

ผลของไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้ง
การเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

**EFFECT OF VAPOR-PHASE VINEGAR AND PURE ACETIC ACID
ON GROWTH INHIBITION OF BACTERIAL CONTAMINATED
ON FRESH-CUT MANGO**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-FI-M-054-368

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EFFECT OF VAPOR-PHASE VINEGAR AND PURE ACETIC ACID
ON GROWTH INHIBITION OF BACTERIAL CONTAMINATED
ON FRESH-CUT MANGO**

The seal of King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang is a circular emblem. It features a central sunburst with rays emanating from a central point. Below the sunburst is a traditional Thai architectural structure, possibly a stupa or a temple tower, flanked by two smaller, similar structures. The entire emblem is surrounded by a decorative border containing Thai text. The name 'MINTITA NATHONG' is printed in the center of the seal.

MINTITA NATHONG

**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-054-368**

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

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของไอน้ำสั่มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค
นักศึกษา	นางสาวมินท์ธิดา นาทอง
รหัสประจำตัว	58608016
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	การจัดการความปลอดภัยอาหาร
พ.ศ.	2563
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ทรูส่ง

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคในท้องตลาด และศึกษาผลของไอน้ำสั่มสายชู และ ไอกรดอะซิติก ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค ผลการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคจำนวน 30 ตัวอย่าง ในเขตมินบุรีและลาดกระบัง พบว่า 76.7% ของตัวอย่าง มีลักษณะโคโลนีเหมือนกันและยืนยันสปีชีส์ด้วยวิธี Single Strand 16s rDNA sequencing พบว่า มีความใกล้เคียงกับ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ระดับความคล้ายคลึง (similarity) เท่ากับ 99.7% ทำการศึกษาผลของการรมไอน้ำสั่มสายชูที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ไอกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ความเข้มข้นเชื้อ 2 ระดับ คือ ระดับต่ำ (3 log CFU/ml) และระดับสูง (6 log CFU/ml) โดยการศึกษาในสภาวะไฮโดรอสแตติก (pump) ในการพาไอเข้ากล่องรมไอน้ำขนาด 0.25x0.30x0.25 ลบ.ม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนอิ่มตัว วางจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* บนตะแกรง สเตนเลสที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วภายในกล่อง ทำการรมไอน้ำตามเวลาที่กำหนด จากการศึกษาพบว่า ในความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ การรมไอของน้ำสั่มสายชู ที่เวลา 35 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.87 มิลลิโมล/ลิตร) และไอกรดอะซิติก ที่เวลา 35 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.80 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ ในความเข้มข้นเชื้อระดับสูง การรมไอของน้ำสั่มสายชู ที่เวลา 40 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.99 มิลลิโมล/ลิตร) เช่นเดียวกับการรมไอกรดอะซิติก ที่เวลา 40 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.91 มิลลิโมล/ลิตร)

สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์เช่นกัน จากนั้นปลูกถ่ายเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ลงในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) และนำไปผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อรมไอน้ำเป็นเวลา 35 นาที และในความเข้มข้นเชื้อระดับสูง (6 log CFU/plate) พบว่า รมไอน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 50 นาที ทำให้เชื้อเหลือรอด 1.89 log CFU/ml และเมื่อรมไอกรดอะซิติกเป็นเวลา 50 นาที ทำให้เชื้อเหลือรอด 1.97 log CFU/ml จะเห็นได้ว่า การรมไอน้ำเป็นเวลา 50 นาที ไอน้ำส้มสายชูสามารถยับยั้งเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้มากกว่าไอกรดอะซิติกเล็กน้อย และศึกษาลักษณะทางกายภาพของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกลภายหลังจากการรมไอน้ำและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-6 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0 3 และ 5 วัน ตามลำดับ ทดสอบการเปลี่ยนแปลงของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบ ระดับความชอบ วิธี 5 points hedonic scale พบว่า มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกลที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชู 35 นาที และรมไอกรดอะซิติก 35 นาที มีกลิ่น และรสชาติแตกต่างจากชุดควบคุม(ไม่ผ่านรมไอน้ำ) เล็กน้อย คะแนนความชอบโดยรวมของตัวอย่างมะม่วงที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูเมื่อเก็บเป็นเวลา 3 และ 5 วัน คะแนนมากกว่าตัวอย่างมะม่วงที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก

II

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Effect of vapor-phase vinegar and pure acetic acid on growth inhibition of bacteria contaminated on fresh-cut mango.
Student	Miss Mintita Nathong
Student ID.	58608016
Degree	Master of Science
Program	Food Safety Management
Year	2020
Thesis Advisor	Professor Dr. Warawut Krusong

ABSTRACT

The purposes of this study were to survey of coliform contamination on fresh-cut mango and to investigate the effect of vapor-phase (V) upland rice vinegar (URV) and pure acetic acid (PAA) on growth inhibition of coliform contaminant on fresh-cut mango. Thirty samples were taken from local markets-Ladkrabang and Minburi areas of Bangkok, Thailand for examination. The predominant contaminant in 76.7% of samples tested with the same colony characteristic on the MacConkey agar plates were found. By 16S rDNA sequence determination, it was clearly identified as *Klebsiella quasipneumoniae* at 99.7% similarity. Treatment of V-URV and V-PAA on inhibition of *Kb. quasipneumoniae* were further investigated. After plating with 3 log CFU/ml (low level) and 6 log CFU/ml (high level) of *Kb. quasipneumoniae* on Trypticase Soy Agar, they were exposed on V-URV or V-PAA in vapor exposure box (0.25x0.35x0.25 m) at room temperature (30±1 °C). Results showed that vaporization period affected directly on growth of *Kb. Quasipneumoniae*. Completeness of growth inhibition of the low level-after exposing with V-URV for 35 min (0.87 mmolL⁻¹ AA) as well as with V-PAA for 35 min (0.80 mmolL⁻¹ AA) were found. Meanwhile complete growth inhibition of the high level after exposing with V-URV for 40 min (0.99 mmol L⁻¹ AA) as well as with V-PAA for 40 min (0.91mmolL⁻¹ AA) were obtained. The effect of vaporizing process with both substances was further treated on inoculated *Kb. quasipneumoniae* on fresh-cut mango. Two levels of *Kb. quasipneumoniae* consisting of 3 log CFU/ml and high at 6 log CFU/ml were taken. Additionally, the vaporized fresh-cut mango samples without inoculation of *Kb. quasipneumoniae* were stored at 5 °C for 5 days and

conducted the sensorial test by scoring during 0, 3 and 5 days. Results showed that V-URV and V-PAA slightly affected on the odor and taste of fresh-cut mango.



IV

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยการให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือ จาก ศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ครุสงฆ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำปรึกษาเสนอแนะแนวทางการวิจัย การแก้ไขปัญหา ตลอดจนตรวจสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาวินี ดีแท้ และรองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ต้นตระเชียร ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการในสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ และสอบวิทยานิพนธ์ซึ่งได้ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษา และให้กำลังใจ มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่อำนวยความสะดวก ในการทำวิทยานิพนธ์ให้ผู้วิจัยตลอดมา รวมถึงนางสาวรัตติพร โพธิมล นักศึกษาปริญญาเอก สาขา วิทยาศาสตร์การอาหาร ที่ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติงาน และให้คำแนะนำต่างๆ ตลอดการทำวิทยานิพนธ์ของผู้เขียนในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้าที่เป็นกำลังใจทำให้ข้าพเจ้าทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จ คุณค่าและประโยชน์ที่ได้จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

มินท์ธิดา นาทอง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา.....	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 มะม่วง.....	4
2.2 ผลไม้สดพร้อมบริโภครวม.....	4
2.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้นพร้อมบริโภครวม.....	4
2.4 การควบคุมคุณภาพของผลไม้สดพร้อมบริโภครวม.....	6
2.5 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์.....	7
2.6 เชื้อแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม.....	7
2.7 เชื้อ <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
2.8 เชื้อ <i>Klebsiella quasipneumoniae</i>	9
2.9 การปนเปื้อนในผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภครวม.....	10
2.10 น้ำส้มสายชูหมัก.....	10
2.11 การรมไอ.....	11
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย.....	14
3.1 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	14
3.2 อุปกรณ์การทดลอง.....	14
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	15

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.4 สารเคมี.....	15
3.5 จุลินทรีย์.....	15
3.6 วิธีการทดลอง.....	15
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์.....	20
4.1 ผลการตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค.....	20
4.2 ผลการเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลั่นมะม่วง เพื่อใช้ในการรมไอบนมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค.....	23
4.3 ผลการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ <i>Klebsiella quasipneumoniae</i> เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ระดับ ห้องปฏิบัติการ.....	25
4.4 ผลการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Klebsiella quasipneumoniae</i> ที่ปลูกถ่ายบนผิวมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค.....	29
4.5 ผลศึกษาการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกแก่มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ.....	33
บทที่ 5 สรุปผลทดลองและข้อเสนอแนะ.....	36
เอกสารอ้างอิง.....	38
ภาคผนวก.....	43
ภาคผนวก ก.....	43
ภาคผนวก ข.....	47
ภาคผนวก ค.....	48
ภาคผนวก ง.....	50
ภาคผนวก จ.....	52
ประวัติผู้เขียน.....	53

VII

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2544.....	9
4.1 ผลการสำรวจปริมาณการปนเปื้อนแบคทีเรียทั้งหมด.....	20
4.2 ผลการสำรวจปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม โคลิฟอร์มและฟิโคลด โคลิฟอร์ม ในมะม่วงตัดแต่ง พร้อมบริโภครวม21	21
4.3 คะแนนการทดสอบความชอบด้านกลิ่นของสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลาย กรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง (ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8 เปอร์เซ็นต์) และปริมาณมะม่วง ตัดแต่งพร้อมบริโภครวม 20 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร).....	24
4.4 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของกรดอะซิติกและค่า pH ของสารละลายน้ำส้มสายชู และสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน.....	25
4.5 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชู (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการเจริญของเชื้อ <i>Klebsiella quasipneumoniae</i> ที่ความเข้มข้นเชื้อ 2 ระดับ (ระดับต่ำ และระดับสูง) เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$	26
4.6 ผลของการรมไอน้ำกรดอะซิติก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการเจริญของเชื้อ <i>Klebsiella quasipneumoniae</i> ที่ความเข้มข้นเชื้อ 2 ระดับ (ระดับต่ำ และระดับสูง) เลี้ยงบน อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$	28
4.7 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูและไอน้ำกรดอะซิติก ต่อการเจริญของเชื้อ <i>Klebsiella</i> <i>quasipneumoniae</i> ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ ($3 \log \text{CFU/plate}$) ปลูกถ่ายบนผิวมะม่วงตัด แต่งพร้อมบริโภครวม29	29
4.8 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูและไอน้ำกรดอะซิติก ต่อการเจริญของเชื้อ <i>Klebsiella</i> <i>quasipneumoniae</i> ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับสูง ($6 \log \text{CFU/plate}$) ปลูกถ่ายบนผิวมะม่วงตัด แต่งพร้อมบริโภครวม31	31

VIII

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4.9 ผลของการรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก ต่อการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) ปลูกถ่ายบนผิวมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล เมื่อรวมไอน้ำเป็นระยะเวลา 35 นาที และเก็บเป็นระยะเวลา 0 3 และ 5 วัน.....32
- 4.10 ผลของการรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกแก่มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล ต่อการยอมรับของผู้บริโกล (จำนวนผู้ทดสอบ 30 คน) เมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบ ระดับความชอบ วิธี 5 points hedonic scale.....34



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของกรดอะซิติก.....	10
3.1 กล่องรมไอขนาด 0.25x0.30x0.25 ลบ.ม.....	18



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของไทย และมีการปลูกในทุกภาคของประเทศ ผลมะม่วงที่เก็บเกี่ยวมาแล้วสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทั้งบริโภคภายในประเทศ และส่งไปจำหน่ายต่างประเทศสมณฑาทิพย์ ย่านฉลาด, 2545) โดยสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร รายงานว่าในปี 2562 มีปริมาณการส่งออก 85,122 ตัน มูลค่า 4,065 ล้านบาท โดยการส่งออกมะม่วงสดอบไอน้ำไปญี่ปุ่นและเกาหลีใต้ เป็นตลาดหลักสำคัญ

