมไอ (Jackfruit Normal: JF-N) โดยทำการประเมินด้วยกลุ่มผู้บริโภคจำนวน 15 คน ทุกวัน จนครบ 7 วัน

3.6.6 ศึกษาลักษณะโครงสร้างของขนุนต่อการปนเปื้อนเชื้อ *Staphylococcus aureus*

เพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างพื้นผิวของขนุนต่อการเกาะติดของเชื้อ *S. aureus* ที่จำลองการปนเปื้อนบนตัวอย่างขนุนที่ผ่านและไม่ผ่านการรมไอกรด เปรียบเทียบกับขนุนที่ไม่ได้ถ่ายเชื้อและไม่ผ่านการรมไอกรด ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscop: SEM) โดยส่งตรวจตัวอย่างที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย

3.6.6.1 เตรียมตัวอย่างส่งตรวจดังนี้

1) ขนุนที่ไม่ได้ถ่ายเชื้อ *S. aureus* และไม่ผ่านการรมไอ เป็นขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ซื้อมาจากร้านค้าแผงลอยในเขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ไม่ผ่านกระบวนการล้างใด ๆ ทั้งสิ้น (Jackfruit Normal: JF-N)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* ในระดับการปนเปื้อน 10^3 cfu/mL และไม่ผ่านการรมไอกรด (Jackfruit with *S. aureus* : JF-S) ตัวอย่างดังกล่าวต้องทำการล้างพื้นผิวขนุนด้วยสารเคมีออกโซเนีย 3% เพื่อควบคุมปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำการถ่ายลงไป และล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อเพื่อไม่ให้มีการตกค้างของสารเคมีที่อาจยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ทำให้แห้งด้วยการตั้งตัวอย่างไว้ในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นทำการถ่ายเชื้อเริ่มต้น *S. aureus* 10^4 cfu/mL ใน peptone water ลงไป 0.2 มิลลิลิตร บนตัวอย่างขนุน 25 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากันในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ และตั้งไว้ในตู้ปลอดเชื้อ 10 นาที จนกระทั่งพื้นผิวขนุนแห้ง ไม่มีน้ำเกาะ

3) ขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* ในระดับการปนเปื้อน 10^3 cfu/mL และรมไอกรด (Jackfruit with *S. aureus* and Vapor; JF-SV) ตัวอย่างดังกล่าวต้องทำการล้างพื้นผิวขนุนด้วยสารเคมีออกโซเนีย 3% เพื่อควบคุมปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำการถ่ายลงไป และล้างด้วยน้ำปลอดเชื้อเพื่อไม่ให้มีการตกค้างของสารเคมีที่อาจยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ทำให้แห้งด้วยการตั้งตัวอย่างไว้ในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นทำการถ่ายเชื้อเริ่มต้น *S. aureus* 10^4 cfu/mL ใน peptone water ลงไป 0.2 มิลลิลิตร บนตัวอย่างขนุน 25 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากันในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ และตั้งไว้ในตู้ปลอดเชื้อ 10 นาที จนกระทั่งพื้นผิวขนุนแห้ง ไม่มีน้ำเกาะ จากนั้นนำไปรมไอกรดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระยะเวลาที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

4) ตัดตัวอย่างด้วยมีดปลอดเชื้อให้มีขนาด 5 x 5 มิลลิเมตร ใส่ในหลอดเซนติฟิวจ์ที่มีน้ำยาดองเซลล์อยู่ พันพาราฟิล์มที่ฝาเพื่อป้องกันการรั่วซึม ติดฉลากและส่งตัวอย่างไปยังศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ทันที

3.6.7 การออกแบบการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไอกรดทั้ง 3 ชนิด วิเคราะห์ความแปรปรวนโดย ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 คัดแยกเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

จากการวิเคราะห์เชื้อ *S. aureus* จากตัวอย่างขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากร้านค้าแผงลอยในเขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร จำนวน 30 ตัวอย่าง ซึ่งรูปแบบของการขายมีความแตกต่างกันได้แก่ บรรจุในถาดโฟมและพันฟิล์มปิด ใส่ในถุงพลาสติก หรือวางไว้ในภาชนะที่มีพลาสติกคลุมและหยิบใส่ถุงตามปริมาณที่ต้องการ พบว่า 12 ตัวอย่างจาก 30 ตัวอย่าง คิดเป็น 40 % พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* อยู่ในระดับ $10^2 - 10^3$ cfu/g ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* ในขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคในเขตพื้นที่ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

จำนวนตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างที่มีการปนเปื้อน *S. aureus*	การปนเปื้อน (%)	ปริมาณการปนเปื้อน (cfu/g)
30	12	40	10^2-10^3

ข้อมูลจากตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าขนุนมีการปนเปื้อนของเชื้ออยู่ในระดับ $10^2 - 10^3$ cfu/g ซึ่งเกินเกณฑ์การยอมรับของเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่กำหนดเกณฑ์สำหรับเชื้อ *S. aureus* ในอาหารพร้อมบริโภค ในกลุ่มผักและผลไม้ตัดแต่ง สลัดผัก เช่น ผักและผลไม้ตัดแต่งที่บรรจุในถาดโฟม หรือถุงพลาสติก ไว้ น้อยกว่า 100 cfu/g แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงของผู้บริโภคต่อการได้รับเชื้อจากการรับประทานขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus* แม้การปนเปื้อนจะอยู่ระดับที่ยังไม่สามารถก่อให้เกิดโรคก็ตาม แต่เชื้อสามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้ในระหว่างการวางขายและสร้างสารพิษที่เป็นสาเหตุของการเจ็บป่วยได้

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของกรดอะซิติก กรดแลกติกและกรดซิตริกในรูปของสารละลาย ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี disc agar diffusion

จากการตรวจสอบขนาดของโซนยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยการใช้สารละลายกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ความเข้มข้น 10% (v/v) พบว่า กรดทั้งสามชนิดมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในสภาวะที่เป็นสารละลาย เมื่อเปรียบเทียบขนาดของโซนยับยั้งของกรดทั้งสามชนิด (ตารางที่ 4.2; ภาพที่ 4.1) พบว่า สารละลายกรดอะซิติกมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้ง โดยมีโซนยับยั้งเท่ากับ 2.09 $\pm$ 0.05 cm ในขณะที่ กรดแลกติกและกรดซิตริก ทำให้เกิดโซนยับยั้งขนาด 1.46 $\pm$ 0.04 และ 1.24 $\pm$ 0.06 cm ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎี ในการเปรียบเทียบความแรงของกรดอ่อนที่พิจารณาได้จากค่าคงที่การแตกตัวของกรดอ่อนหรือ ค่า Ka (acid dissociation constant) กรดที่มีค่า Ka มากจะแตกตัวให้โปรตอนมากกว่ากรดที่มีค่า Ka น้อย จึงมีความเป็นกรดที่แรงกว่า เมื่อเปรียบเทียบค่าการแตกตัวของกรดทั้งสามชนิด พบว่า กรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริกมีค่า K_a เท่ากับ 1.8×10^{-5}, 1.37×10^{-4} และ 7.1×10^{-4} ตามลำดับ จะเห็นว่ากรดซิตริกมีค่า Ka มากกว่ากรดอะซิติก ดังนั้น กรดซิตริกจึงมีความเป็นกรดที่แรงกว่า แต่ในกลไกการทำลายจุลินทรีย์ของกรดอ่อนจะมีประสิทธิภาพดีเมื่อมีปริมาณกรดที่ไม่แตกตัวมาก เนื่องจากกรดที่ไม่แตกตัวจะแพร่เข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์เนื่องจากสามารถละลายในไขมันและเคลื่อนที่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ขณะที่ประจุที่แตกตัวไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ขณะที่ภายในเซลล์จุลินทรีย์ กรดที่ไม่แตกตัวจะสามารถแตกตัวภายใต้สภาวะที่เป็นกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อย เซลล์จุลินทร์ย์จึงปั๊ม H+ ที่เกินออกมาภายนอกเซลล์ ทำให้ในเซลล์จุลินทรีย์มีความเป็นกรดสูงขึ้น โดย pH ที่ลดลงมีผลทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ลดลงและตายในที่สุด (Lambert and Stratford, 1999) ความแรงของกรดต่าง ๆ ที่ให้ผลยับยั้งจุลินทรีย์เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) กรดอะซิติก (acetic acid) กรดแลกติก (lactic acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) และกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) เป็นต้น (ธีรพร กงบังเกิด, 2546) แม้ว่าได้ทำการเจือจางกรดเพื่อใช้ในการทดลองก็ตาม

ทั้งนี้เพื่อยืนยันว่าสารละลายกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อเมื่ออยู่ในรูปสารละลาย ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่ไอของกรดจากธรรมชาติที่เลือกมาสำหรับการทดลองจะสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เมื่ออยู่ในรูปของไอกรดได้ อย่างไรก็ตามมีการวิจัยที่รายงานว่ากรดอินทรีย์โดยเฉพาะกรดอ่อนมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถนำไปใช้กับการเก็บรักษาอาหารได้ (Davison and Juneja, 1990) เช่น กรดอะซิติกใน Balsamic vinegar สามารถลดเชื้อแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes* ในผักกาดหอม (Ramos *et al.*, 2014) กรดแลกติกใช้ในการลดการปนเปื้อนในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ (Melcon *et al.*, 2017) และยังมีการศึกษาการใช้กรดซิตริกร่วมกับรังสีอัลตร้าไวโอเลต (UV) เพื่อลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียในแอปเปิ้ลได้ถึง 2.6 log CFU/g (Chen *et al.*, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 โซนการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ด้วยวิธี disc agar diffusion โดยการใช้สารละลายกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ความเข้มข้น 10% ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

ชนิดของสารละลาย	สูตรทางเคมี	น้ำหนักโมเลกุล	pH ของสารละลาย	โซนการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนอาหาร TSA (cm)**
Water	H_2O	18.00	6.90	0^{d}
Acetic acid*	$C_4H_4O_2$	60.05	2.24	$2.09^{a} \pm 0.05$
Lactic acid*	$C_3H_6O_3$	90.08	1.66	$1.46^{b} \pm 0.04$
Citric acid*	$C_6H_8O_7$	192.62	1.59	$1.24^{c} \pm 0.06$

* ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 10%

** Mean ± SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยของโซนการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อ เปรียบเทียบโดย DMRT

ภาพที่ 4.1 โซนการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ด้วยวิธี disc agar diffusion โดยใช้สารละลายกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ความเข้มข้น 10% ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

4.3 การศึกษาประสิทธิภาพไอของกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (*In vitro*)

4.3.1 ชนิดของไอกรดและระยะเวลาการรมไอที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระดับการปนเปื้อนสูง 10^6 cfu/mL บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.3) พบว่าไอกรดแลกติก และไอกรดซิตริกไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่มีการปนเปื้อนสูง 10^6 cfu/mL ได้ ถึงแม้ว่าผ่านการรมไอไป 120 นาทีก็ตาม ในขณะที่ไอของกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 0.99 $\pm$ 0.02 mM สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนสูง 10^6 cfu/mL ได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อรมไอเป็นเวลาผ่านไป 30 นาที ดังตารางที่ 4.4 และที่ความเข้มข้น 0.65 $\pm$ 0.05 mM สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนต่ำ 10^3 cfu/mL ได้สมบูรณ์ เมื่อรมไอเป็นเวลาผ่านไป 20 นาที ดังตารางที่ 4.5

เนื่องจากกรดจากธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอ่อนมีโครงสร้างสายสั้น มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Buchanan *et al.*, 2004) กรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริกจึงมีผลกระทบอย่างรุนแรงต่อเซลล์จุลินทรีย์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโปรตอนที่สามารถเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ (Bjornsdottir *et al.*, 2006) ทำให้เกิดการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Blackburn and McClure, 2002) ส่วนไอของกรดแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แตกต่างกัน โดยการระเหยเป็นไอที่ปรากฏอยู่เหนือของเหลวในภาชนะที่ปิดสนิท ไอของโมเลกุลของเหลวที่อยู่เหนือของเหลวจะวิ่งชนผนังของภาชนะทำให้เกิดความดันเรียกว่า ความดันไอ (vapor pressure) ซึ่งของเหลวแต่ละชนิดจะมีความดันไอไม่เท่ากัน โดยพบว่า ถ้าแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลน้อย ความดันไอของของเหลวจะมีค่าสูง เพราะโมเลกุลของของเหลวสามารถระเหยได้ง่าย ในทางตรงกันข้าม ถ้าของเหลวมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมากความดันไอของของเหลวจะมีค่าน้อย ดังนั้นกรดอะซิติกสามารถระเหยได้ง่ายกว่ากรดแลกติกและกรดซิตริกที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า ทำให้กรดอะซิติกทั้งในรูปของของเหลวและไอ สามารถนำไปใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและราได้ในอาหารหลากหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ สตรอเบอร์รี่ เชอร์รี่ องุ่น และ ไข่ เป็นต้น (Krusong, *et al.*, 2012; Sholberg *et al.*, 2000; Tzortzakis, 2010; Chu *et at.*, 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก กรดแลกติก และ กรดซิตริก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนสูง บนอาหาร TSA

ระยะเวลาในการรมไอ (นาที)	*S. aureus* ที่เหลือรอดจากระดับการปนเปื้อนสูง (log CFU/mL)*			เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)		
	AA	LA	CA	AA	LA	CA
0	$6.092^{a} \pm 0.0d$	$6.09^{a} \pm 0.07$	$6.10^{a} \pm 0.06$	0.0	0.0	0.0
30	ND^{b}	$6.07^{a} \pm 0.06$	$6.08^{a} \pm 0.06$	100.0	0.0	0.0
60	ND^{b}	$6.04^{a} \pm 0.05$	$6.08^{a} \pm 0.06$	100.0	0.0	0.0
90	ND^{b}	$6.01^{a} \pm 0.04$	$6.03^{a} \pm 0.06$	100.0	0.0	0.0
120	ND^{b}	$5.97^{ab} \pm 0.05$	$6.02^{a} \pm 0.07$	100.0	0.0	0.0

ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 10%;

* Mean ± SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT; คำย่อ: AA, กรดอะซิติก; LA, กรดแลกติก; และ CA, กรดซิตริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติกที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนสูง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

ระยะเวลาในการรมไอ (นาที)	กรดอะซิติก (mM)	*S. aureus* ที่เหลือรอดจากระดับการปนเปื้อนสูง (log CFU/mL)*	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)
0	0.00	$6.07^{a} \pm 0.01$	0.0
5	0.18 ± 0.02	$6.02^{a} \pm 0.03$	0.8
10	0.38 ± 0.02	$5.74^{b} \pm 0.01$	5.5
15	0.51 ± 0.03	$4.35^{c} \pm 0.02$	28.4
20	0.67 ± 0.03	$2.38^{d} \pm 0.05$	60.8
25	0.85 ± 0.02	$1.36^{e} \pm 0.05$	77.5
30	0.99 ± 0.02	ND^{f}	100

ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 10%; ความเข้มของกรดอะซิติกระหว่างการรมไอคำนวณจากน้ำหนักของกรดอะซิติกที่ถูกใช้ไปต่อน้ำหนักโมเลกุลของกรดอะซิติก (60) ต่อปริมาตรของกล่องรมไอ 37.5 ลิตร; * Mean ± SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อ เปรียบเทียบโดย DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนต่ำ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

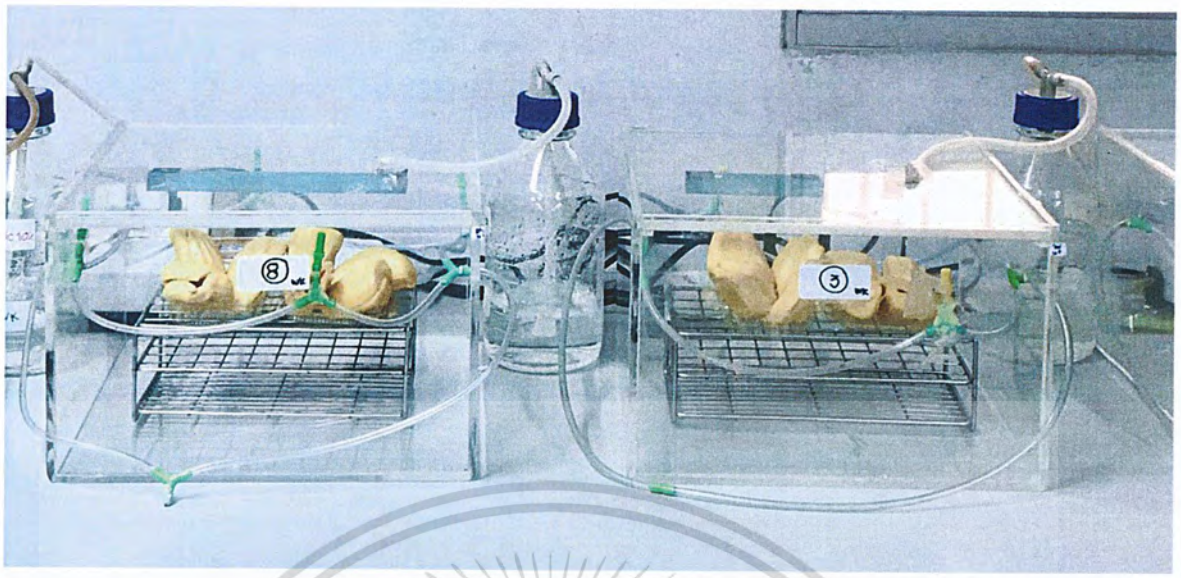
ระยะเวลาในการรมไอ (นาที)	กรดอะซิติก (mM)	*S. aureus* ที่เหลือรอดจากระดับการปนเปื้อนต่ำ (log CFU/mL)*	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)
0	0.00	$2.12^{a} \pm 0.06$	0.0
5	0.18 ± 0.02	$1.98^{b} \pm 0.04$	6.8
10	0.38 ± 0.02	$1.14^{c} \pm 0.05$	46.1
15	0.51 ± 0.04	$0.99^{d} \pm 0.03$	53.3
20	0.65 ± 0.05	ND^{e}	100

ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 10%; ความเข้มของกรดอะซิติกระหว่างการรมไอคำนวณจากน้ำหนักของกรดอะซิติกที่ถูกใช้ไปต่อน้ำหนักโมเลกุลของกรดอะซิติก (60) ต่อปริมาตรของกล่องรมไอ 37.5 ลิตร; * Mean ± SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อ เปรียบเทียบโดย DMRT

4.4 การศึกษาประสิทธิภาพไอกรดอะซิติก ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ถ่ายเชื้อลงบนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

ในการทดลองนี้ได้มีการล้างและฆ่าเชื้อขนุนด้วยสารละลายออกโซเนีย 3% 2 รอบ และล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 รอบ เพื่อกำจัดสารเคมีตกค้าง กลิ่นสารเคมี และจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่ปนเปื้อนอยู่บนพื้นผิวของขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค เพื่อให้แน่ใจว่าปริมาณเชื้อที่ถ่ายลงบนพื้นผิวขนุนเป็นเชื้อเป้าหมายและอยู่ในระดับการปนเปื้อนที่ควบคุม โดยทำให้พื้นผิวขนุนแห้งในตู้ปลอดเชื้อเป็นเวลา 10 นาทีก่อนทำการถ่ายเชื้อ และตั้งทิ้งไว้ในตู้ปลอดเชื้ออีก 10 นาที เพื่อให้ผิวขนุนแห้ง ไม่มีน้ำติดบนพื้นผิวก่อนนำไปรมไอด้วยกรดอะซิติก 10% (ภาพที่ 4.2) เป็นเวลา 0 (ชุดควบคุม), 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อและบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง และทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่เหลือรอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 Box Model ที่ใช้ในการรมไอขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค (Krusong *et al*, 2015)