มะม่วงเป็นผลไม้ที่มีอัตราการหายใจสูง ทำให้ระยะเวลาในการเก็บรักษาสั้น จึงมักนำเสียบก่อนนำไปวางจำหน่ายได้ง่าย (กรมวิชาการเกษตร, 2550) นอกจากนี้เนื้อผลมะม่วงสุก ยังทำให้เกิดปัญหาการสูญเสียระหว่างขนส่ง สาเหตุเนื่องจากความสุกทำให้เนื้อมะม่วงนิ่ม ทำให้ชำได้ง่ายจึงทำให้อายุในการวางจำหน่ายสั้นลง

ผลไม้สดตัดแต่งพร้อมบริโภค เป็นตลาดที่สำคัญของผู้บริโภคภายในประเทศและการส่งออก การส่งออกไปยังต่างประเทศของผลไม้ไทยได้แก่ มะม่วง ลิ้นจี่ และลำไย แต่ปัญหาที่พบในการแปรรูปผลไม้สดตัดแต่งพร้อมบริโภค คือ คุณภาพทางด้านจุลชีววิทยา และอายุการเก็บรักษาที่สั้น การศึกษาหาวิธีการที่เหมาะสมในการแปรรูปผลไม้สดตัดแต่งพร้อมบริโภค จึงมีความสำคัญต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษา ซึ่งจะช่วยให้สามารถส่งออกไปยังต่างประเทศได้

งานวิจัยของ Mahfuza และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาสุ่มตรวจตัวอย่างผลไม้ สลัดผัก และน้ำผลไม้ จากร้านค้าตามท้องถนน เมืองธากา ประเทศบังกลาเทศ พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 5 ชนิด ประกอบด้วย *Escherichia coli* 36% *Bacillus* 25% *Staphylococcus* 24% *Klebsiella* 9% และ *Proteus* 6% และงานวิจัยของ Chukwu และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาสุ่มตรวจตัวอย่างผลไม้สดตัดแต่ง บนชั้นวางจำหน่าย ในไนจีเรีย พบเชื้อจุลินทรีย์ ประกอบด้วย *E. coli* (46%) *Staph. aureus* (19.3%) *Salmonella* spp. (8.7%) *Proteus* spp. (12%) *Enterobacter aerogenes* (2%) *Kb. pneumoniae* (1.3%) และ *Pseudomonas aeruginosa* (1.3%) และได้มีรายงานการวิจัยพบว่า กรดอะซิติกและน้ำส้มสายชูในรูปแบบของเหลวและรูปไอสามารถลดหรือกำจัดจุลินทรีย์ ในผักผลไม้สด เช่น แอปเปิ้ล มะเขือเทศ และสตอเบอรี่ (Krusong และคณะ, 2015) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดประยุกต์ใช้ไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกในยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

1.2.2 เพื่อศึกษาผลการใช้น้ำส้มสายชูและไฮดรอกซีติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

1.2.3 เพื่อยืดอายุการเก็บรักษามะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูและไฮดรอกซีติก

1.3 ขอบเขตการศึกษา

งานวิจัยนี้เริ่มจากการตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคในท้องตลาด ช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2560 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561 จำนวน 30 ตัวอย่าง ในเขตมีนบุรีและลาดกระบัง โดยแยกเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ได้นำมาใช้ในทดลองงานวิจัย จากนั้นทำการศึกษาผลของการรมไอน้ำส้มสายชูที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ไฮดรอกซีติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ระยะเวลา 0 10 20 30 35 40 50 และ 60 นาที โดยการศึกษาในสถานะไอ อาศัยปั๊ม (pump) ในการพาไอเข้ากล่องรมไอน้ำขนาด 0.25x0.30x0.25 ลบ.ม ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส จนอิ่มตัว วางจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* บนตะแกรงสเตนเลสที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วภายในกล่อง ปล่อยให้ไอน้ำระเหยตามเวลาที่กำหนด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง รวมถึงศึกษาผลของการรมไอน้ำส้มสายชู ไฮดรอกซีติก ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ที่ปนเปื้อนบนมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค ที่ระยะเวลา 35 นาที จากนั้นศึกษาผลของโครงสร้างของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคต่อการเกาะติดของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ที่จำลองการปนเปื้อนบนตัวอย่างมะม่วง และศึกษาลักษณะทางกายภาพของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคภายหลังผ่านการรมไอและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 3 และ 5 วัน ตามลำดับ

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทราบถึงประสิทธิภาพและความเหมาะสมของไอน้ำส้มสายชู ไอกรดอะซิติก ต่อการยับยั้งเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae*
- 1.4.2 ทราบถึงระยะเวลาในการที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* บนมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคร
- 1.4.3 สามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไปประยุกต์ใช้ในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ในธุรกิจการผลิตมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะม่วง

มะม่วง ชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Mangifera indica* Linn. เป็นผลไม้เขตร้อนมีการปลูกทั่วไปแถบประเทศในเขตร้อน เช่น อินเดีย มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย จีน บังกลาเทศ ปากีสถาน เม็กซิโก สหรัฐอเมริกา และบราซิล (Mukherjee, 1997) มะม่วงเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรต เส้นใยอาหาร วิตามินซี วิตามินอี เบตา-แคโรทีน และแร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียมและโพแทสเซียม (USDA, 2008) เนื้อมะม่วงสุกมีสีเหลือง รสหวาน และกลิ่นหอม นิยมนำมาบริโภคขณะผลสุก พันธุ์มะม่วงที่บริโภคผลสุกและปลูกในประเทศไทย ได้แก่ อกร่อง พิมเสน หนังกกลางวัน ลิ่นงูเห่า โชคอนันต์ มหานคร และน้ำดอกไม้ นิยมเก็บเกี่ยวเมื่อผลแก่เต็มที่ แล้วบ่มให้สุก (ภูวนาท นนทรีย์, 2540)

จากข้อมูลสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ปีพ.ศ.2561 ระบุว่า การส่งออกมะม่วงของไทยปี พ.ศ. 2561 โดยผลิตภัณฑ์มะม่วงรูปแบบที่ส่งออกมากที่สุด คือ มะม่วงสดหรือแช่เย็นจนแข็ง ปริมาณ 60 ล้านกิโลกรัม รองลงมาเป็นมะม่วงบรรจุภาชนะที่อากาศผ่านเข้าไปไม่ได้ ปริมาณ 21 ล้านกิโลกรัม และมะม่วงอบแห้ง ปริมาณ 3 ล้านกิโลกรัม

2.2 ผลไม้สดพร้อมบริโภค

ผลไม้สดพร้อมบริโภค (fresh-cut หรือ minimally processed fruit) คือ ผลไม้สดที่นำมาล้าง คัดเลือก ปอกเปลือก ผ่าซีกเอาแกนหรือเมล็ดออก ตัดแต่ง หั่นชิ้น และบรรจุในบรรจุภัณฑ์แล้ววางจำหน่ายที่อุณหภูมิต่ำ (Wiley, 1993) ในปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสำคัญและสนใจด้านคุณค่าทางโภชนาการของอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะผักและผลไม้สดส่งผลให้การบริโภคผักและผลไม้สดได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้น และผู้บริโภคยังต้องการความสะดวกสบายในการบริโภค จึงทำให้การผลิตผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายและมีปริมาณการผลิตจำหน่ายเพิ่มขึ้นทั้งในตลาดสดและซูเปอร์มาร์เก็ต (Rattanapanone และคณะ, 2001)

2.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้นพร้อมบริโภค

ภายหลังการปอกเปลือกและหั่นชิ้น จะทำให้เนื้อมะม่วงสุกมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี ชีวเคมี สรีรวิทยา และการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน โดยขั้นตอนการหั่นชิ้นจะเป็นการทำให้เซลล์ของเนื้อมะม่วงสุกถูกทำลายและมีสารต่างๆ รั่วไหลออกมา รวมทั้งสารประกอบฟีนอลเมื่อ

สัมพันธ์กับออกซิเจนในอากาศจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้น โดยมีเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้การหั่นชิ้นยังเร่งการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่ไม่พึงประสงค์ได้แก่ มีอัตราการหายใจสูงขึ้น มีอัตราการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้น เอทิลีนที่ถูกผลิตขึ้นจะสะสมอยู่ในบรรจุภัณฑ์ และทำให้เกิดผลกระทบอื่นๆตามมาด้วย เช่น ทำให้เกิดการอ่อนตัวของเนื้อผลไม้หั่นชิ้นเร็วขึ้น (Laurila and Ahvenainen, 2002)

2.3.1 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้น ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสี ลักษณะเนื้อสัมผัส และการสูญเสียน้ำหนัก เนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้นในระหว่างการเก็บรักษาจะมีสีคล้ำลงเนื่องจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ โดยสามารถวัดได้จากค่า L^* ที่มีค่าต่ำลงหรือเนื้อมะม่วงมีสีคล้ำลง ส่วนสีเหลืองที่ซีดลงเป็นผลมาจากสารสีเหลืองหรือแคโรทีนอยด์ในเนื้อมะม่วงเกิด isomerization ทำให้มี *cis-isomer* มากขึ้น หรือถูกเปลี่ยนรูปด้วยเอนไซม์ต่างๆ หรือถูกออกซิไดส์ด้วยออกซิเจนที่ปนระกู่ ทำให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลง ส่งผลให้มีสีเหลืองซีดจางลง (จรรยาพร สมแก้ว และคณะ, 2550, 2551)

2.3.2 การเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบทางเคมี

ในระหว่างการเก็บรักษาเนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้น จะมีการเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบทางเคมีต่างๆ ได้แก่ ค่าความเป็นกรดค่า (pH) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (titratable acidity; TA) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solids, TSS) อัตราส่วน TSS/TA การสูญเสียวิตามินซี สารสี สารต้านออกซิเดชัน และสารอาหารต่างๆ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับการเสื่อมเสีย และสามารถนำมาใช้ประเมินอายุการเก็บรักษาได้ (จรรยาพร สมแก้ว และคณะ, 2550, 2551)

2.3.3 การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของมะม่วง

การวัดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) เป็นวิธีการที่ใช้ประเมินว่าวิธีการผลิตผลไม้หั่นชิ้น ทำให้เซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้เสียหายมากน้อยเพียงใด โดยรูปแบบการหั่นชิ้น มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ และอัตราการหายใจของเนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้น พันธุ์น้ำดอกไม้ โชคอนันต์ และมหาชนก โดยพบว่ารูปแบบการหั่นชิ้นครึ่งผล มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ต่ำที่สุด รองลงมาคือ การหั่นตามขวางสองชิ้นต่อครึ่งผล ส่วนการหั่นตามยาวสองชิ้นต่อครึ่งผล การหั่นตามขวางสี่ชิ้นต่อครึ่งผล มีค่าใกล้เคียงกัน และการหั่นตามยาวและขวางแปดชิ้นต่อครึ่งผล มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้นทั้ง 3 พันธุ์ นอกจากนี้เนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้นทุกรูปแบบ มีอัตราการหายใจสูงกว่าเนื้อมะม่วงหั่นชิ้นครึ่งผล ดังนั้นขนาดของบาดแผลหรือรอยตัดจากการหั่นชิ้นที่มีขนาดใหญ่จะส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์และอัตราการหายใจสูงขึ้น (จรรยาพร สมแก้ว และคณะ, 2550, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์

การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษา เป็นปัจจัยสำคัญที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้และตัดสินว่าควรมีอายุการเก็บรักษาได้นานเท่าไร โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2560) ได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์สำหรับอาหารดิบที่เตรียมหรือปรุงในสภาพบริโภคนได้ทันที จะต้องมีจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่เกิน 1×10^6 โคลิฟอร์มต่อกรัม ยีสต์ไม่เกิน 1×10^4 โคลิฟอร์มต่อกรัม และราไม่เกิน 500 โคลิฟอร์มต่อกรัม จำนวนจุลินทรีย์ที่สูงเกินกว่ามาตรฐานกำหนดจะตัดสินว่าสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา ถึงแม้จะมีลักษณะปรากฏภายนอกยังดีอยู่ก็ตาม