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4.6 แสดงให้เห็นว่าเมื่อรมไอกรดอะซิติกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปริมาณกรดที่ใช้เท่ากับ 8.30 ± 0.11 mM สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระดับการปนเปื้อนต่ำ (10^3 cfu/mL) ได้อย่างสมบูรณ์ (100 %) ในขณะที่ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ในระดับการปนเปื้อนสูง (10^6 cfu/mL)ได้เพียง 20.6 % ดังที่แสดงในตารางที่ 4.7 แม้ว่าการทดสอบประสิทธิภาพการรมไอในหลอดทดลองจะสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ 100 % ที่เวลา 20 นาที สำหรับการปนเปื้อนในระดับต่ำและ 30 นาทีในระดับการปนเปื้อนสูง แต่เมื่อทำการถ่ายเชื้อลงบนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค กลับพบว่าระยะเวลา 20 และ 30 นาที ไม่เพียงพอสำหรับการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* สำหรับการปนเปื้อน 10^3 และ 10^6 cfu/mL ดังนั้นจึงได้เพิ่มระยะเวลาในการรมไอ เพื่อหาระยะเวลาและปริมาณของกรดที่ใช้ ที่สามารถลดระดับการปนเปื้อนได้อย่างสมบูรณ์ จึงทำให้ระยะเวลาในการรมไอสูงขึ้นถึง 4 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องจากพื้นผิวของขนุน มีลักษณะเป็นร่อง มียางซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้เชื้อ *S. aureus* ที่ถ่ายเชื้อลงบนผิวหน้า มีการฝังตัวในส่วนที่เป็นยางขนุน หรืออยู่ในร่องของผิวขนุน ทำให้พื้นผิวที่สัมผัสกับไอกรดน้อยลง จึงใช้เวลานานขึ้นในการฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนต่ำ บนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

ระยะเวลาในการรมไอ (ชั่วโมง)	กรดอะซิติก (mM)	*S. aureus* ที่เหลือรอดจากระดับการปนเปื้อนต่ำ (log CFU/mL)*	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)
0	0.00	$3.47^{a} \pm 0.01$	0.0
1	2.15 ± 0.07	$2.66^{b} \pm 0.02$	23.4
2	4.91 ± 0.08	$1.45^{c} \pm 0.02$	58.3
3	6.95 ± 0.09	$0.93^{d} \pm 0.03$	73.2
4	8.30 ± 0.11	ND^{e}	100

ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 10%; ความเข้มของกรดอะซิติกระหว่างการรมไอคำนวณจากน้ำหนักของกรดอะซิติกที่ถูกใช้ไปต่อน้ำหนักโมเลกุลของกรดอะซิติก (60) ต่อปริมาตรของกล่องรมไอ 37.5 ลิตร; * Mean ± SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อ เปรียบเทียบโดย DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนสูง บนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

ระยะเวลาในการรมไอ (ชั่วโมง)	กรดอะซิติก (mM)	*S. aureus* ที่เหลือรอดจากระดับการปนเปื้อนสูง (log CFU/mL)*	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)
0	0.00	$5.03^{a} \pm 0.01$	0.0
1	2.15 ± 0.07	$4.47^{b} \pm 0.02$	10.9
2	4.91 ± 0.08	$4.27^{c} \pm 0.01$	14.9
3	6.95 ± 0.09	$4.11^{d} \pm 0.03$	12.2
4	8.30 ± 0.11	$3.99^{e} \pm 0.00$	20.6

ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 10%; ความเข้มของกรดอะซิติกระหว่างการรมไอคำนวณจากน้ำหนักของกรดอะซิติกที่ถูกใช้ไปต่อน้ำหนักโมเลกุลของกรดอะซิติก (60) ต่อปริมาตรของกล่องรมไอ 37.5 ลิตร; * Mean ± SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อ เปรียบเทียบโดย DMRT

4.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษาขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

4.5.1 ด้านจุลินทรีย์

ในการศึกษานี้ได้ใช้ขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ซื้อจากร้านค้าในเขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร นำมาเป็นชุดควบคุมและชุดทดลองเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ถ่ายเชื้อลงไปในปริมาณ 10^3 cfu/mL บนตัวอย่างขนุน 25 กรัม โดยขนุนที่เตรียมสำหรับการทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ได้ผ่านการล้างฆ่าเชื้อเพื่อควบคุมปริมาณเชื้อเริ่มต้น โดยชุดทดลองนั้นผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ในขณะที่ขนุนชุดควบคุมไม่ผ่านการรมไอ จากนั้นเก็บในภาชนะพลาสติก HDPE ที่มีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 1 3 5 และ 7 วัน ศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ผลการศึกษา พบว่า ขนุนที่มีการถ่ายเชื้อในระดับการปนเปื้อนต่ำ (10^3 cfu/mL) ผ่านการรมไอด้วยไอกรดอะซิติกเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ไม่พบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้อย่างสมบูรณ์ แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน และ 7 วัน มีการเจริญของเชื้อ *S. aureus* 1.00 ± 0.02 และ 1.36 ± 0.01 log CFU/mL ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมที่มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ่ายเชื้อในระดับการปนเปื้อนต่ำ (10^3 cfu/mL) แต่ไม่ผ่านการรมไอมีเชื้อเริ่มต้นที่ 3.26 ± 0.02 log CFU/mL มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างเล็กน้อยที่ 1 วันแรก เป็น 3.29 ± 0.02 log CFU/mL และเริ่มลดจำนวนลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน และลดลงอย่างต่อเนื่องเหลือ 3.21 ± 0.01 และ 3.20 ± 0.01 log CFU/mL เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน และ 7 วันตามลำดับ ในขณะที่ชุดทดลองรมไอด้วยไอกรดอะซิติกมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* 57.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.8

สำหรับเชื้อ *S. aureus* ที่ตรวจพบในวันที่ 5 และ 7 สำหรับชุดที่มีการรมไอ อาจเกิดจากการฟื้นตัวของเชื้อ *S. aureus* ที่เหลือรอดจากการรมไอ และได้รับสารอาหารจากขนุนได้แก่ น้ำและน้ำตาล ที่เป็นแหล่งพลังงานสำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ที่เป็นผลจากการตัดแต่งผลไม้ (เนตรา สมบูรณ์แก้ว และ นิรมล สันติภาพวิวัฒนา, 2548)

ตารางที่ 4.8 การเหลือรอดของเชื้อ *S. aureus* ที่ทำการถ่ายเชื้อในระดับ 10^3 cfu/mL ในขนุนตัดแต่งที่ไม่ผ่านการรมไอ เปรียบเทียบกับขนุนตัดแต่งที่ผ่านการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	*S. aureus* ที่เหลือรอด (log CFU/ml)*		เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)
	ชุดควบคุม	AA	
0	$3.26^{b} \pm 0.02$	ND^{c}	100
1	$3.29^{a} \pm 0.02$	ND^{c}	100
3	$3.24^{b} \pm 0.02$	ND^{c}	100
5	$3.21^{c} \pm 0.01$	$1.00^{b} \pm 0.00$	68.9
7	$3.20^{c} \pm 0.01$	$1.36^{a} \pm 0.01$	57.5

*Mean ± SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อ เปรียบเทียบโดย DMRT; อักษรย่อ : AA, กรดอะซิติก

4.5.2 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของขนุนที่ทำการถ่ายเชื้อ *S. aureus* ในปริมาณ 10^3 cfu/mL บนตัวอย่างขนุน 25 กรัม ที่ผ่าน (JF-SV) และไม่ผ่านการรมไอ (JF-S) ของกรดอะซิ-ติก 10% เป็นเวลา 4 ชม. เปรียบเทียบกับขนุนที่ไม่ผ่านกระบวนการล้างและรมไอ (Jackfruit Normal:

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

JF-N) จัดเก็บในถาดพลาสติก HDPE ชนิดมีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตุการเปลี่ยนแปลงที่ 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่า ขนุนปกติที่ไม่ผ่านการล้างและรมไอมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัสจากลักษณะปรากฏไม่แตกต่างจากขนุนที่ทำการถ่ายเชื้อและไม่ได้รมไอ โดยสาเหตุหลักของการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพมาจากการตัดแต่งเนื้อขนุนที่สร้างบาดแผล ทำให้เกิดการสูญเสียองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น ความชื้น วิตามิน และเกลือแร่ กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เช่น การย่อยสลายเพคตินด้วยเอนไซม์พอลิกาแลคทูโรเนส (Polygalactorunase; PG) การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบภายในเซลล์ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เนื้อขนุนมีความอ่อนนุ่มขึ้น โดยปริมาณแป้งที่สะสมในเนื้อขนุนจะถูกย่อยเป็นน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ ปฏิกิริยาระหว่างอากาศและสารเคมีหรือระหว่างสารเคมีที่ออกมาจากเซลล์ก่อให้เกิดผลกระทบต่อการสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซเอทีลีน การลดลงของน้ำตาลและกรดอินทรีย์ การสูญเสียน้ำหนัก การสูญเสียความแน่นเนื้อ การเปลี่ยนแปลงกลิ่นและรสชาติ การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อขนุน (เนตรา สมบูรณ์แก้ว และ นิรมล สันติภาพวิวัฒนา, 2548) ในขณะที่ขนุนที่มีการถ่ายเชื้อและผ่านการรมไอเป็นเวลา 4 ชั่วโมง มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพเพียงเล็กน้อย ผิวขนุนมีความฉ่ำน้ำน้อยกว่าขนุนที่ไม่ได้ผ่านการรมไอ ซึ่งอาจเป็นผลจากการรมไอช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนทำให้การเน่าเสียเกิดได้ช้าลง ขนุนจึงยังคงสภาพแตกต่างจากขนุนที่ไม่ได้รมไอ ดังภาพที่ 4.3

4.5.3 ด้านประสาทสัมผัส

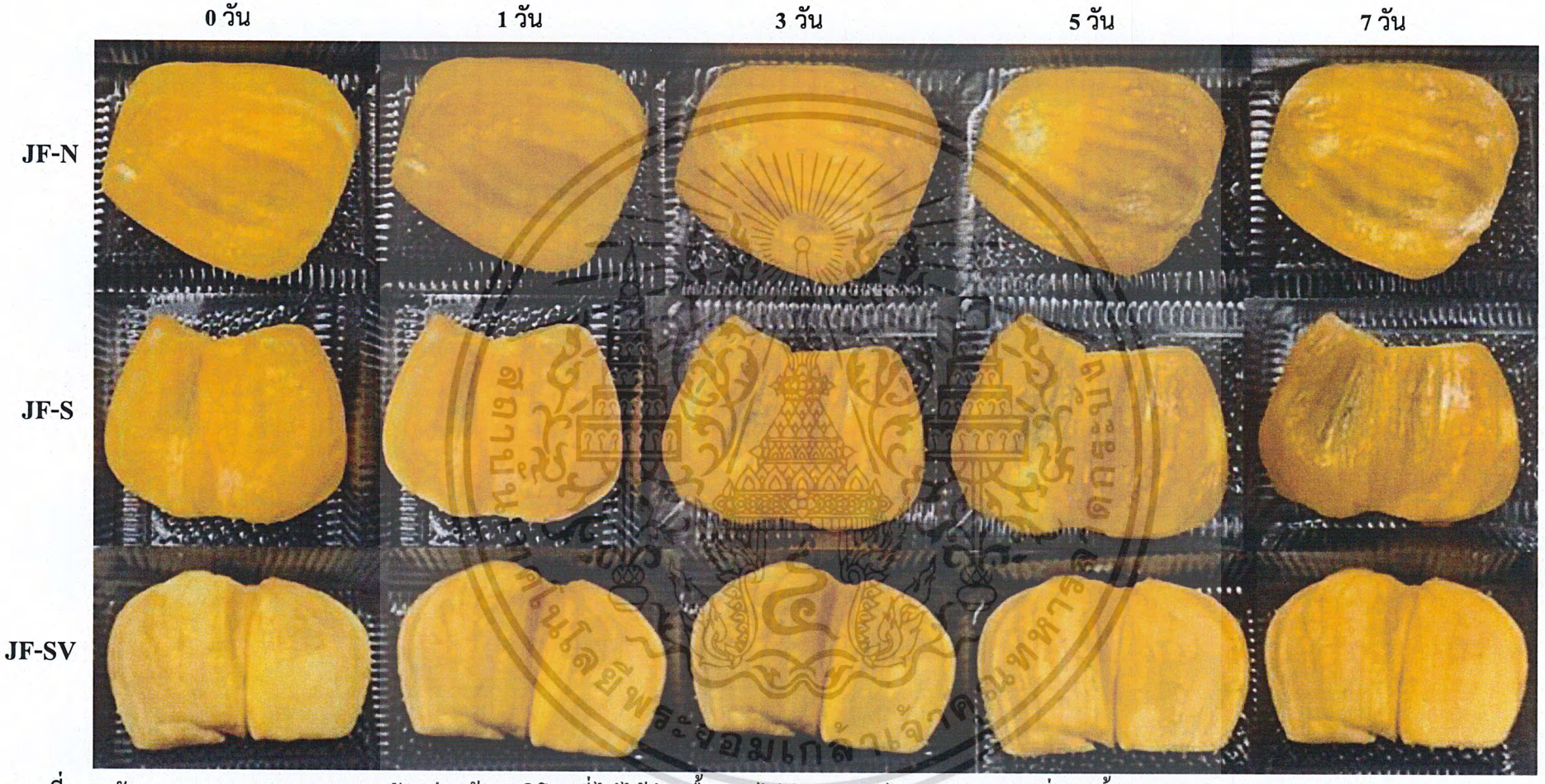
ขนุนสำหรับการทดสอบด้านประสาทสัมผัส จะเป็นขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ไม่ผ่านการล้างฆ่าเชื้อและไม่มีการถ่ายเชื้อ เพื่อป้องกันไม่ให้ขั้นตอนการล้างมีผลต่อลักษณะทางกายภาพและคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัสของขนุนระหว่างการจัดเก็บและความปลอดภัยของผู้ร่วมทดสอบ โดย แบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด ได้แก่ ชุดควบคุม (C) และชุดทดลอง (AA) โดยชุดทดลองจะผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชม. จัดเก็บในถาดพลาสติก HDPE ชนิดมีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการประเมินทางด้าน ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมในรูปของการให้คะแนน เปรียบเทียบกับขนุนชุดควบคุม (C) โดยทำการประเมินด้วยกลุ่มผู้บริโภคจำนวน 15 คน ทุกวัน จนครบ 7 วัน ผลการทดสอบขนุนที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับตัวอย่างขนุนที่ไม่มีการถ่ายเชื้อและไม่ผ่านการรมไอที่เก็บรักษาในสภาวะเดียวกัน (C) ที่แสดงในตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่า ลักษณะปรากฏของขนุนที่ผ่านการรมไอ (AA) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับขนุนที่ไม่ผ่านการรมไอ (C) ในระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษา 0 – 3 วัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระยะเวลา 4 – 7 วัน ขณะที่สีและกลิ่นของขนุนที่ผ่านการรมไอ (AA) กับขนุนที่ไม่ผ่านการรมไอ (C) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ขนุนได้รับการยอมรับเทียบเท่ากัน เมื่อเก็บรักษาที่ระยะเวลา 0 – 7 วัน ในส่วนของกลิ่นที่ผลทางสถิติ แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างขนุนที่ผ่านและไม่ผ่านการรมไอกรดอะซิติกตลอดระยะเวลาการจัดเก็บ 7 วัน เนื่องจากกลิ่นของขนุนนั้นเป็นกลิ่นเฉพาะที่สามารถกลบกลิ่นของไอกรดอะซิติกได้ ทำให้ผู้บริโภคไม่สามารถแยกความแตกต่างของกลิ่นได้ ลักษณะเด่นของขนุนที่ผ่านการรมไอ คือ เนื้อสัมผัสที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากกว่าขนุนที่ไม่ผ่านการรมไอตลอดระยะเวลาการจัดเก็บ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีความแตกต่างของเนื้อสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อระยะเก็บรักษา 3 – 5 วัน ที่ผู้บริโภคมีความชอบในเนื้อสัมผัสของขนุนที่ผ่านการรมไอมากกว่าขนุนที่ไม่ผ่านการรมไอ ทั้งนี้เนื่องจากการรมไอด้วยระยะเวลานานถึง 4 ชั่วโมง ส่งผลทำให้ผิวหน้าของขนุนแห้ง กรอบขึ้น เห็นได้จากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักขนุนที่หายไปหลังจากการรมไอกรด 4 ชั่วโมง 0.40 $\pm$ 0.05 กรัม จากน้ำหนักเริ่มต้น 25.02 -25.88 กรัม น้ำที่หายไปยังส่งผลน้ำและสารอาหารที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ลดน้อยลง ลักษณะทางกายภายของขนุนจึงเปลี่ยนแปลงช้ากว่าขนุนที่ไม่ได้ผ่านการรมไอ

ขณะที่ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และเนื้อสัมผัสได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค แต่ผลของรสชาติขนุนที่ผ่านและไม่ผ่านการรมไอกรดอะซิติกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่วันที่ 0 ซึ่งไม่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคทางด้านรสชาติ ซึ่งเป็นตัวแปรหลักที่ส่งผลให้ความชอบโดยรวมของขนุนที่ผ่านการรมไอ ไม่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพของขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ไม่ได้ถ่ายเชื้อและไม่ผ่านการรมไอ (JF-N), ขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL ไม่ผ่านการรมไอ (JF-S) และ ขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง (JF-SV) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.9 การทดสอบด้านประสาทสัมผัสของขนุนดัดแต่งพร้อมบริโภคที่ผ่านและไม่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (จำนวนผู้สอบ 15 คน ต่อวัน)