2.4 การควบคุมคุณภาพของผลไม้สดพร้อมบริโภค

2.4.1 วัตถุดิบ

การผลิตผักและผลไม้สดพร้อมบริโภค ควรใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพดี มีระยะการแก่และสุกที่เหมาะสมควรคัดเลือกวัตถุดิบโดยอาจใช้เกณฑ์ต่างๆ ได้แก่ ขนาด รูปร่าง สี รอยชำ และโรค การคัดเลือกวัตถุดิบเป็นขั้นตอนที่สำคัญก่อนกระบวนการผลิต ซึ่งหากไม่คัดแยกวัตถุดิบที่ไม่มีคุณภาพออกไป อาจทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดความเสียหายได้ เนื่องจากคุณภาพของวัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคจะมีผลต่ออายุการเก็บรักษามากกว่าการใช้สารที่ช่วยปรับปรุงคุณภาพ (Yildiz, 1994)

2.4.2 กระบวนการผลิต

สิ่งสำคัญในกระบวนการผลิตผักและผลไม้สดพร้อมบริโภค คือการรักษาความสะอาด เช่น อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต ขั้นตอนการผลิต บรรจุภัณฑ์ รวมทั้งสภาพแวดล้อมระหว่างกระบวนการผลิต การลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นของผักและผลไม้ทำได้โดยการล้างทำความสะอาด เพราะไม่เพียงเป็นการกำจัดเศษหิน ดิน ทรายที่ติดมากับผลิตภัณฑ์เท่านั้น แต่อาจทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาหลุดออกไปได้ การทำความสะอาดอาจทำได้โดยการแช่ผักและผลไม้ในน้ำแล้วใช้มือถูทำความสะอาด หรือใช้เครื่องฉีดน้ำไปยังผักและผลไม้ หรือใช้เครื่องกวาดให้น้ำเคลื่อนที่เพื่อพัดเอาฝุ่นผงดินให้หลุดออกไป หรือใช้เครื่องฟ่นฝอยน้ำไปยังผักและผลไม้ที่เคลื่อนที่ไปตามสายพานก็ได้ การใช้หลายๆวิธีร่วมกันจะทำให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น แต่หากน้ำที่ใช้ล้างไม่สะอาดจะเป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ให้กับผักและผลไม้ได้ การใช้สารฆ่าเชื้อ เช่น สารละลายคลอรีน สารละลายไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์ หรือสารละลายกรดชนิดต่างๆ สามารถช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ดี (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541)

2.4.3 การขนส่งและการจำหน่าย

ผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคจะเสื่อมเสียอย่างรวดเร็วระหว่างการขนส่ง จึงต้องรักษาความสะอาดระหว่างการผลิต การขนส่ง การควบคุมสถานะในการขนส่งให้มีอุณหภูมิต่ำ และมีความชื้นสัมพัทธ์สูงเพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ในระหว่างการวางจำหน่าย ต้องมีการรักษาความสะอาดและควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมด้วยเช่นกัน (Yildiz, 1994)

2.5 การปนเปื้อนของจุลินทรีย์

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคและยังใช้เป็นตัวกำหนดอายุการเก็บรักษาได้ด้วย จำนวนจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับอายุการเก็บรักษา โดยผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคที่มีจำนวนจุลินทรีย์น้อยจะมีอายุการเก็บรักษาได้นานกว่าผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคที่มีจำนวนจุลินทรีย์มาก (Narciso and Plotto, 2005) อายุการเก็บรักษาของผักและผลไม้สดพร้อมบริโภคนอกจากจะขึ้นกับจำนวนจุลินทรีย์แล้ว ยังขึ้นกับระยะความแก่และสุกของผลไม้ กระบวนการผลิต อุณหภูมิในการเก็บรักษา ความแน่นเนื้อ และพันธุ์ของผลไม้อีกด้วย การเข้าทำลายของเชื้อโรคต่างๆ เป็นปัจจัยหนึ่งที่ซึ่งถึงคุณภาพ และการจัดการในกระบวนการผลิตผลไม้สดพร้อมบริโภคที่เหมาะสม

2.6 เชื้อแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม

ปริมาณแบคทีเรีย สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ความสะอาดและการปนเปื้อนของของเสียจากมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Total coliform bacteria, TCB) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มักพบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ สัตว์ และสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ นอกจากนั้นยังพบได้ในดินและพืช

แบคทีเรียโคลิฟอร์ม ประกอบด้วย แบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ ฟีคัล โคลิฟอร์ม (Fecal coliform bacteria, FCB) และ นอน-ฟีคัล โคลิฟอร์ม (Non-fecal coliform bacteria) ฟีคัล โคลิฟอร์ม เป็นโคลิฟอร์มที่พบได้เฉพาะในระบบทางเดินอาหารและสิ่งขับถ่าย อุจจาระของสัตว์เลือดอุ่น ได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Escherichia* นอน-ฟีคัล โคลิฟอร์ม เป็นโคลิฟอร์มที่พบในดิน และพืช ได้แก่ แบคทีเรียสกุล *Enterobacter* และ *Citrobacter* (เทพวิฑูรย์ ทองศรี และคณะ, 2557)

2.7 เชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

เชื้อ *Klebsiella* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อน (Gram negative rod) อยู่ในกลุ่มเอ็นเทอโรแบคทีเรีย (Family Enterobacteriaceae) มีความสามารถในการสร้างแคปซูล ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดความต้านทานต่ออิทธิพลของปัจจัยแวดล้อม แอนติเจนของ *Klebsiella* จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างแอนติเจน

สถิติการระบาดของวิทยาของโลกในปัจจุบัน มีอัตราการเกิดโรคติดเชื้อค่อนข้างสูง โดยมีสาเหตุจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค รวมถึง *Klebsiella* ในระดับความเข้มข้นของอาการทางคลินิก และการทำงานของภูมิคุ้มกัน

Klebsiella ในเด็กแรกเกิดจะมีภาวะติดเชื้ออย่างรวดเร็ว ในผู้ใหญ่ชนิดของเชื้อโรคนี้สามารถกระตุ้นความผิดปกติทางสุขภาพในระยะสั้นที่ไม่รุนแรง เชื้อที่พบมากที่สุด คือ *Kb. pneumoniae* และ *Kb. oxytoa* ซึ่งส่วนใหญ่มีเชื้อ tropism ไปยังเนื้อเยื่อของปอดและลำไส้ และ *Klebsiella* มีความสามารถในการดำรงชีวิตในดินและแหล่งน้ำ ตลอดจนผลิตภัณฑ์อาหารเป็นเวลานาน ที่รุนแรงมากคือ *Klebsiella* ในเด็กที่มีการแพร่กระจายเชื้อโรคในโรงพยาบาล

สาเหตุการติดเชื้อ *Klebsiella* มาจากการติดเชื้อโดยตรงของลำไส้ของคนที่ยืนแอ่ที่เกิดจากการไม่ปฏิบัติตามมาตรฐานด้านสุขอนามัยส่วนบุคคล ที่พบบ่อยที่สุด คือ การติดเชื้อที่ทางเดินอาหาร

ไม่กี่ปีที่ผ่านมา เชื้อ *Klebsiella* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สำคัญ ที่มีการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Nosocomial Infection) โดยทางระบาดวิทยา มีรายงานว่า ประเทศสหรัฐอเมริกา มีการพบการติดเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาล 3-7% เป็นเชื้อจุลินทรีย์จุลินทรีย์ 8 ชนิด โดยอันดับแรกมีสาเหตุจากเชื้อ *Klebsiella* 14% ของจำนวนเคสจากเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด รองลงมาคือเพียง เชื้อ *E. coli* ที่เป็นสาเหตุจากการติดเชื้อจากเชื้อแกรมลบ ซึ่งมีผลต่อทุกส่วนของร่างกาย แต่ไม่มีผลต่อการติดเชื้อที่ทางเดินหายใจ และการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ

สมหวัง ด่านชัยวิจิตร และคณะ (2544) ได้รายงานสถานการณ์โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ในปี พ.ศ. 2544 โดยได้ทำการศึกษาจากโรงพยาบาลจำนวน 20 แห่ง พบว่า การติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบมากที่สุดคือ การติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง 36.1% การติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ 25.5% และการติดเชื้อแผลผ่าตัด 11.0% โดยในการศึกษา พบว่า เชื้อที่เป็น

สาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบบ่อย คือ *Ps. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Acinetobacter baumannii*, Methicillin resistant *Staph. aureus* (MRSA) และ *Enterococci* (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2544

เชื้อแบคทีเรียก่อโรค	อุบัติการณ์ (ร้อยละ)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22-31
<i>Escherichia coli</i>	11-18
<i>Proteus</i> spp.	6-13
<i>Enterobacter</i> spp.	6-9
<i>Staphylococcus aureus</i>	5-17
<i>Klebsiella</i> spp.	5-14
<i>Enterococci</i>	2-8

2.8 เชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae*

เชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* เป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่ถูกรับพบ มีความชุกเฉพาะกลุ่ม และมียีนส์คือต่อยาด้านปฏิชีวนะซึ่งยังไม่มีการอธิบายอย่างครบถ้วน ถึงแม้ว่าจะมีรายงานเกี่ยวกับ *Kb. quasipneumoniae*. ก่อนข้างน้อยจนถึงปัจจุบัน มีแนวโน้มที่จะถูกประเมินต่ำเกินไปเนื่องจากโดยทั่วไปไม่แตกต่างจากเชื้อ *Kb. pneumoniae* ในการทดสอบห้องปฏิบัติการทางคลินิกตามปกติ

มีรายงานของ Long และคณะ (2017) กล่าวว่า *K. varicola* และ *Kb. quasipneumoniae* เป็นสิ่งมีชีวิตที่เกี่ยวข้องกันอย่างใกล้ชิดซึ่งโดยทั่วไปถือว่าเป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสที่มีความรุนแรงน้อย ใช้การรวบรวมสายพันธุ์ตามจำนวนประชากรที่มีขนาดใหญ่ครอบคลุมและลำดับจีโนมทั้งหมดเพื่อตรวจสอบการติดเชื้อที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ในระบบโรงพยาบาลพบว่าเชื้อ *K. varicola* และ *Kb quasipneumoniae*. มักถูกระบุผิดพลาดว่าเป็น *Kb. pneumoniae* โดยการวินิจฉัยทางจุลชีววิทยาทางคลินิกตามปกติ และมักทำให้เกิดการติดเชื้อที่คุกคามชีวิตอย่างรุนแรงคล้ายกับ *Kb. pneumoniae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีรายงานของศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งสหรัฐอเมริกา (Centers for Disease Control and Prevention – CDC) พบกรณีของฝีในตับ pyogenic ที่เกิดจากเชื้อ *Kb. quasipneumoniae*. ส่วนใหญ่ในแถบเอเชียโดยเฉพาะในไต้หวัน

2.9 การปนเปื้อนในผลไม้ตัดแต่งพร้อมบริโภค

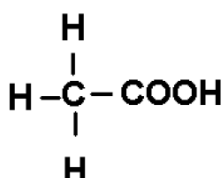
Mahfuza และคณะ (2016) ได้ทำการสุ่มตรวจตัวอย่างผลไม้ สลัดผัก และน้ำผลไม้ จากร้านค้าตามท้องถนน เมืองธากา ประเทศบังกลาเทศ พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 5 ชนิด ประกอบด้วย *E. coli* 36%, *Bacillus* 25%, *Staphylococcus* 24%, *Klebsiella* 9%, และ *Proteus* 6%

Chukwu และคณะ (2010) ได้ทำการสุ่มตรวจตัวอย่างผลไม้ตัดแต่งบนชั้นวางจำหน่ายในประเทศไนจีเรีย พบเชื้อจุลินทรีย์ ประกอบด้วย *E. coli* 46%, *Staph. aureus* 19.3%, *Salmonella* spp. 8.7%, *Proteus* spp. 12%, *En. aerogenes* 2%, *Kb. pneumoniae* 1.3% และ *Ps. aeruginosa* 1.3%

2.10 น้ำส้มสายชูหมัก

น้ำส้มสายชูหมัก (fermented vinegar) เป็นของเหลวใสซึ่งอาจจะไม่มีสีหรือมีสีของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก น้ำส้มสายชูหมักโดยธรรมชาติยังมีกรดชนิดอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย เช่น tartaric acid และ citric acid ซึ่งมีความเป็นกรดเป็นค่าอยู่ระหว่าง 2-3.5 คำว่า vinegar มาจากคำว่า vinaigre เป็นภาษาฝรั่งเศส แปลว่าไวน์เปรี้ยว เพราะน้ำส้มสายชูในสมัยเริ่มต้น ได้มาจากการหมักเอทิลแอลกอฮอล์ในไวน์ด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobacter* และ *Gluconobacter* ให้ได้กรดน้ำส้ม (acetic acid) ซึ่งมีรสเปรี้ยว (นิตยา รัตนาปนนท์ และ พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2556)

กรดอะซิติก (acetic acid) หรือกรดน้ำส้ม เป็นกรดอินทรีย์ (organic acid) ประเภทกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) มีสูตร CH_3COOH (ดังแสดงในภาพที่ 2.1) การใช้กรดอะซิติกในอาหาร ใช้เพื่อปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหาร หรือเป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) เช่น เพื่อการปรับให้อาหารเป็นกรด เรียกว่า อาหารปรับกรด (acidified food) เป็นสารกันเสีย (preservative) โดยควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของกรดอะซิติก

ที่มา; นิตยา รัตนาปนนท์ และ พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ (2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะซิติก เป็นกรดอินทรีย์หรือกรดอ่อน ซึ่งเป็นกรดที่แตกตัวได้ไม่หมด หรือแตกตัวได้น้อย ผลการทำลายเชื้อของกรดขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์กรดที่ไม่แตกตัว เมื่อความเข้มข้นกรดที่เพิ่มขึ้นจะมีปริมาณกรดที่ไม่แตกตัวสูงขึ้น โดยกรดอะซิติกที่ไม่แตกตัวจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ และเกิดการแตกตัวใน H^+ จึงมีแนวโน้มทำให้เซลล์มีสภาพเป็นกรด ทำให้เซลล์สูญเสียสภาพพลังงานในรูปของ ATP เมื่อเซลล์มี H^+ มากเกินที่จะขับออกมาได้ ทำให้ค่า pH ภายในเซลล์ลดลงทำให้มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และจะทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์ตายลงในที่สุด (Garbutt, 1997)

ภัทรวดี ศรีปัญญา และ บุษกร ทองใบ (2551) ได้ศึกษาผลของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 บนเนื้อบนผักชี โดยพบว่า สารสกัดข่า (15mg/ml) และกรดอะซิติก (0.05% (v/v) สามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ 0.72 และ 0.90 log₁₀ CFU/g ตามลำดับ โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏ สีและกลิ่นของผักชี และเมื่อใช้สารสกัดข่า ร่วมกับกรดอะซิติก พบว่าสามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้มากกว่า โดยลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ได้ 1.84 - 2.03 log₁₀ CFU/g แต่การใช้สารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติก 1.0 และ 2.0 % (v/v) แซ่ผักชี พบว่าลักษณะปรากฏ สีและกลิ่นของผักชีเกิดการเปลี่ยนแปลง คือ ผักชีมีลักษณะเหี่ยว(สลด) มีสีคล้ำ(คล้ายการไหม้ของใบผัก) และมีกลิ่นกรดในผักชี กรดอะซิติก 0.5 % (v/v) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏและสีของผักชีเลย ดังนั้นสารสกัดข่า 15mg/ml ร่วมกับกรดอะซิติก 0.5 % (v/v) จึงเป็นสารทดสอบที่เหมาะสมในการลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนบนผักชี

ผ่องเพ็ญ จิตอารีรัตน์ และ กฤษณ์ สงวนพวง (2550) ได้ศึกษาผลของกรดอินทรีย์ต่อการเกิดสีน้ำตาลและคุณภาพของกะหล่ำดอกตัดแต่งพร้อมบริโภค กรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดซิตริกและกรดอะซิติก ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5% ต่อการเกิดสีน้ำตาลและคุณภาพของกะหล่ำดอกตัดแต่งพร้อมบริโภคที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า กรดซิตริกและกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลของสีกะหล่ำดอก (รักษาค่าความสว่าง; L*) การสูญเสียน้ำหนักสด และสามารถลดปริมาณยีสต์และรา แบคทีเรียโคลิฟอร์ม และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ดีกว่ากะหล่ำดอกตัดแต่งพร้อมบริโภคที่จุ่มน้ำกลั่น

2.11 การรมไอ

การรมไอ คือ การปล่อยให้สารเคมีในสถานะของก๊าซหรือไอระเหย แพร่กระจายและครอบคลุมศัตรูพืช ที่ต้องการกำจัด ส่วนการกลายเป็นไอ คือการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวไปเป็นก๊าซ โดยโมเลกุลเคลื่อนที่หลุดออกจากผิวของเหลว ซึ่งความดันไอจะไม่ขึ้นกับขนาดของภาชนะ

แต่จะขึ้นอยู่กับแรงระหว่างโมเลกุลในของเหลว (ภัทราพรณ จรุงรัตน์สกุล, 2553) ดังนั้นการรมไอน้ำจึงเป็นการใช้ไอรเหยในสถานะก๊าซของสารเคมีแพร่กระจายครอบคลุมศัตรูเป้าหมาย รูปของก๊าซมีโมเลกุลที่เล็กกว่ารูปของเหลวจึงสามารถที่จะเข้าไปทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่า (จริงแท้ สิริพานิช, 2549)

การรมไอน้ำส้มสายชูหมัก

น้ำส้มสายชูหมัก ประกอบไปด้วยสารประกอบที่ระเหยได้หลายชนิด ส่วนประกอบหลักที่พบ ได้แก่ furfural, acetic acid, ethyl acetate, 3-hydroxyl-2-butanone, 3-methyl-1-butanol, isopentyl acetate, benzaldehyde, phenylethyl alcohol (Xiao และคณะ, 2011) การรมไอน้ำส้มสายชูหมักที่มีกรดอะซิติก 4-6% สามารถป้องกันการเน่าเสีย มีความปลอดภัยมากกว่าและยังคงประสิทธิภาพกว่ารมไอน้ำกรดอะซิติก (Sholberg และคณะ, 2004)

Krusong และคณะ (2015) ศึกษาสารละลายน้ำส้มสายชูและไอน้ำส้มสายชูยับยั้งเชื้อ *Kb. pneumoniae* ในผักชี โดยทำการศึกษาผลการยับยั้งการปนเปื้อนของเชื้อ *Kb. pneumoniae* ด้วยสารละลายน้ำส้มสายชูและไอน้ำส้มสายชูที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า สารละลายน้ำส้มสายชูที่มีกรดอะซิติก 2.4% (v/v) ยับยั้งเชื้อ *Kb. pneumoniae* อย่างสมบูรณ์ และการรมไอน้ำส้มสายชู เวลา 50 นาที ที่กรดอะซิติก 8% ยับยั้งเชื้อ *Kb. pneumoniae* ที่ spread บนอาหาร Mueller Hilton agar สมบูรณ์ ($4.10 \pm 0.04 \log \text{ CFU/ml}$, $30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, $80 \pm 2\% \text{ RH}$) และทำการศึกษาลดลงของการปนเปื้อนเชื้อ *Kb. pneumoniae* ในผักชีด้วยไอน้ำส้มสายชู และพบว่า ไอน้ำส้มสายชูมีประสิทธิภาพในการควบคุมการปนเปื้อนในผักชี

Pornpukdeewattana และคณะ (2017) ศึกษาประสิทธิภาพของไอน้ำส้มสายชูหมัก upland rice (VP-URV) ลดการเกิดสปอร์และสารพิษจาก *Aspergillus flavus* และลดการเจริญของ mycelial ได้อย่างสมบูรณ์ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ผ่านการรมไอน้ำของ VP-URV (กรดอะซิติก 0.0017 mmol/L) และไอน้ำกรดอะซิติก (กรดอะซิติก 0.0023 mmol/L) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกัน หลังการรมไอน้ำเป็นเวลา 90 นาที ผลการศึกษาสารประกอบไอรเหย (volatile compound) ด้วย GCMS พบว่ามีสารประกอบไอรเหย ที่มีคุณสมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์ประกอบด้วย - isoamylalcohol, 1-butanol, 3-methyl-,acetate และ β -phenylethyl acetate และ การรมไอน้ำ VP-URV เป็นเวลา 5 ชั่วโมง สามารถกำจัดสปอร์ของ *A. flavus* ในเมล็ดข้าวโพดได้

ภัทราพรณ จรุงรัตน์สกุล (2553) ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวสตรอเบอร์รี่สดด้วยการสเปรย์และรมไอน้ำส้มสายชูหมัก พบว่าวิธีรมไอน้ำส้มสายชูหมักซึ่งมีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 10% เป็นเวลา 20 นาที ณ อุณหภูมิห้อง สามารถลดการเสื่อมเสียของสตรอเบอร์รี่สดจากเชื้อรา *B. cinerea* ได้ถึง 20% โดยที่จะเริ่มแสดงการเสื่อมเสียในวันที่ 9 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วิธีสเปรย์จะเริ่มแสดงการเสื่อมเสียวันที่ 7 ในขณะที่ชุด

ควบคุมจะเริ่มแสดงการเสื่อมเสียในวันที่ 5 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิดังกล่าว และผลการศึกษาด้านประสาทสัมผัส พบว่า น้ำส้มสายชูหมักกลั่นสตรอเบอร์รี่ซึ่งมีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 10% จากสตรอเบอร์รี่สด 20% (w/v) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับสตรอเบอร์รี่ที่ไม่ได้รมไอ ซึ่งให้ผลการยอมรับดีกว่าวิธีสเปรย์

Shoberg และคณะ (2004), Tzortzakis (2010) และ Krusong และคณะ (2012) ศึกษาการใช้ไอน้ำส้มสายชูในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้ผักและผลไม้เสื่อมเสีย พบว่า ไอน้ำส้มสายชูมีประสิทธิภาพเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในผลิตภัณฑ์ เช่น ไข่ แอปเปิ้ล มะเขือเทศ แอปริคอต และสตรอเบอร์รี่

อนุสรณ์ แผล่หามาน (2561) ศึกษาผลของการรมไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ไอกรดอะซิติก และไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* บนพริกไทยดำ พบว่า ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ความเข้มข้น 8% มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ดีกว่าไอของกรดอะซิติก เนื่องจากผลของการรมไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ประกอบไปด้วย acetic acid, ethyl ester, β -phenylethyl acetate, benzeneethanol และ isoamylalcohol สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้เช่นเดียวกัน จึงเห็นผลให้ไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ดีกว่าไอกรดอะซิติก

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัสดุที่ใช้ในงานวิจัย

มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค ระยะเวลาสุกพร้อมรับประทาน คัดเลือกมะม่วงน้ำดอกไม้ระยะสุก อ่างอิงจากศักระ สมบัติไพรวัน และคณะ (2555) กล่าวว่า มะม่วงมีลักษณะผิวและเนื้อมีสีเหลืองสม่ำเสมอทั้งผลในระยะสุก ซึ่งจากตลาดในเขตมีนบุรีและลาดกระบัง นำตัวอย่างที่เก็บในสภาพเย็นมาถึงห้องปฏิบัติการภายใน 2 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม แยกเชื้อสปีชีส์ที่พบมากที่สุดที่ได้นำมาใช้ในงานวิจัย และเพื่อใช้ในการรวมไอตลดการทดลอง