ระยะเวลา (วัน)	คุณลักษณะของตัวอย่าง											
	ลักษณะปรากฏ*		สี*		กลิ่น*		รสชาติ*		เนื้อสัมผัส*		ความชอบรวม*	
ตัวอย่าง	C	AA	C	AA	C	AA	C	AA	C	AA	C	AA
0	4.73^{Aa}	4.73^{Aa}	4.60^{Aa}	4.57^{Aa}	4.07^{Aa}	4.07^{Aa}	4.33^{Aa}	3.27^{Ba}	4.33^{Aa}	4.40^{Aa}	4.27^{Aa}	2.93^{Ba}
1	4.53^{Aa}	4.40^{Aab}	4.33^{Aab}	4.40^{Aab}	4.00^{Aab}	3.93^{Aab}	4.33^{Aa}	3.00^{Bab}	4.13^{Aa}	4.20^{Aab}	4.20^{Aa}	2.73^{Bab}
2	4.33^{Aab}	4.33^{Aabc}	4.20^{Aabc}	4.20^{Aabc}	3.93^{Aab}	3.80^{Aabc}	4.27^{Aa}	2.93^{Babc}	4.07^{Aa}	4.13^{Aab}	4.07^{Aab}	2.60^{Babc}
3	4.07^{Abc}	4.20^{Abc}	4.13^{Aabcd}	4.20^{Aabc}	3.87^{Aab}	3.73^{Aabc}	4.07^{Aab}	2.73^{Babc}	3.80^{Aab}	3.93^{Bab}	4.07^{Aab}	2.40^{Babcd}
4	3.80^{Acd}	3.93^{Bcd}	3.93^{Abcd}	4.00^{Aacd}	3.60^{Aabc}	3.60^{Aabc}	3.80^{Ab}	2.60^{Bbcd}	3.47^{Abc}	3.67^{Bbc}	3.87^{Aab}	2.27^{Bbcd}
5	3.53^{Ad}	3.73^{Bd}	3.80^{Acd}	3.80^{Acd}	3.53^{Aabc}	3.53^{Aabc}	3.73^{Aab}	2.33^{Bcde}	3.27^{Abcd}	3.40^{Bcd}	3.67^{Ab}	2.07^{Bcd}
6	3.40^{Ade}	3.67^{Bde}	3.67^{Ad}	3.67^{Ade}	3.47^{Abc}	3.47^{Abc}	3.67^{Aab}	2.07^{Bde}	3.00^{Acd}	3.13^{Ade}	3.60^{Ab}	1.93^{Bd}
7	3.00^{Ae}	3.27^{Be}	3.20^{Ae}	3.33^{Ae}	3.27^{Ac}	3.33^{Ac}	3.33^{Ac}	1.73^{Be}	2.73^{Ad}	2.80^{Ae}	3.07^{Ac}	1.80^{Bd}

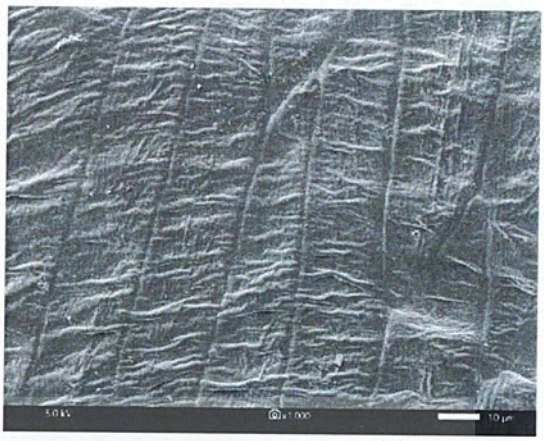
* Mean ± SD; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวนอนคือผลของการรมไอกรดอะซิติกของแต่ละคุณลักษณะและตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวตั้งคือผลของอายุการเก็บรักษา หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อ เปรียบเทียบโดย DMRT; อักษรย่อ : C = ชุดควบคุมที่ไม่ผ่านการรมไอ, AA = ผ่านการรมไอกรดอะซิติก

4.6 ศึกษาลักษณะโครงสร้างของขนุนต่อการปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus*

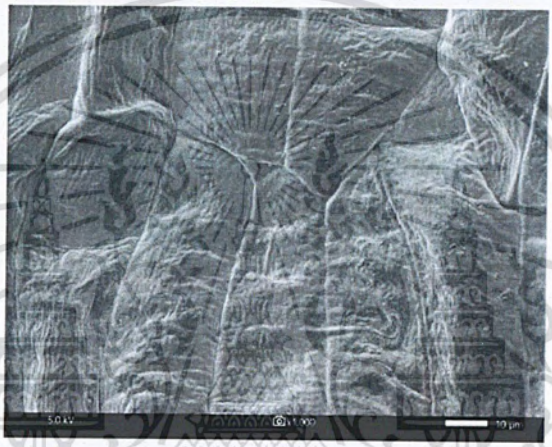
ผลการศึกษาโครงสร้างของขนุนต่อการเกาะติดของเชื้อ *S. aureus* ที่จำลองการปนเปื้อนบนตัวอย่างขนุนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่า ผิวหน้าของขนุนที่มีการล้างและถ่ายเชื้อ *S. aureus* ลงไป มีลักษณะเป็นริ้วและร่อง แตกต่างจากขนุนปกติ เนื่องจากก่อนทำการถ่ายเชื้อมีขั้นตอนในการล้างพื้นผิวขนุนด้วยสารเคมีออกโซเนีย 3 เปอร์เซ็นต์ ล้างน้ำและทำให้แห้งด้วยการผึ่งให้แห้งในตู้เขี่ยเชื้อ ที่อาจส่งผลให้ผิวหน้ามีลักษณะย่น เห็นร่องบริเวณพื้นผิวได้มากขึ้น การตัดแต่งขนุนและการล้างด้วยสารเคมีนี้ทำให้ผนังเซลล์ได้รับผลกระทบ เกิดการสูญเสียส่วนประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น ความชื้น วิตามิน เกลือแร่ อีกทั้งโครงสร้างเซลล์ที่อ่อนแอลง ง่ายต่อการเข้าทำลายเซลล์โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน (เนตรา สมบูรณ์แก้ว และ นิรมล สันติภาพวิวัฒนา, 2548) พบการเกาะตัวของเชื้อจุลินทรีย์กระจายบนพื้นผิวของขนุนทั้งที่มีการถ่ายเชื้อลงไปและขนุนที่ไม่มีการถ่ายเชื้อลงไปโดยไม่จำเพาะต่อบริเวณใดบริเวณหนึ่ง ส่วนขนุนที่ผ่านการรมไอกรดเป็นเวลานาน (ภาพที่ 4.4 ค) จะมีลักษณะของพื้นผิวที่ตึงขึ้นและมีความแห้งเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเกิดจากการสูญเสียความชื้นในระหว่างการรมไอและผนังเซลล์เสียสภาพจากการล้างด้วยสารเคมี ในขณะที่ตัวเซลล์เองยังคงมีการหายใจ ทำให้มีกระบวนการต่างๆ เกิดขึ้นพร้อมกันหลายกระบวนการ ทั้งการสร้างและทำลาย เช่นการผลิตเม็ดสี การเปลี่ยนโครงสร้างแป้งเป็นน้ำตาล ที่ส่งผลต่อลักษณะภายนอกของขนุนอย่างชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)



(ข)



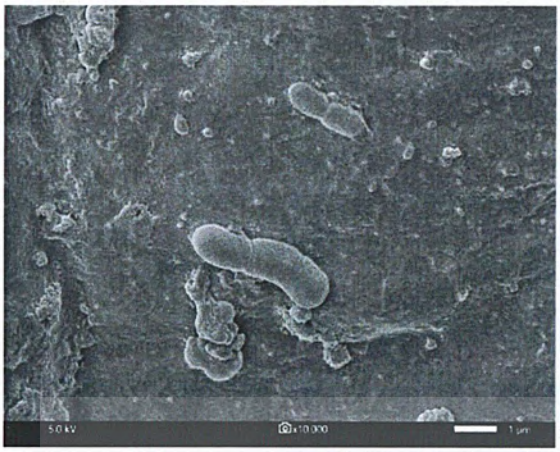
(ค)

ภาพที่ 4.4 ภาพแสดงลักษณะของพื้นผิวขนุนภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 1000 เท่า : (ก) พื้นผิวขนุนที่ไม่มีการถ่ายเชื้อ *S. aureus* (JF-N); (ข) พื้นผิวขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL (JF-S) ที่ไม่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10%; (ค) พื้นผิวขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL (JF-SV) ที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

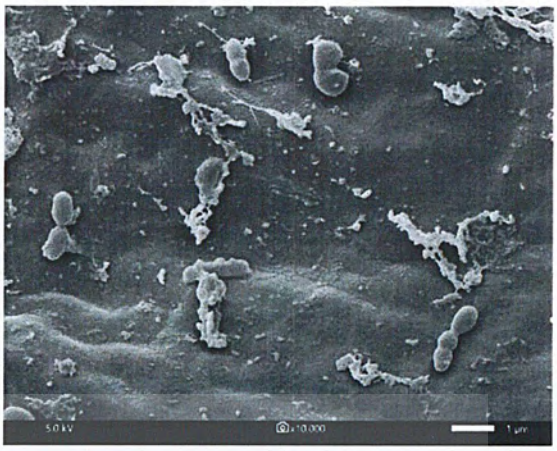
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.5 (ก) พบว่า เมื่อสำรวจการกระจายตัวของเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวขนุนทั่วไป มีลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ นอกเหนือจากเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นการปนเปื้อนตามธรรมชาติ ส่วนขนุนที่มีการถ่ายเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่ผ่านการรมไอดังภาพที่ 4.5 (ข) ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนจะมีความใกล้เคียงกันกับขนุนในภาพที่ 4.5 (ก) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในหัวข้อ 4.1 ข้างต้น ที่ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* อยู่ระหว่าง 10^2 – 10^3 cfu/mL และการเกาะตัวบนพื้นผิวของขนุนจะจับกลุ่มหนาแน่นในบริเวณที่มียางและบริเวณที่เป็นร่อง ซึ่งอาจเป็นเหตุผลให้ระยะเวลาในการรมไอด้วยไอกรดอะซิติก 10% ในขนุนเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ให้ได้อย่างสมบูรณ์นานกว่าการรมไอเชื้อ *S. aureus* ในหลอดทดลองที่ใช้เวลาเพียง 20 และ 30 นาที ที่ระดับการปนเปื้อนต่ำ (10^3 cfu/mL) และระดับการปนเปื้อนสูง (10^6 cfu/mL) ตามลำดับ เพราะเชื้อสามารถเกาะติดกับยางขนุน และยางดังกล่าวได้ห่อหุ้มเชื้อจุลินทรีย์ไว้ ไอกรดแทรกซึมเข้าทำลายเซลล์จุลินทรีย์ได้ยากขึ้น จึงทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวขนุนต่ำลง จากภาพที่ 4.5 (ค) พบว่าขนุนที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง มีปริมาณของเชื้อ *S. aureus* บนผิวหน้าขนุนน้อยมาก ซึ่งการหลงเหลือของเชื้อนั้นยังคงพบในบริเวณที่พื้นผิวเป็นร่อง อย่างไรก็ตามสามารถยืนยันได้ว่า ไอของกรดอะซิติกมีความสามารถในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อสังเกตถึงลักษณะของผิวขนุนที่ผ่านการรมไอ พบว่าพื้นผิวมีความเรียบและแห้งมากกว่า เนื่องจากในขั้นตอนการล้างด้วยสารเคมี มีการทำลายสารเคลือบผิวตามธรรมชาติของขนุนที่ช่วยในการเก็บกักความชื้น ทำให้ขนุนมีการสูญเสียความชื้นในระหว่างการรมไอได้ง่ายขึ้น ส่งผลให้บริเวณผิวมีความมันวาวลดลง และมีผิวที่แห้งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)