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

3.2.1	หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)	Tomy รุ่น ES315	ประเทศญี่ปุ่น
3.2.2	ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow)	Bosstech	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.3	ชุดกล่องรวมไอขนาด (0.25x0.30x0.25 ลบ.ม) และเครื่องปั๊ม		ประเทศไทย
3.2.4	อ่างควบคุมความร้อน (Water bath)	Memmert	ประเทศเยอรมนี
3.2.5	ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Heraeus	ประเทศเยอรมนี
3.2.6	ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)	Memmert	ประเทศเยอรมนี
3.2.7	กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)	Nikon	ประเทศญี่ปุ่น
3.2.8	เครื่องเขย่าผสม (Stomacher)	Seward รุ่น BA 7021	ประเทศอังกฤษ
3.2.9	เครื่องหมุนผสม (Vortex mixer)	Vortex Genie 2	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.10	เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	Mettler Toledo	ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
3.2.11	เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (Balance)	Mettler Toledo รุ่น Dragon 3002	ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
3.2.12	เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Micro pipette)	Thermo scientific	ประเทศสหรัฐอเมริกา
3.2.13	ไมโครเวฟ (mi) กำลัง 900 วัตต์	Sharp	ประเทศเยอรมนี
3.2.14	อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ		
3.2.15	ถุงพลาสติกใส		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1	Tryptic Soy Agar (TSA)	Himedia	ประเทศอินเดีย
3.3.2	Tryptic Soy Broth (TSB)	Himedia	ประเทศอินเดีย
3.3.3	Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) Merck		ประเทศเยอรมนี
3.3.4	Plate count agar (PCA)	Himedia	ประเทศอินเดีย
3.3.5	Tryptic Soy Broth (TSB)	Difco	ประเทศ สหรัฐอเมริกา
3.3.6	Lauryl tryptose (LST) broth	Merck	ประเทศเยอรมนี
3.3.7	MacConkey Agar (MCA)	Difco	ประเทศ สหรัฐอเมริกา
3.3.8	Peptone	Himedia	ประเทศอินเดีย
3.3.9	Butterfield's phosphate-buffered water	Himedia	ประเทศอินเดีย

3.4 สารเคมี

- 3.4.1 น้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ข้าว ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเทศไทย
- 3.4.2 กรดอะซิติก ความเข้มข้น 99.8% Sigma ประเทศมาเลเซีย
- 3.4.3 แอลกอฮอล์ 95% กรมสรรพสามิต ประเทศไทย

3.5 จุลินทรีย์

เชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae*. โดยเป็นเชื้อที่พบมากที่สุด ที่แยกได้จากตัวอย่างมะม่วงสุกคัดแต่งพร้อมบริโกล และได้รับการยืนยันจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (ไบโอเทค) ประเทศไทย ด้วยวิธี Single strand 16s rDNA

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 การตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนในมะม่วงคัดแต่งพร้อมบริโกล

สุ่มเก็บตัวอย่างมะม่วงคัดแต่งพร้อมบริโกลระยะสุกพร้อมรับประทานจากตลาดเขตมีนบุรี และลาดกระบัง รวม 30 ตัวอย่าง โดยใส่ในถุงพลาสติกที่สะอาดและปราศจากเชื้อ เก็บรักษาใน

กล่องโฟมบรรจุน้ำแข็งในการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภายในระยะเวลา 2 ชั่วโมง และดำเนินการตรวจสอบ ดังนี้

3.6.1.1 สุ่มตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก 25 กรัม เติม Butterfield's phosphate-buffered water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่น ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทำการเจือจางสิบเท่า (ten fold dilution) โดยปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีบัฟเฟอร์ฟอสเฟต 9 มิลลิลิตร

3.6.1.2 ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดด้วยอาหาร PCA ที่ระดับการเจือจางที่เหมาะสม ด้วยวิธี pour plate technique บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนีต่อเพลท กำหนดและรายงานผลเป็น CFU/g ตามวิธีการของ BAM Chapter 3 (2001)

3.6.1.3 การตรวจวิเคราะห์เชื้อกลุ่มโคลิฟอร์มและฟิคอลโคลิฟอร์ม ด้วยการเจือจางเป็นลำดับส่วน ตามวิธีการของ Gauthier และ Archibald (2001)

3.6.1.3.1 การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟิคอลโคลิฟอร์ม โดยวิธี MPN (Most probable number) ใช้ lauryl tryptose broth MPN tubes สำหรับวิธี presumptive และ brilliant green lactose bile broth และ GC broth สำหรับวิธี confirmative

3.6.1.3.2 นำเชื้อ dilution สุดท้ายจากการทดสอบข้อ 3.6.1.3.1 มา streak ลงบน MacConkey และยืนยันสปีชีส์ของเชื้อวิธี Single strand 16s rDNA ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (ไบโอเทค) ประเทศไทย ทั้งนี้ยืนยันว่าสายพันธุ์ที่คัดแยกได้ คือ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ระดับความคล้ายคลึง (similarity) เท่ากับ 99.7%

3.6.1.3.3 เก็บรักษาเชื้อโดยใน TSA slant ที่อุณหภูมิ 2-5 °C เพื่อใช้เป็น stock culture ทำการถ่ายเชื้อลงอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA slant เดือนละหนึ่งครั้งระหว่างทดลอง

3.6.2 การเตรียมเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae*

3.6.2.1 เชื้อเชื้อแบคทีเรียป็นที่คัดแยกได้ จากข้อ 3.6.1 ที่เลี้ยงบนอาหาร TSA slant มา 1 หลุม จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเจือจางเชื้อด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วทำการกระจายเชื้อภายใต้ aseptic technique นำสารละลายเชื้อวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ให้ได้ค่า McFarland 1.0 (ประมาณ 10^8 CFU/ml) และใช้สารละลายตัวอย่างเชื้อนี้สำหรับการเลี้ยงเชื้อ

3.6.3 การเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง เพื่อใช้ในการหมักโอบนมมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

3.6.3.1 การเตรียม

นำมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคมาแช่ในน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ปริมาณมะม่วง 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) เก็บรักษาสารละลายที่เตรียมไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน จึงนำมาทดสอบการยอมรับกลิ่นของสารละลาย โดยทดสอบด้วยวิธี 5 Point Hedonic Scale อาศัยผู้ทดสอบจำนวน 15 คน

3.6.3.1 การติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดและ pH ในสารละลายน้ำส้มสายชูกลิ่นมะม่วงและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง ตามวิธีการของ ภัทราพรธม (2553)

เตรียมสารละลาย โดยใช้ความเข้มข้นกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูและปริมาณมะม่วงที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.3.1 จากนั้นนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดในสารละลาย และในมะม่วงแช่ในสารละลายดังกล่าว และติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของสารละลาย ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 3 5 7 10 และ 14 วัน

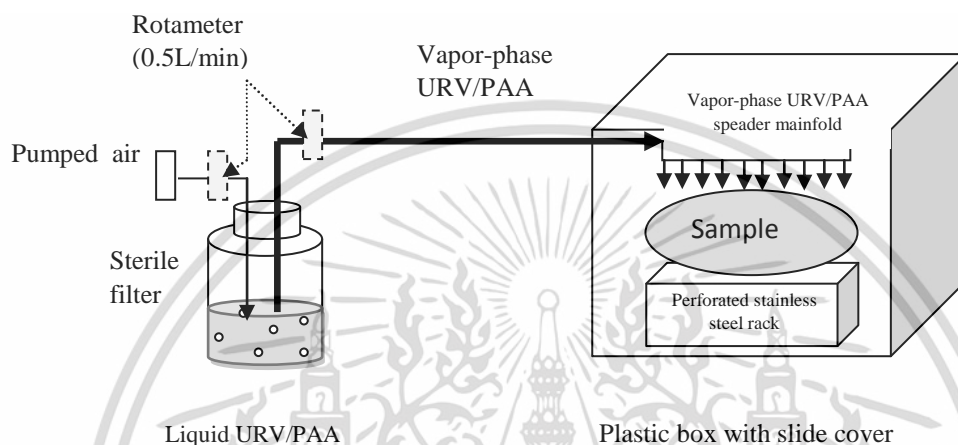
3.6.4 การศึกษาผลการหมักโอบน้ำส้มสายชูและโอบกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และที่ปลูกถ่ายในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

3.6.4.1 ระยะเวลาการหมักโอบน้ำส้มสายชูและโอบกรดอะซิติกต่อเชื้อ *Kb. Quasipneumoniae*. ในจานเพาะเชื้อ TSA

นำเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ที่เตรียมได้จากข้อ 3.6.2 มาเจือจางด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ นำสารละลายเชื้อปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA เกลี่ยเชื้อด้วยวิธี Spread plate ให้ได้เชื้อในจานเพาะเชื้อ ที่ความเข้มข้น 2 ระดับ คือ ระดับต่ำ (3 log CFU/plate) และระดับสูง (6 log CFU/plate) นำไปวางในกล่องหมักโอบที่อ้อมตัวด้วยโอบน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 8% เตรียมจากสารละลายน้ำส้มสายชู ในข้อ 3.6.3 (ดังแสดงในภาพที่ 3.1) หมักเป็นเวลา 0 10 20 30 35 40 50 และ 60 นาที ตามลำดับ จำนวน 5 เพลท เมื่อครบเวลาตามที่กำหนด นำจานเพาะเชื้อที่หมักโอบแล้วผึ่งให้แห้งในตู้ laminar flow 5 นาที บ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง ตรวจนับปริมาณเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ในจานเพาะเชื้อที่หมักโอบน้ำส้มสายชูในเวลาต่างๆ โดยนับโคโลนีในพื้นที่ 1 ตร.ซม. ของจานเพาะเชื้อ นับทั้งหมด 10 ตร.ซม. หาค่าเฉลี่ยต่อพื้นที่ 1 ตร.ซม. และคูณด้วยพื้นที่จานเพาะเชื้อทั้งหมด นำผลจาก 5 เพลทมาหาค่าเฉลี่ยต่อเพลท ได้ออกมาเป็นจำนวนโคโลนี หน่วย CFU/plate และทำการหมักด้วยโอบกรดอะซิติกความเข้มข้น 8% เช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ในงานเพาะเชื้อที่ไม่ได้รมไอ้มีตัวน้ำส้มสายชู และไอ้กรดอะซิติกเป็นตัวอย่างควบคุมทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยนาระยะเวลาที่ทำให้เชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ในงานเพาะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไปพิจารณาใช้ในการรมไอ้มีตัวน้ำส้มสายชูและไอ้กรดอะซิติกในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคร่วมไป



ภาพที่ 3.1 กล่องรมไอ้ขนาด 0.25x0.30x0.25 ลบ.ม

ที่มา: คัดแปลงจาก Krusong และคณะ (2015)

3.6.4.2 การสร้างการปนเปื้อนเซลล์ของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคร่วม (อ้างอิงวิธีจาก กัทรานต์ ศรีปัญญา, 2553)

นำผลมะม่วงระยะสุก มีน้ำหนักผล ผลละประมาณ 350 กรัม นำมาแช่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้แห้งในตู้ Laminar air flow นาน 5 นาที (คัดแปลงจากวิธีการของ Yu และคณะ, 2008) แล้วปอกเปลือกผึ่งให้แห้ง หั่นชิ้นตามแนวยาวและขวาง 8 ชิ้นต่อครึ่งผล ขนาดของชิ้น กว้างประมาณ 2 เซนติเมตร เตรียมสารละลายเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ให้เป็น 5 และ 8 log CFU/g ถ่ายสารละลายเชื้อปริมาตร 1 มล. หยดเป็นชิ้นมะม่วงที่เตรียมไว้ จากนั้นผึ่งให้แห้งบนตะแกรงในตู้ laminar flow เป็นเวลาประมาณ 30 นาที หรือจนกว่าจะไม่เห็นหยดน้ำติดที่ชิ้นมะม่วง จะได้เชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ติดที่มะม่วง 3 และ 6 log CFU/g เพื่อเป็นตัวแทนเชื้อระดับต่ำและระดับสูง ตามลำดับ

3.6.4.3 ระยะเวลาการรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อเชื้อ *Kb.*

quasipneumoniae ในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวม

นำตัวอย่างมะม่วงจากข้อ 3.6.4.2 วางในกล่องที่อ้อมตัวด้วยไอน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 8% รวมไอน้ำที่เวลา 35 และ 40 นาที ในความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ และระดับสูง ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งในตู้ laminar flow เป็นเวลา 5 นาที นำไปตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณเชื้อเหลือรอด โดยใช้อาหาร TSA เปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ในมะม่วงที่สร้างการปนเปื้อนแต่ไม่ได้รับไอน้ำเป็นตัวควบคุม เพื่อทราบถึงระยะเวลาที่ทำให้แบคทีเรียที่ปนเปื้อนหลักที่คัดแยกในมะม่วงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.6.5 การศึกษาผลการรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกแก่มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวมต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ศึกษาลักษณะทางกายภาพของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวม ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส โดยวิธีประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ 5 Point Hedonic Scale Test หลังผ่านการรวมไอน้ำ และบรรจุมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวมในถาดพลาสติกมีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-6 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0 3 และ 5 ตามลำดับ เปรียบเทียบกับมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวมไม่ผ่านการรวมไอน้ำ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-6 องศาเซลเซียส เป็นตัวควบคุม

3.6.6 วางแผนผลการทดลอง

ทำการออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 17.0 จากนั้นนำค่าเฉลี่ย มาเปรียบเทียบกับวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

จากการตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค ระยะสุกพร้อมรับประทาน จากตลาดเขตมีนบุรีและลาดกระบัง ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2560 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2561 จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยจากการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ในตัวอย่างมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค จำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่า มีปริมาณมากที่สุด คือ 4.63 log CFU/g และมีปริมาณต่ำสุด คือ 2.74 log CFU/g ทั้งนี้แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการสำรวจปริมาณการปนเปื้อนแบคทีเรียทั้งหมด

ตัวอย่าง	แบคทีเรียทั้งหมด (log CFU/g)	ตัวอย่าง	แบคทีเรียทั้งหมด (log CFU/g)
1	3.40	16	3.57
2	3.40	17	4.11
3	3.78	18	3.73
4	2.89	19	3.00
5	4.13	20	3.48
6	2.84	21	3.23
7	4.10	22	3.03
8	3.75	23	3.00
9	3.79	24	3.10
10	3.65	25	4.63
11	2.84	26	3.40
12	2.74	27	3.40
13	3.00	28	3.00
14	3.97	29	3.67
15	3.00	30	3.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์มและฟิคอลโคลิฟอร์ม โดยทดสอบวิธี Presumptive coliform ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) และทดสอบวิธี Presumptive fecal coliform ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว EC broth ในระดับการเจือจางที่ 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} พบว่า จำนวนมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค จำนวน 30 ตัวอย่าง มีโคลิฟอร์มและฟิคอลโคลิฟอร์ม ปริมาณไม่เกิน 11,000 MPN/g ซึ่งมีปริมาณเกินมาตรฐานเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและสัมผัสอาหารฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2560) ทั้งนี้ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการสำรวจปริมาณแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มและฟิคอลโคลิฟอร์ม ในมะม่วงตัดแต่ง

พร้อมบริโภค

ตัวอย่าง	BGLB		EC	
	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก	MPN/g	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก	MPN/g
1	0-0-0	<30	0-0-0	<30
2	0-0-0	<30	0-0-0	<30
3	3-0-0	230	3-0-0	230
4	1-0-0	36	0-0-0	<30
5	3-2-2	2,100	2-2-2	350
6	3-3-1	4,600	3-2-1	1,500
7	3-2-1	1,500	0-0-0	<30
8	3-3-0	2,400	1-0-0	36
9	3-3-0	2,400	1-0-0	36
10	3-1-0	430	0-1-0	30
11	1-0-1	72	1-0-0	36
12	1-0-0	36	1-0-0	36
13	3-3-3	>11,000	0-0-0	<30
14	3-3-3	>11,000	0-0-0	<30
15	3-3-3	>11,000	1-0-0	36
16	3-3-3	>11,000	0-0-0	<30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ตัวอย่าง	BGLB		EC	
	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก	MPN/g	จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก	MPN/g
17	3-3-0	2,400	2-2-0	210
18	3-3-0	2,400	2-0-0	92
19	3-3-3	>11,000	2-2-0	210
20	3-3-1	4,600	0-0-1	30
21	3-1-0	430	0-0-0	<30
22	0-0-0	<30	0-0-0	<30
23	3-3-3	>11,000	1-0-1	72
24	3-3-1	4,600	1-0-0	36
25	3-0-2	640	0-0-0	<30
26	0-0-0	<30	0-0-0	<30
27	0-0-0	<30	0-0-0	<30
28	0-0-0	<30	0-0-0	<30
29	0-0-0	<30	0-0-0	<30
30	3-3-2	11,000	3-0-1	380

เมื่อนำเชื้อจาก dilution สุดท้าย BGLB และ EC broth ไป streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey Agar (MCA) พบว่า 76.7% ของตัวอย่าง 30 ตัวอย่าง มีลักษณะโคโลนีเหมือนกันและยืนยันสปีชีส์เชื้อชนิดด้วยวิธี Single Strand 16s rDNA sequencing จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (ไบโอเทค) ประเทศไทย พบว่า มีความใกล้เคียงกับ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ระดับความคล้ายคลึงเท่ากับ 99.7% โดยเชื้อนี้ไม่แตกต่างจากเชื้อ *Kb. pneumoniae* อาจปนเปื้อนมาจากการไม่ปฏิบัติตามมาตรฐานด้านสุขอนามัยส่วนบุคคล

ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mahfuza และคณะ (2016) ที่กล่าวว่า จากการสุ่มตรวจตัวอย่างผลไม้ สลัดผัก และน้ำผลไม้ จากร้านค้าตามท้องถนน พบเชื้อจุลินทรีย์ 5 ชนิด โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น *Klebsiella* 9% และตรงกับงานวิจัยของ Chukwu และคณะ (2010) พบเชื้อ *Kb. pneumoniae* ในตัวอย่างผลไม้ตัดแต่งสุ่มจากบนชั้นวางจำหน่าย สำหรับการตรวจหาแบคทีเรียโคลิฟอร์ม สอดคล้องกับงานวิจัยของมณฑล เลิศกณาวนิชกุล (2557) ที่กล่าวว่า ตรวจพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มในผลไม้ตัดแต่ง 90.9% (พบ 10 ตัวอย่างจากทั้งหมด 11 ตัวอย่าง) บ่งชี้ว่าจะมีการสัมผัสปนเปื้อนสิ่งสกปรก ในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของการปลูก กระบวนการล้าง การตัดแต่ง และการวางจำหน่าย และในสวนสถานที่จำหน่ายมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวมยังไม่มีการปกปิดให้มิดชิด เพื่อป้องกันการสัมผัสปนเปื้อน ทำให้มี โอกาสเสี่ยงต่อการแพร่เชื้อทางระบบทางเดินอาหารได้

4.2 ผลการเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง เพื่อใช้ในการรมไอบนมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

จากการทดสอบความชอบด้านการยอมรับกลิ่นของสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง โดยวิธี 5 Point Hedonic Scale ของผู้ทดสอบจำนวน 15 คน (ดังแสดงในตารางที่ 4.3) พบว่า ปริมาณของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ใช้แช่ในน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติก (ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8 เปอร์เซ็นต์) มีผลโดยตรงต่อการยอมรับกลิ่น กล่าวคือ ในสารละลายน้ำส้มสายชู ปริมาณมะม่วงตัดแต่ง 20 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ผู้ทดสอบให้ผลด้านความชอบต่อกลิ่นของสารละลายค่อนข้างต่ำอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบด้านกลิ่นที่ใช้ปริมาณมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ในสารละลายกรดอะซิติกผู้ทดสอบปริมาณมะม่วงตัดแต่งที่ใช้แช่สารละลายไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบด้านกลิ่น และเนื่องจากปริมาณมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ให้ผลคะแนนความชอบต่อกลิ่นของสารละลายสูงสุด ดังนั้นในการศึกษาผลของการรมไอน้ำส้มสายชูและไออนกรดอะซิติก ต่อการเจริญของเชื้อ *Kb.*

quasipneumoniae ปลูกถ่ายในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคจึงเลือกใช้สารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง ที่เตรียมจากการแช่มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคปริมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) ในสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8 เปอร์เซ็นต์ ต่อไป

ตารางที่ 4.3 คะแนนการทดสอบความชอบด้านกลิ่นของสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง (ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8 เปอร์เซ็นต์) และปริมาณมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค 20 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร)

ปริมาณมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก/ปริมาตร)	คะแนนความชอบด้านกลิ่น*	
	สารละลายน้ำส้มสายชู	สารละลายกรดอะซิติก
20	2.8 ^a ±1.57	3.27 ^a ±1.03
30	2.6 ^a ±1.18	3.33 ^a ±1.05
40	2.13 ^b ±1.06	3.2 ^a ±1.32

* ค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบด้านกลิ่นของสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง กำกับด้วยอักษรแตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

อนึ่งเพื่อให้เกิดความมั่นใจต่อประสิทธิภาพของกรดอะซิติกในสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วงที่เตรียมขึ้น จึงทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดและ pH ในสารละลายเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุก 0 3 5 7 10 และ 14 วัน ผลการติดตามแสดงในตารางที่ 4.4 พบว่า ปริมาณกรดอะซิติกลดลงอย่างมากภายในระยะเวลา 3 วัน ในสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกจากเดิม 8 เปอร์เซ็นต์ ลดเหลือ 5.7 และ 5.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่หลังจากนั้นปริมาณกรดค่อนข้างจะคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ทั้งนี้มาจากความเป็นกรดของสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกถูกดูดซับเข้าไปในชิ้นมะม่วงตัดแต่งที่แช่ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วปริมาณของกรดในผลไม้จะเพิ่มขึ้นถึงจุดสูงสุดระหว่างการเจริญและพัฒนาขณะอยู่บนต้น เนื่องจากกระบวนการของ Krebs's cycle ที่เกิดขึ้นในเซลล์ของพืชชั้นสูง ปริมาณของกรดทั้งหมดจะลดลงระหว่างช่วงเวลาของการสุก (สายซลเกตุษา, 2528) ดังนั้นจึงสามารถสรุปปริมาณกรดที่ลดลงได้ว่าถูกดูดซับจากชิ้นมะม่วงตัดแต่ง แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของกรดอะซิติกมีปริมาณเพียงพอที่จะใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

Kb. quasipneumoniae

ตารางที่ 4.4 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของกรดอะซิติกและค่า pH ของสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

ระยะเวลาเก็บ (วัน)	สารละลายน้ำส้มสายชู		สารละลายกรดอะซิติก	
	ปริมาณกรดอะซิติก (เปอร์เซ็นต์)	ค่าความเป็นกรด-เบส (pH)	ปริมาณกรดอะซิติก (เปอร์เซ็นต์)	ค่าความเป็นกรด-เบส (pH)
0	8	2.7	8	2.1
3	5.7	2.93	5.5	2.69
5	5.8	2.93	5.7	2.68
7	5.6	2.94	5.7	2.68
10	5.6	2.88	5.6	2.67
14	5.7	2.89	5.9	2.65

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

4.3 ผลการรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ระดับห้องปฏิบัติการ

4.3.1 ผลของการรวมไอน้ำส้มสายชูต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

ผลการรวมไอน้ำส้มสายชู (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ความเข้มข้นเชื้อ 2 ระดับ (ระดับต่ำ และระดับสูง) พบว่า ในความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) รวมไอน้ำส้มสายชู เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 35 40 50 และ 60 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) เมื่อรวมไอเป็นระยะเวลา 35 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.87 มิลลิโมล/ลิตร) และในความเข้มข้นเชื้อระดับสูง (6 log CFU/plate) รวมไอน้ำส้มสายชู (เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 35 40 50 และ 60 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) เมื่อรวมไอเป็นระยะเวลา 40 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.99 มิลลิโมล/ลิตร) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชู (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อ 2 ระดับ (ระดับต่ำ และระดับสูง) เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ $30\pm 1^{\circ}\text{C}$

ระยะเวลา รมไอน้ำ (นาที)	ปริมาณกรดอะซิติก ที่ใช้ในไอน้ำ ส้มสายชู (mmol/L)	ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ		ความเข้มข้นเชื้อระดับสูง	
		จำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิต (log CFU/ml)	การยับยั้ง (%)	จำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิต (log CFU/ml)	การยับยั้ง (%)
0	0	$3.04^a \pm 0.07$	0	$5.48^a \pm 0.02$	0
10	0.26 ± 0.0094	$2.51^{ab} \pm 0.27$	17.4	$5.45^a \pm 0.01$	0.5
20	0.491 ± 0.0031	$2.42^{ab} \pm 0.34$	20.4	$5.41^a \pm 0.02$	1.3
30	0.744 ± 0.0220	$1.95^b \pm 0.67$	35.9	$5.34^a \pm 0.03$	2.6
35	0.871 ± 0.0189	ND	100	$2.85^b \pm 0.04$	48
40	0.987 ± 0.0000	ND	100	ND	100
50	1.209 ± 0.0314	ND	100	ND	100
60	1.444 ± 0.0251	ND	100	ND	100