(ค)

ภาพที่ 4.5 ภาพแสดงลักษณะการเกาะติดของเชื้อ *S. aureus* บนพื้นผิวขนุนภายใต้กล้องจุลทรรศน์..... อิเลกตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 10000 เท่า: (ก) พื้นผิวขนุนที่ไม่มีการถ่ายเชื้อ *S. aureus* (JF-N); (ข) พื้นผิวขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL (JF-S) ที่ไม่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10%; (ค) พื้นผิวขนุนที่ถ่ายเชื้อ *S. aureus* 10^3 cfu/mL (JF-SV) ที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคในพื้นที่ลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร เพื่อสำรวจแนวโน้มการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบว่า มีการปนเปื้อนของดังกล่าวถึง 40% ของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งมีระดับการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 10^2-10^3 cfu/mL ขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคจึงมีความเสี่ยงต่อการบริโภค ถึงแม้จะเป็นปริมาณการปนเปื้อนที่ไม่มากแต่เชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคที่สามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภคได้

การศึกษาผลของกรดอะซิติก กรดแลกติก และกรดซิตริก ในรูปของสารละลาย 10% (v/v) ต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี Disc Agar Diffusion Method เปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง พบว่า ประสิทธิภาพของกรดแต่ละชนิดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทำให้ทราบว่ากรดทั้งสามชนิดที่ต้องการศึกษามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เมื่ออยู่ในรูปของสารละลาย ซึ่งกรดอะซิติก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ กรดแลกติก และกรดซิตริก ตามลำดับ

การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดซิตริก ความเข้มข้น 10% ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ระดับการปนเปื้อนสูง (10^6 cfu/mL) และระดับการปนเปื้อนต่ำ (10^3 cfu/mL) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA พบว่า มีเพียงไอของกรดอะซิติกเท่านั้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยไอของกรดอะซิติก ที่รมไอเป็นเวลา 30 นาที (0.99 ± 0.02 mM) สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อได้ 6.07 + 0.01 log CFU/mL ได้อย่างสมบูรณ์ และ 20 นาที (0.65 ± 0.05 mM AA) ในการยับยั้งการเจริญเชื้อได้ 2.12 + 0.06 log CFU/mL ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ไอของกรดแลคติก และกรดซิตริก ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ แม้ทำการรมไอนานถึง 2 ชั่วโมง จึงได้เลือกใช้เฉพาะกรดอะซิติก ในการทดลองรมไอกับขนุนในขั้นต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* บนพื้นผิวขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ระดับการปนเปื้อนต่ำ และระดับการปนเปื้อนสูง พบว่า ระยะเวลาในการรมไอกรดอะซิติก 4 ชั่วโมง (8.30 ± 0.11 mM) สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 3.47 ± 0.01 log CFU/mL ได้อย่างสมบูรณ์ แต่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* 5.03 ± 0.01 log CFU/mL ได้เพียง 20.6 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ *S. aureus* ที่ทำการถ่ายเชื้อในระดับ 10^3 cfu/mL ในขนุนตัดแต่งที่ไม่ผ่านการรมไอ เปรียบเทียบกับขนุนตัดแต่งที่ผ่านการรมไอด้วยกรดอะซิติก ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า การรมไอกรดอะซิติก สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ในช่วงการเก็บรักษา 0 – 3 วัน และมีการเพิ่มจำนวนขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 5 และ 7 ตามลำดับ ซึ่งอาจเกิดจากเชื้อมีการฝังตัวกับยางขนุนบนผิวหน้าของขนุน ทำให้ไอของกรดแทรกซึมเข้าไปทำลายเซลล์ไม่ถึง รวมไปถึงเซลล์แบคทีเรียที่ถูกทำลายไปมีการฟื้นตัวและเพิ่มจำนวน ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์และพบเชื้อได้ ดังนั้นระยะเวลาในการเก็บรักษาที่ปลอดภัยต่อการบริโภคหลังการรมไออยู่ในช่วง 0 - 3 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ผลของการศึกษาอายุการเก็บรักษาทางด้านประสาทสัมผัส พบว่า ลักษณะปรากฏ สีกลิ่น และเนื้อสัมผัสของขนุนที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคเทียบเท่ากับขนุนที่ไม่ผ่านการรมไอ แต่รสชาติหลังจากการรมไอไม่ผ่านการยอมรับจากผู้บริโภคเนื่องจาก มีรสชาติที่เปรี้ยวขึ้น ซึ่งรสชาติเปรี้ยวไม่ใช่คุณลักษณะของขนุนที่ผู้บริโภคคาดหวัง ผู้บริโภคนิยมบริโภคขนุนที่มีรสหวานมากกว่า

5.2 ข้อเสนอแนะ

การการรมไอกรดอะซิติก 10% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ปริมาณ 3.47 ± 0.01 log CFU/mL ได้อย่างสมบูรณ์ ที่ระยะเวลาการรมไอ 4 ชั่วโมง ซึ่งยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 3 วัน เมื่อพิจารณาทางด้านจุลินทรีย์และความปลอดภัย หากต้องการนำไอกรดอะซิติกไปใช้ในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* ในขนุนในระดับอุตสาหกรรม จะต้องมีการพัฒนาต่อไปเพื่อหาความเข้มข้นของกรดอะซิติกเริ่มต้นที่เหมาะสม เพื่อลดระยะเวลาในการรมไอให้น้อยลง แต่ยังคงรสชาติหวานของขนุนไว้ได้ รวมถึงการควบคุมปัจจัยในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ควบคู่กับการประยุกต์ใช้เทคนิคต่างๆ ในการรักษาคุณภาพของผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กนกวรรณ ยอดอินทร์. 2556. การผลิตกรดแลคติกจากแป้งด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติก. Food. 43(4): 40-46.

กรดแล็กติก. 2562. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Lactic_acid (23 พฤศจิกายน 2563).

กรรณิกา ศรีประย่า และ ณฐนนท์ ตราชู. 2551. กิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของน้ำผลไม้ต่อเชื้อโรคทางอาหารบางชนิด. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. 13: 906-918.

กลุ่มสารสนเทศการเกษตร. 2562. ข้อมูลเพื่อการวางแผนพัฒนาการเกษตรรายสินค้าของจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ประจำปีงบประมาณ 2562. สำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คู่ทรัพย์ มาตรณาคุณ และ ดาริวรรณ เศรษฐีธรรม. 2559. การปนเปื้อนด้านจุลินทรีย์ในผลไม้แปรรูปที่วางจำหน่ายในตลาดอินโดจีนจังหวัดหนองคาย. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น (บศ.) 16 (2): 86 – 97.

จารุวรรณ ศิริเทพทวี. 2554. การศึกษาเบื้องต้นในการมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำยางจากต้น *Artocarpus heterophyllus*. สาขาวิชาชีวเคมี. สำนักวิชาวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2552. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวของการตายของพืช. ภาควิชาพื้นสวนเกษตร กำแพงแสน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, โรงพิมพ์ศูนย์สงเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

ฐิตินันท์ ชยาวัชรกุล. 2555. ประสิทธิภาพไอกรดน้ำส้มสายชูหมัก เอทานอล และสารร่วมต่อการลดลงของ *Klebsiella pneumoniae* ในผักชี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ดวงพร แสงปลั่ง. 2544. ประสิทธิภาพการใช้สารฆ่าเชื้อผสมของกรดอินทรีย์ร่วมกับคลอรีนไดออกไซด์ในการลดจำนวนเชื้อซัลโมเนลลาไทฟิมิเรียมในกระบวนการผลิตไก่สดแช่เย็น. วิทยานิพนธมหาบัณฑิต วิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล บัณฑิตวิทยาลัย.

ตลาดผักและผลไม้สดในแคนาดา สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ ณ นครแวนคูเวอร์ วันที่ 28 กรกฎาคม 2559. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.ditp.go.th. (20 สิงหาคม 2563)

ธีรพร กงบังเกิด. 2546. จุลชีววิทยาอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยนเรศวร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นฤมล นกพรม ,ขนิษฐา สุทินเผือน, อลิษา สุนทรวัฒน์, ชวนพิศ จิระพงษ์, นิธิภัทร บุญปก และเฉลิมชัย วงษ์อารีย์. 2558. การรมด้วยไอของกรดอะซิติกร่วมกับการอบลมร้อนต่อคุณภาพของมะขามหวานพันธุ์สีทอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 46: 873 – 876.

เนตรา สมบูรณ์แก้ว และ นิรมล สันติภาพวิวัฒนา. 2548. การยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อขนุนด้วยสารเคลือบผิว. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. กรดแอซีติก. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0581/acetic-acid-กรดแอซีติก (7 กรกฎาคม 2560).

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. กรดซิตริก. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1339/citric-acid-กรดซิตริก (11 กุมภาพันธ์ 2560).