* Mean \pm SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.3.2 ผลของการรวมไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

ผลการรวมไอกรดอะซิติก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ความเข้มข้นเชื้อ 2 ระดับ (ระดับต่ำ และระดับสูง) พบว่า ในความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) รวมไอกรดอะซิติก เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 35 40 50 และ 60 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) เมื่อรวมไอเป็นระยะเวลา 35 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.80 มิลลิโมล/ลิตร) และในความเข้มข้นเชื้อระดับสูง (6 log CFU/plate) รวมไอกรดอะซิติก เป็นระยะเวลา 0 10 20 30 35 40 50 และ 60 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) เมื่อรวมไอเป็นระยะเวลา 40 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.91 มิลลิโมล/ลิตร) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.6

น้ำส้มสายชูมีองค์ประกอบหลักคือ กรดอะซิติก เป็นกรดอินทรีย์หรือกรดอ่อน ซึ่งเป็นกรดที่แตกตัวได้ไม่หมด ผลการทำลายเชื้อของกรดขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์กรดที่ไม่แตกตัว เมื่อความเข้มข้นกรดที่เพิ่มขึ้น จะมีปริมาณกรดที่ไม่แตกตัวสูงขึ้น โดยกรดอะซิติกที่ไม่แตกตัวจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ และเกิดการแตกตัวใน H^+ จึงมีแนวโน้มทำให้เซลล์มีสภาพเป็นกรด ทำให้เซลล์สูญเสียสภาพพลังงานในรูปของ ATP เมื่อเซลล์มี H^+ มากเกินที่จะขับออกมาได้ ทำให้ค่า pH ภายในเซลล์ลดลงทำให้มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และจะทำให้เซลล์ของจุลินทรีย์ตายลงในที่สุด (Garbutt, 1997) ทำให้ระยะเวลารวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) เป็นระยะเวลาเดียวกัน ซึ่งมีรายงานของกัทวดี ศรีปัญญา และบุษกร ทองใบ (2551) ที่ระบุว่า กรดอะซิติก (0.05% (v/v) สามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนในผักชีได้ 0.90 log₁₀ CFU/g สอดคล้องกับรายงานของผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ และ กฤษณ์ สงวนพวง (2550) ที่รายงานว่า กรดอะซิติก ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5% สามารถลดปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์มได้

ผลการทดลองที่ได้ใกล้เคียงกับรายงานของ Krusong และคณะ (2015) พบว่า การรวมไอน้ำส้มสายชู เวลา 50 นาที ที่กรดอะซิติก 8% ยับยั้งเชื้อ *Kb. pneumoniae* (ความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น 4.10±0.04 log CFU/ml) ได้

จากผลการทดลองรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) ใช้เวลารวมไอ 35 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ และที่ความเข้มข้นเชื้อระดับสูง (6 log CFU/plate) ใช้เวลารวมไอ 40 นาที สามารถ

ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นเลือกระยะเวลาหมักไอดังกล่าว ไปประยุกต์ใช้ในการหมักโอมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคนในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.6 ผลของการหมักโอมะม่วง (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) ต่อการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อ 2 ระดับ (ระดับต่ำ และระดับสูง) เติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่อุณหภูมิ $30\pm 1^{\circ}\text{C}$

ระยะเวลา หมัก (นาท)	ปริมาณกรดอะ ซิติกที่ใช้ในไอ น้ำส้มสายชู (mmol/L)	ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ		ความเข้มข้นเชื้อระดับสูง	
		จำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิต (log CFU/ml)	การยับยั้ง (%)	จำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิต (log CFU/ml)	การยับยั้ง (%)
0	0	2.95 ^a ±0.06	0	5.49 ^a ±0.02	0
10	0.251±0.0157	2.84 ^a ±0.07	3.7	5.43 ^a ±0.08	1.1
20	0.467±0.0063	2.77 ^{ab} ±0.05	6.1	5.34 ^a ±0.10	2.7
30	0.691±0.0031	1.57 ^{ab} ±0.38	46.8	5.32 ^a ±0.03	3.1
35	0.802±0.0031	ND	100.0	2.58 ^b ±0.02	53.0
40	0.909±0.0220	ND	100.0	ND	100.0
50	1.138±0.0314	ND	100.0	ND	100.0
60	1.344±0.0534	ND	100.0	ND	100.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p\leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ปลูกถ่ายในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล

4.4.1 ผลของการรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) ปลูกถ่ายในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล

มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล ที่ปลูกถ่ายเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) และนำไปผ่านการรวมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) เป็นระยะเวลา 0 30 35 และ 40 นาที พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) เมื่อรวมไอน้ำส้มสายชูเป็นระยะเวลา 35 นาที (เป็นเวลาที่ยังเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ถูกยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์) ดังผลแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลของการรวมไอน้ำส้มสายชูและ ไอกรดอะซิติก ต่อการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) ปลูกถ่ายในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล

ระยะเวลา รวมไอน้ำ (นาที)	รวมไอน้ำส้มสายชู			รวมไอกรดอะซิติก		
	ปริมาณกรดอะซิติกที่ใช้ในไอน้ำส้มสายชู (mmol/L)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (log CFU/g)	การยับยั้ง (%)	ปริมาณกรดอะซิติกที่ใช้ในไอน้ำส้มสายชู (mmol/L)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (log CFU/g)	การยับยั้ง (%)
0	0	3.48 ^a ± 0.02	0	0	3.48 ^a ± 0.02	0
30	0.744 ± 0.0220	1.87 ^b ± 0.13	46.3	0.691 ± 0.0031	2.22 ^b ± 0.02	36.2
35	0.871 ± 0.0189	ND	100.0	0.802 ± 0.0031	ND	100.0
40	0.987 ± 0.0000	ND	100.0	0.909 ± 0.0220	ND	100.0

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p≤0.05) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.4.2 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

Klebsiella quasipneumoniae ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับสูง (6 log CFU/plate) ปกถูกถ่ายในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคน

มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคน ที่ปลูกถ่ายเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับสูง (6 log CFU/plate) และนำไปผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) พบว่า เมื่อรมไอน้ำส้มสายชู เป็นระยะเวลา 30 40 และ 50 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้ 17.9 59.4 และ 64.3% ตามลำดับ และการรมไอน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 50 นาที ทำให้เชื้อเหลือรอด 1.89 log CFU/ml และเมื่อรมไอกรดอะซิติก เป็นระยะเวลา 30 40 และ 50 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้ 15.8 58.7 และ 62.8% ตามลำดับ และการรมไอน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 50 นาที ทำให้เชื้อเหลือรอด 1.97 log CFU/ml ดังผลแสดงในตารางที่ 4.8

จากการทดลองนี้พบว่า การรมไอน้ำที่เวลา 50 นาที ไอน้ำส้มสายชูสามารถยับยั้งเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้มากกว่าไอกรดอะซิติกเล็กน้อย สอดคล้องกับรายงานของอนุสรฯ แห้วหมาน. (2561) ที่รายงานว่า ผลของไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่ ความเข้มข้น 8% มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ดีกว่าไอของกรดอะซิติก เนื่องจากผลของการรมไอน้ำส่วนประกอบของน้ำส้มสายชู จากข้าวไร่ ประกอบไปด้วย acetic acid, ethyl ester, β -phenylethyl acetate, benzeneethanol และ isoamylalcohol สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. fumigatus* ได้เช่นเดียวกัน จึงเป็นผลให้ไอน้ำส้มสายชูจากข้าวไร่สามารถยับยั้งเชื้อรา *A. fumigatus* ได้ดีกว่าไอกรดอะซิติก

ตารางที่ 4.8 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก ต่อการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับสูง (6 log CFU/plate) ปลูกถ่ายในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

ระยะเวลา รมไอ (นาที)	รมไอน้ำส้มสายชู			รมไอกรดอะซิติก		
	ปริมาณกรดอะซิติกที่ใช้ในไอน้ำส้มสายชู (mmol/L)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (log CFU/g)	การยับยั้ง (%)	ปริมาณกรดอะซิติกที่ใช้ในไอน้ำส้มสายชู (mmol/L)	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (log CFU/g)	การยับยั้ง (%)
0	0	5.30 ^a ± 0.02	0	0	5.30 ^a ± 0.02	0
30	0.744 ± 0.0220	4.35 ^b ± 0.02	17.9	0.691 ± 0.0031	4.46 ^b ± 0.06	15.8
40	0.987 ± 0.0000	2.15 ^c ± 0.03	59.4	0.909 ± 0.0220	2.19 ^c ± 0.03	58.7
50	1.209 ± 0.0314	1.89 ^d ± 0.02	64.3	1.138 ± 0.0314	1.97 ^d ± 0.03	62.8

* Mean±SD; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (p≤0.05) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 4.9 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก ต่อการเจริญของเชื้อ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) ปลุกถ่ายในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล เมื่อรมไอน้ำเป็นเวลา 35 นาที และเก็บเป็นระยะเวลา 0 3 และ 5 วัน เก็บที่อุณหภูมิ 2-6 องศาเซลเซียส

อายุการเก็บ (วัน)	รมไอน้ำส้มสายชู			รมไอกรดอะซิติก		
	Control (log CFU/g)	จำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิต (log CFU/g)	การยับยั้ง (%)	Control (log CFU/g)	จำนวนเซลล์ ที่รอดชีวิต (log CFU/g)	การยับยั้ง (%)
0	3.48 ^a ±0.02	ND	100.0	3.48 ^a ±0.02	ND	100.0
3	3.45 ^a ±0.02	ND	100.0	3.45 ^a ±0.02	ND	100.0
5	3.42 ^b ±0.02	1.00 ^a ±0.00	66.7	3.42 ^b ±0.02	1.13 ^a ±0.02	62.3

* Mean±SD; ตัวอักษรตามแนวตั้งคือค่าเฉลี่ยผลของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตตามอายุการเก็บ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

** ND (not detected) หมายถึง ไม่พบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกล ที่ปลุกถ่ายเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) บรรจุมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกลที่ผ่านการรมไอน้ำในถาดพลาสติกมีฝาปิด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโกลที่ปลุกถ่ายเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ที่ผ่านการรมไอน้ำเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ไม่รมไอน้ำ) พบว่า ไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกสามารถยับยั้งเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเก็บเป็นเวลา 0 และ 3 วัน และเมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่าไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกสามารถยับยั้งเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้ 66.7 และ 62.3% ตามลำดับ

4.5 ผลศึกษาการรมไอน้ำส้มสายชูและไอรคอะซิดิกแก่มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค 3 ตัวอย่าง ได้แก่ มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคทั่วไปเป็นตัวควบคุม มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชู 35 นาที และมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ผ่านการรมไอรคอะซิดิก 35 นาที พบว่า ในตัวอย่างมะม่วงที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูและไอรคอะซิดิกมีกลิ่นและรสชาติแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงผลในตารางที่ 4.10 ตัวอย่างมะม่วงที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูและไอรคอะซิดิกพบว่ามีกลิ่นเปรี้ยวและรสเปรี้ยวของกรคอะซิดิกตกค้างอยู่ในมะม่วงเล็กน้อย คะแนนความชอบโดยรวมของตัวอย่างมะม่วงที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูเมื่อเก็บเป็นเวลา 3 และ 5 วัน คะแนนมากกว่าตัวอย่างมะม่วงที่ผ่านการรมไอรคอะซิดิก ส่วนสีและเนื้อสัมผัสไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลของการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกแก่มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครต่อการยอมรับของผู้บริโภค (จำนวนผู้ทดสอบ 30 คน) เมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบ ระดับความชอบ วิธี 5 points hedonic scale