ยิ่งลักษณ์ การะวิโก. 2555. เปรียบเทียบผลของการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์กับกรดอ่อนในการลดปริมาณเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในปลาหมึกสดแช่เยือกแข็ง. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย : ความรู้เบื้องต้น 1 [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.med.nu.ac.th/ (24 พฤศจิกายน 2563).

สมคิด ดีจริง และ อรุณี คงดี. 2556. การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกจากแป้งโดยตรงเพื่อลดต้นทุนการผลิตพลาสติกชีวภาพ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สมฤดี ไทพาณิชย์. 2555. กระบวนการแปรรูปด้วยเอนไซม์และการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยของไซรัปขนุนชนิดผง. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 7 : 31-39.

สุรพล มนัสเสรี. 2541. หลักการผลไม้ (Principles of Pomology) บทที่ 11 การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา การขนส่งและการตลาด. ภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรและอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา : 168 – 207.

หทัยทิพย์ นิมิตรเกียรติไกลและสุภัทรชา ไชยชมภู. 2557. การฉายรังสี UV-C ต่อการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์และคุณภาพของแก้วมังกรตัดแต่งพร้อมบริโภค. วารสารแก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ) 1: 583 – 588.

อภิษฐา ช่างสุพรรณ. 2552. กรดซิตริก สารเคมีใกล้ตัวที่ควรรู้. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. 52(180): 7-10.

อุษา ภูคัสมาส. 2553. บทบาทของกรดซิตริกในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม. Food. 40(4): 282-288.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Acedo, A., Acedo, J., Troyo, R., Valida, A. and Benitez, M. 2016. Microbiological quality of fresh-cut jackfruit and pineapple and the antimicrobial potential of organic acids and probiotics. Acta Horticulturae. 1120: 193-200.

Almasaudi, S.B., Al-Nahari, A.A.M., Ghany, E. Sayed M. A.E., Barbour, E., Muhayawi, S.M.A., Jaouni, S.A., Azhar, E., Qari, M., Qari, Y.A. and Harakeh, S. 2017. Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. Saudi Journal of Biological Sciences. 22: 1255-1261.

Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 2002. Chapter 12: *Staphylococcus aureus*.

Baliga, M.S., Shivashankara, A.R., Haniadka, R., Dsouza, J. and Bhat, H.P. 2011. Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (jackfruit): A review. Food Research International. 44: 1800–1811.

Baptista, I., Rocha S.M., Cunha, Â., Saraiva, J.A. and Almeida, A. 2016. Inactivation of *Staphylococcus aureus* by high pressure processing: An overview. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 36: 128–149.

Barth, M., Hankinson, T.R., Zhuang, H. and Breidt, F. 2009. Microbiological Spoilage of Fruits and Vegetables. Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages, Food Microbiology and Food Safety. DOI 10.1007/978-1-4419-0826-1_6: 135-183.

Bennett, R.W., Yeterian, M., Smith, W., Coles, C.M., Sassaman, M. and McClure, F.D. 1986. *Staphylococcus aureus* identification characteristics and enterotoxigenicity. Journal of Food Science. 51: 1337-1339.

Bjornsdottir, K., Breidt, F. and McFeeters, R.F. 2006. Protective effects of organic acids on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in acidic environments. Applied and Environmental Microbiology. 72: 660-664.

Blackburn, C.W. and McClure, P.J. 2002. Foodborne pathogens: Hazards, Risk Analysis and Control. Boca Raton: NetLibrary Inc., CRC Press

Buchanan, R.L., Edelson-Mammel, S.G., Boyd, G. and Marmer, B.S. 2004. Influence of acidulant identity on the effects of pH and acid resistance on the radiation resistance of *Escherichia coli* O157:H7. Food Microbiology. 21: 51-57.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bunsiri, A., Samosornsuk, W., Jirapothithum, J. and Bunsiri, P. 2012. Efficacy of sanitizers and calcium chloride to extend the shelf life and reduce foodborne pathogen of fresh-cut jackfruits. Journal of Science and Technology. 1: 42-54.

Chang, J.M. and Fang, T.J. 2007. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7. Food Microbiology. 24: 745-751.

Chen, C., Hu, W., He, Y., Jiang, A. and Zhang, R. 2016. Effect of citric acid combined with UV-C on the quality of fresh-cut apples. Postharvest Biology and Technology. 111: 126-131.

Chu, C.L., Liu, W.T., Zhou, T. and Tsao, R. 1999. Control of postharvest gray mold rot of modified atmosphere packaged sweet cherries by fumigation with thymol and acetic acid. Canadian Journal of Plant Science. 79: 685-689.

Costa, A.O., Soccol, V.T., Paulino, R.C. and Castro, E.A. 2009. Effect of vinegar on the viability of *Giardia duodenalis* cysts. International Journal of Food Microbiology. 128: 510-512.

Davidson, P.M. and Harrison M.A. 2002. Resistance and Adaptation to Food Antimicrobials, Sanitizers, and Other Process Controls. Food Technology. 56: 69 – 78.

Davidson, P.M. and Juneja, V.K. 1990. Antimicrobial agents. In Branen, A.L., Davidson, P.M. and Salminen, S. Food additives. New York: Marcel Dekker. 83-137.

DeGeer, S.L, Wang, L., Hill, G.N., Singh, M., Bilgili, S.F. and Bratcher, C.L. 2016. Optimizing application parameters for lactic acid and sodium metasilicate against pathogens on fresh beef, pork and deli meats. Meat Science. 118: 28-33.

Fetsch, A., Contzen, M., Hartelt, K., Kleiser, A., Maassen, S., Rau, J., Kraushaar, B., Layer, F. and Strommenger, B. 2014. *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. International Journal of Food Microbiology. 187: 1–6.

Hennekinne, J.A., De Buyser, M.L. and Dragacci, S. 2012. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiology reviews. 36: 815-836.

Higgins, C. and Brinkhaus, F. 1999. Efficacy of several organic against molds. Apply Poultry Science. Res.8: 480-487.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ho, C.W., Lazim, A.M., Fazry, S., Zaki, U.K.H.H. and Lim, S.J. 2017. Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. Food Chemistry. 221: 1621–1630.

Hudzicki J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology.

Kim, S.A. and Rhee, M.S. 2015. Synergistic antimicrobial activity of caprylic acid in combination with citric acid against both *Escherichia coli* O157:H7 and indigenous microflora in carrot juice. Food Microbiology. 49: 166-172.

Kroning, I.S., Iglesias, M.A., Sehn, C., Gandra, T K.V., Mata, M.M. and Silva, W.P. 2016. *Staphylococcus aureus* isolated from handmade sweets: Biofilm formation, enterotoxigenicity and antimicrobial resistance. Food Microbiology. 58: 105-111.

Krusong, W., Dansai, P. and Itharat, A. 2012. Combination impact of turmeric extract and fermented vinegar on reduction of inoculated *Salmonella Typhimurium* on fresh lettuce. KMITL Science and Technology Journal. 12: 77-84.

Krusong, W., Pornpukdeewatana, S. and Teerarak, M. 2016. Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* on coriander leaves to liquid- and vapor-phase ethanol. FEMS Microbiology Letter. 363(9): fnw072.

Krusong, W., Teerarak, M. and Laosinwattana, C. 2015. Liquid and vapor phase vinegar reduces *Klebsiella pneumoniae* on fresh coriander. Food Control. 50: 502-508.

Laanen, P.V. and Scott, A. 2001. Safe handling of fresh fruits and vegetables. The Texas A&M University System. E-198: 5-04.

Lambert, R.J. and Stratford, M. 1999. Weak-acid preservatives: modelling microbial inhibition and response. Journal of Applied Microbiology.86(1): 157-164.

Melcon, C.R., Calleja, C.A. and Capita, R. 2017. Lactic acid concentrations that reduce microbial load yet minimally impact color and sensory characteristics of beef. Meat Science. 129: 169-175.

Meredith, H., McDowell, D. and Bolton, D.J. 2013. An evaluation of trisodium phosphate, citric acid and lactic acid cloacal washtreatments to reduce *Campylobacter*, total viable counts (TVC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

and total *enterobacteriaceae* counts (TEC) on broiler carcasses during processing. Food Control. 32: 149-152.

Olaimat, A.N., Al-Nabulsi, A.A., Osaili, T.M., Al-Holy, M., Ayyash, M.M., Mehyar, G.F., Jaradat, Z.W. and Ghoush, M.A. 2017. Survival and inhibition of *Staphylococcus aureus* in commercial and hydrated tahini using acetic and citric acids. Food Control. 77: 179-186.

Patil, S.Z. and Joshi P. 2008. Microbiological analysis of fresh vegetables & fruits and effect of anti-microbial agents on microbial load. Birla College of Arts, Science and Commerce.

Pornpukdeewattana, S., Kerdpiboon, S., Jindaprasert, A., Pandee, P., Teerarak, M. and Krusong, W. 2017. Upland rice vinegar vapor inhibits spore germination, hyphal growth and aflatoxin formation in *Aspergillus flavus* on maize grains. Food Control. 71: 88-93.

Pothimon, P. and Krusong, W. 2016. *In vitro* susceptibility of *Penicillium* spp. to vapor phase-ethanol and vinegar. In Proceeding the 18th Food Innovation Asia Conference on Food Research and Innovation for Sustainable Global Prosperity, pp 669-675. June 16-18, 2016, Bangkok, Thailand.

Ramos, B., Brandão, T.R.S., Teixeira, P. and Silva, C.L.M. 2014. Balsamic vinegar from Modena: An easy and effective approach to reduce *Listeria monocytogenes* from lettuce. Food Control. 42: 38-42.

Sapoo, N., Meksuwan, J. and Theparoonrat, S. 2013. Microbiological quality of fresh-cut fruits from street vendors sold in Bangkok. Bulletin of Applied Science. 2: 108-116.

Saxena, A., Bawa, A.S. and Raju, P.S. 2008. Use of modified atmosphere packaging to extend shelf-life of minimally processed jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) bulbs. Journal of Food Engineering. 87: 455-466.

Saxena, A., Bawa, A.S. and Raju, P.S. 2009a. Phytochemical changes in fresh-cut jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) bulbs during modified atmosphere storage. Food Chemistry. 115: 1443-1449.

Saxena, A., Bawa, A.S. and Raju, P.S. 2009b. Optimization of a multitarget preservation technique for jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) bulbs. Journal of Food Engineering. 91: 18-28.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Selvaratnam C.A.P. 2014. Identification and characterization of bacteria from the skin of jackfruit. Master of Science (Biotechnology). Faculty of Biosciences and Medical Engineering Universiti Teknologi Malaysia.

Sengun, I. and Karapinar, M. 2004. Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of *Salmonella typhimurium* on carrots (*Daucus carota* L.). International Journal of Food Microbiology. 96: 301– 305.

Sholberg, P., Haag, P., Hocking, R. and Bedford, K. 2000. The use of vinegar vapour to reduce postharvest decay of harvested fruit. HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science. 35: 898-903.

Tan ,S.L., Lee, H.Y. and Mahyudin, N.A. 2014. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from food handler's hands. Food Control. 44: 203-207.

Tirawat, D., Phongpaichit, S., Benjakul, S. and Sumpavapol, P. 2016. Microbial load reduction of sweet basil using acidic electrolyzed water and lactic acid in combination with mild heat. Food Control. 64: 29-36.

Tong, S.Y.C., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L. and Fowler, V.G. 2015. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clinical Microbiology Reviews. 28: 603-661.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

ก.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Baird Parker Base Medium (Difco, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

Tryptone	10	กรัม
Beef extract	5	กรัม
Yeast extract	1	กรัม
Sodium pyruvate	10	กรัม
Glycine	12	กรัม
Lithium chloride.$6H_2O$	5	กรัม
Agar	20	กรัม

ละลายอาหาร 63 กรัมในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ต้มให้ละลายเข้ากันดี ปรับพีเอชให้ได้ 7.0 $\pm$ 0.2 แบ่งใส่ฟลาสก์ หรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝา ขวดละ 190 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.1 สารละลาย 1% Potassium tellurite (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

Potassium tellurite	1	กรัม

ละลาย Potassium tellurite ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และกรองผ่านแผ่นกรองปลอดเชื้อลงในขวดปลอดเชื้อ เก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.2 การเตรียม Egg yolk tellurite enrichment

นำไข่ไก่มาล้างให้สะอาด และแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกไข่แดงด้วยเทคนิคปลอดเชื้อให้ได้ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 70 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตวงให้ได้ปริมาตร 95 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปลอดเชื้อ จากนั้นเติมสารละลาย 1% Potassium tellurite ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird Parker Medium

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird Parker Base medium ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (อุณหภูมิ 45 – 50 องศาเซลเซียส) ในขวดที่มีปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ 190 มิลลิลิตร เติมด้วย Egg yolk tellurite enrichment ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และเทใส่จานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ ตั้งไว้ให้วุ้นแข็งก่อนนำไปใช้งาน

2. Brain Heart Infusion Broth (BHI Broth) (Difco, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

Calf brain, infusion from 200 กรัม	7.7	กรัม
Beef heart, infusion from 250 กรัม	9.8	กรัม
Proteose peptone (Difco)	10	กรัม
NaCl	5	กรัม
Na_2HPO_4	2.5	กรัม
Dextrose	2	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายอาหาร 37 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้ละลายเข้ากันดี ปรับพีเอชให้ได้ 7.4 $\pm$ 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. Trypticase (Tryptic) Soy Agar (TSA) (Himedia, ประเทศอินเดีย)

Trypticase peptone	15	กรัม
Phytone peptone	5	กรัม
NaCl	5	กรัม
Agar	15	กรัม

ละลายอาหาร 40 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้ละลายเข้ากันดี ปรับพีเอชให้ได้ 7.3 $\pm$ 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และเทใส่จานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ ตั้งไว้ให้วุ้นแข็งก่อนนำไปใช้งาน หรือ อุ่นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสกรณีที่วิเคราะห์ด้วยการ pour plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Tryptic Soya Broth (TSB) (Himedia, ประเทศอินเดีย)

Casein enzymic hydrolysate	17	กรัม
Papaic digest of soyabean meal	3	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Dipotassium phosphate	2.5	กรัม
Dextrose	2.5	กรัม

ละลายอาหาร 30 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับพีเอชให้ได้ 7.3 $\pm$ 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.2 การเตรียมสารละลาย

1. Butterfield's Phosphate-Buffered

KH_2PO_4	34	กรัม
น้ำกลั่น	500	มิลลิลิตร

1.1 การเตรียมสารละลายสต๊อก

ผสมส่วนผสมตามอัตราส่วน จากนั้นปรับพีเอชให้ได้ 7.2 ด้วย 1N NaOH และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเก็บรักษาในตู้เย็น

1.2 การเตรียมสารละลายเพื่อทำ Dilution

ดูดสารละลายสต๊อก 1.25 มิลลิลิตร ด้วยวิธีปลอดเชื้อ ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ตวงใส่ขวดให้ได้ปริมาตร 225 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่าง 25 กรัม) และแบ่งใส่หลอดทดลองให้ได้ปริมาตร 9 มิลลิลิตร (สำหรับการเจือจางตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. 0.1% Peptone water (Himedia, ประเทศอินเดีย)

ชั่ง peptone 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Acetic Acid 10% (Merck, ประเทศเยอรมนี)

Acetic Acid 99.8 %

ละลาย Acetic acid ในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 10% โดยใช้สูตร C1V1 = C2V2 ใส่ในขวดดูแรนที่มีฝาปิดสนิท เพื่อนำไปใช้สำหรับการรมไอ

C1 V1 = C2 V2

99.8% x V1 = 10% x 500 มิลลิลิตร

V1 = 50.10 มิลลิลิตร

C1 = ความเข้มข้นตั้งต้น C2 = ความเข้มข้นสุดท้าย

V1 = ปริมาตรตั้งต้น V2 = ปริมาตรสุดท้าย

4. Lactic Acid 10% (Merck, ประเทศเยอรมนี)

Lactic Acid 85 %

ละลาย Lactic acid ในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 10% โดยใช้สูตร C1V1 = C2V2 ใส่ในขวดดูแรนที่มีฝาปิดสนิท เพื่อนำไปใช้สำหรับการรมไอ

C1 V1 = C2 V2

85% x V1 = 10% x 500 มิลลิลิตร

V1 = 58.82 มิลลิลิตร

5. Citric Acid 10% (Merck, ประเทศเยอรมนี)

ชั่ง Citric acid 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตรใส่ในขวดดูแรนที่มีฝาปิดสนิท เพื่อนำไปใช้สำหรับการรมไอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสาร

ข.1 การวิเคราะห์หาปริมาณกรด

วิเคราะห์หาปริมาณกรดโดยวิธีไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 N

$$\% \text{ กรด} = \frac{\text{ความเข้มข้น NaOH (N) x ปริมาตร NaOH ที่ใช้ไทเทรต x มวลโมเลกุล x 100}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง x 100}}$$

มวลโมเลกุลกรดอะซิติก = 60.05 กรัม/โมล

มวลโมเลกุลกรดแลกติก = 90.08 กรัม/โมล

มวลโมเลกุลกรดซิตริก = 192.12 กรัม/โมล

ข.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดที่เข้าไปในระบบการรมไอ

กรดอะซิติกมีมวลโมเลกุล 60.05 กรัม/โมล

กล่องรมไอมีปริมาตร 37.5 ลิตร

ปริมาณอะซิติกที่เข้าไปในระบบ A กรัม

ปริมาณกรดอะซิติกที่เข้าไปในระบบ ได้จากการชั่งน้ำหนักสารละลายที่หายไป (Weight loss) คำนวนดงสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณกรดอะซิติก (มิลลิโมล/ลิตร)} = \left[\frac{A}{60} \times \frac{1}{37.5} \right] \times 1000$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

แบบบันทึกผลการทดสอบการให้คะแนนความชอบของขนุนตัดแต่งพร้อมบริโภค

ชื่อผู้ทดสอบ .....

วันที่.....

<u>คำแนะนำ</u> ทดสอบตัวอย่างขนุนแล้วให้คะแนนความชอบแต่ละคุณลักษณะของตัดแต่งพร้อมบริโภค ตามคำอธิบายคะแนนต่อไปนี้และกรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่าง

1 = ไม่ชอบมาก
2 = ไม่ชอบ
3 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ
4 = ชอบ
5 = ชอบมาก

รหัสตัวอย่าง	คุณลักษณะของตัวอย่าง						การยอมรับ ตัวอย่าง
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม	
A							☐ ยอมรับ ☐ ไม่ยอมรับ เพราะ.....
B							☐ ยอมรับ ☐ ไม่ยอมรับ เพราะ.....

ขอขอบคุณที่สละเวลาทำแบบสอบถาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว อุไรวรรณ พจนี
วัน เดือน ปีเกิด	10 เมษายน 2528
ที่อยู่	123/38 หมู่ 3 ตำบลคลองสวนพลู อำเภอพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000
ประวัติการศึกษา	2550 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2563 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	2559 - ปัจจุบัน หัวหน้างานฝ่ายประกันคุณภาพ บริษัท อินกริดิออน (ประเทศไทย) จำกัด
ผลงานวิจัย	Podjanee, U. and Krusong, W. 2020. *in vitro* Inhibitory Impact of Vapor Phase – Acetic Acid, Lactic Acid and CitricAcid on *Staphylococcus aureus* Isolated from Fresh-Cut Jackfruit. Proceedings on The 22nd Food Innovation Asia Conference 2020 (FIAC 2020), Bangkok, 18-19 June 2020, pp. 341-348.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้