ลักษณะ		ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)		
		0	3	5
สี	C	4.07 ^{Aa} ±0.88	3.93 ^{Aa} ±0.59	3.60 ^{Aa} ±0.63
	V-URV	3.33 ^{Ba} ±0.90	3.53 ^{Aa} ±0.92	3.73 ^{Aa} ±0.88
	V-PAA	3.47 ^{ABa} ±0.99	2.47 ^{Bb} ±0.83	2.47 ^{Bb} ±1.06
กลิ่น	C	4.47 ^{Aa} ±0.64	3.80 ^{Ab} ±1.01	3.67 ^{Ab} ±0.72
	V-URV	2.87 ^{Bab} ±0.92	2.40 ^{Bb} ±0.83	3.33 ^{ABa} ±0.90
	V-PAA	3.00 ^{Ba} ±1.20	2.33 ^{Ba} ±0.49	2.87 ^{Ba} ±1.06
รสชาติ	C	4.40 ^{Aa} ±0.74	3.67 ^{Ab} ±0.90	3.93 ^{Ab} ±0.59
	V-URV	2.80 ^{Ba} ±0.86	2.60 ^{Ba} ±0.74	3.13 ^{Ba} ±0.74
	V-PAA	2.67 ^{Ba} ±0.90	2.47 ^{Ba} ±0.64	2.53 ^{Ba} ±1.06
เนื้อสัมผัส	C	4.40 ^{Aa} ±0.63	3.87 ^{Ab} ±0.64	3.73 ^{Ab} ±0.59
	V-URV	3.80 ^{ABa} ±0.86	3.20 ^{ABa} ±1.15	3.67 ^{Aa} ±0.49
	V-PAA	3.47 ^{Bab} ±1.06	2.80 ^{Bb} ±1.01	3.60 ^{Aa} ±0.83
ความชอบรวม	C	4.47 ^{Aa} ±0.64	3.60 ^{Ab} ±0.63	3.87 ^{Ab} ±0.52
	V-URV	3.20 ^{Ba} ±0.94	3.73 ^{Ba} ±0.59	3.27 ^{Ba} ±0.70
	V-PAA	3.27 ^{Ba} ±0.80	2.40 ^{Bb} ±0.51	2.60 ^{Cb} ±0.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

* Mean±SD; ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันตามแนวตั้งคือค่าเฉลี่ยผลของชนิดของสารที่ใช้รมไอ และ ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันตามแนวนอนคือผลของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตตามอายุการเก็บเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

C = มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวมชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านรมไอ;

V-URV = มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวมที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชู;

V-PAA = มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครวมที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภครยะสุกพร้อมรับประทาน จากตลาดเขตมีนบุรีและลาดกระบัง พบว่า 76.7% ของตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่าง มีลักษณะ โคลนีเหมือนกันและยืนยันสปีชีส์เชื้อชนิดด้วยวิธี Single Strand 16s rDNA sequencing พบว่า มีความใกล้เคียงกับ *Klebsiella quasipneumoniae* ที่ระดับความคล้ายคลึง 99.7% ทำการศึกษาผลของการรมไอน้ำส้มสายชูที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8% ไอกรดอะซิติก 8% ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ที่ความเข้มข้นเชื้อ 2 ระดับ คือ ระดับต่ำ (3 log CFU/plate) และระดับสูง (6 log CFU/plate) พบว่า ในความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ รมไอของน้ำส้มสายชู ที่เวลา 35 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.87 มิลลิโมล/ลิตร) และไอกรดอะซิติก ที่เวลา 35 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.80 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ ในความเข้มข้นเชื้อระดับสูง รมไอของน้ำส้มสายชู ที่เวลา 40 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.99 มิลลิโมล/ลิตร) เช่นเดียวกันรวมไอกรดอะซิติก ที่เวลา 40 นาที (ปริมาณกรดอะซิติก 0.91 มิลลิโมล/ลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ จากนั้นปลูกถ่ายเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ลงในมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค ที่ความเข้มข้นเชื้อระดับต่ำ (3 log CFU/plate) และนำไปผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 8%) พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) เมื่อรมไอน้ำเป็นเวลา 35 นาที และในความเข้มข้นเชื้อระดับสูง (6 log CFU/plate) พบว่า รมไอน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 50 นาที ทำให้เชื้อเหลือรอด 1.89 log CFU/ml และเมื่อรมไอกรดอะซิติกเป็นเวลา 50 นาที ทำให้เชื้อเหลือรอด 1.97 log CFU/ml จะเห็นได้ว่า การรมไอน้ำที่เวลา 50 นาที ไอน้ำส้มสายชูสามารถยับยั้งเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้มากกว่าไอกรดอะซิติกเล็กน้อย และศึกษาลักษณะทางกายภาพของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคภายหลังผ่านการรมไอน้ำและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5-2-6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 3 และ 5 วัน ตามลำดับ พบว่า มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชู 35 นาที และรมไอกรดอะซิติก 35 นาที มีกลิ่นและรสชาติแตกต่างจากชุดควบคุม(ไม่ผ่านรมไอน้ำ)เล็กน้อย คะแนนความชอบโดยรวมของตัวอย่างมะม่วงที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชูเมื่อเก็บเป็นเวลา 3 และ 5 วัน คะแนนมากกว่าตัวอย่างมะม่วงที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

การรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติก เป็นเวลา 35 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Kb. quasipneumoniae* ได้อย่างสมบูรณ์ (การยับยั้ง 100%) และทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษา มะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคนานกว่ามะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ไม่ผ่านการรมไอ แต่การรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงรสชาติและรสเปรี้ยวของกรดอะซิติกตกค้างอยู่ในมะม่วงเล็กน้อย ดังนั้นควรมีการปรับแต่งวิธีให้เหมาะสมยิ่งขึ้นโดยการเติมกลิ่นมะม่วงลง หรือนำมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคที่ผ่านการรมไอไปประกอบเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ เช่น มะม่วงตัดแต่งในน้ำเชื่อมเพื่อให้ช่วยระงับกลิ่นกรดอะซิติกที่ตกค้างในมะม่วง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร. 2550. การปรับปรุงคุณภาพผักและผลไม้. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.doa.go.th/public/plibai/plibai_46/october/fruit.html (10 เมษายน 2560).
- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2560. เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหาร และภาชนะสัมผัสอาหาร. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา: <http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/RQSF/indexMain.htm> (10 เมษายน 2560).
- จรรยาพร สมแก้ว อุยวาทิ ชนสุด และนิธิยา รัตนานพนธ์. 2550. การรู้ไหลของสารอินทรีย์โตไรด์ของมะม่วงน้ำดอกไม้ในแต่ละรูปแบบการหั่นชิ้น. การสัมมนาวิชาการวิทยาการ หลังการเก็บเกี่ยว/หลังการผลิตแห่งชาติครั้งที่ 5. 28-29 มิถุนายน 2550. ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ กรุงเทพฯ.
- จรรยาพร สมแก้ว อุยวาทิ ชนสุด และนิธิยา รัตนานพนธ์. 2551. อัตราการหายใจของมะม่วงและระดับกรดสด พร้อมบริโภคน้ำที่มีรูปแบบการหั่นแตกต่างกัน. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 7. 26-30 พฤษภาคม 2551. ณ โรงแรมอมรินทร์ลากูน อ.เมือง จ.พิษณุโลก.
- จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวางของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 453 น.
- จำรัส พูลเกื้อ พรทิพย์ ศรีสร อรวรรณ พัฒนากิจจาร์กัย มุกิตา คณา รัตนา แสงพวง และนลินี โคมพิทยา. คุณภาพผลไม้สดในเขตเทศบาลเมือง จังหวัดนครสวรรค์. วารสารอาหารและยา. 21(2): 42-49.
- เทพวิฑูรย์ ทองศิริ สุรัตน์ เพชรเกษม และกัญญา ม่วงแก้ว. 2557. การประเมินปริมาณแบคทีเรียโคลิฟอร์ม และฟีคัลโคลิฟอร์มในแหล่งน้ำผิวดิน เขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. 3(3): 59-67.
- นิธิยา รัตนานพนธ์ และ พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2556. Acetic Acid / กรดแอซิดิก. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0581/acetic-acid>. (10 เมษายน 2560)
- ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ และ กฤษณ์ สงวนพวง. 2550. ผลของกรดอินทรีย์ต่อการเกิดสีน้ำตาลและคุณภาพของกะหล่ำดอกตัดแต่งพร้อมบริโภค. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรพิเศษ. 38(5): 82- 86.
- ภัทรวดี ศรีปัญญา และบุษกร ทองใบ. 2553. ผลของสารสกัดข่าร่วมกับกรดอะซิติกต่อการลดปริมาณ *Escherichia coli* O157:H7 ปนเปื้อนบนผักชี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 39 (3 พิเศษ) : 303-306.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ภัทรพรพรรณ จรุงรัตน์สกุล. 2553. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวของ
สตอร์เบอร์รี่สดด้วยน้ำส้มสายชูหมัก. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาวิชาสาขาวิชาการอาหาร.
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- กวนาท นนทรีย์. 2540. มะม่วง. โครงการหนังสือเกษตรชุมชน, กรุงเทพมหานคร. 120 น.
- มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด. 2545. มารู้อัจฉกรงานวิจัยมะม่วงไทย. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.ku.ac.th/e-magazine/april45/agri/mango.html> (10 เมษายน 2560).
- มณฑล เลิศคนฉนวนิชกุล. 2557. การศึกษาการปนเปื้อนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม เอสเชอริเชียโคไล
และซัลโมเนลลา. วารสารการส่งเสริมสุขภาพและอนามัยสิ่งแวดล้อม. 39 (2) : 108-115.
- ศักยะ สมบัติไพรวน เทวรัตน์ ตรีอำนรรค และกระวี ตรีอำนรรค. 2555. ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับ
ระยะการสุกของมะม่วงน้ำดอกไม้หลังการเก็บเกี่ยว. วารสารสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่ง
ประเทศไทย. 18(1): 52-58.
- ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติ สหรัฐอเมริกา. 2563. Liver Abscess Caused by Infection
with Community-Acquired *Klebsiella quasipneumoniae* subsp. *Quasipneumoniae*.
[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/3/15-1466_article
(1 พฤศจิกายน 2563).
- สายชล เกตุษา. 2558. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีของการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. สำนักส่งเสริมและ
ฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม. 347 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2563. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศ ปี 2562.
[ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/journal/2563/tradestat62.pdf> (15 เมษายน 2563).
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2551. ญ่ปุ่นนิยมมะม่วงสุก. [ระบบ
ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.acfs.go.th/news_detail.php?ntype=07&id=1615. (10
เมษายน 2560)
- สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย
ศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร กรุงเทพฯ.
- สมหวัง ด่านชัยวิจิตร. 2544. โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล. แอล ทีเพรส, กรุงเทพมหานคร. 1-16.
- อนุสรณ์ แผล้หมาน. 2551. ผลของไอส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูจากข้าวไร้ต่อเชื้อ *Aspergillus*

fumigatus ที่ปนเปื้อนในพริกไทยดำ. วิทยานิพนธ์สาขาวิชาการจัดการความปลอดภัยอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

- Chukwu, C.O.C., Chukey, I.D., Onyimba, I.A., Umoh, E.G., Olarubofin, F. and Olabode, A.O. 2010. Microbiological quality of pre-cut fruits on sale in retail outlets in Nigeria. *African Journal of Agricultural Research*. 5(17): 2272-2275.
- Danchaivijitr S., Judaeng T. and Sripalakij S. 2006. Prevalence of nosocomial infection in Thailand. *Journal of the Medical Association of Thailand*. 90(8): 1524-1529.
- Doyle, M.P. and Padhye, V.S. 1989. *Escherichia coli*. In *Foodborne Bacterial Pathogens*. Doyle, M.P (ed.). Marcel Dekker, New York.
- Faith, Y. 1994. Initial preparation, handling and distribution of minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In R. Wiley (ed), *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Chapman and Hall, USA. 15-65.
- FDA-BAM online. 2001. *Bacteriological Analytical Manual*. Chapter 3 Aerobic Plate Count. Retrieved from <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063346.html>.
- Gauthier, F. and Archibald, F. 2001. The ecology of “fecal indicator” bacteria commonly found in pulp and paper mill water systems. *Water Research*. 35(9): 2207-2218
- Gurbutt, J., 1997. *Essential of Food Microbiology*. Arnold, London. 54-78.
- 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., Teeraruk M. and Laosinwattana C. 2015. Liquid and vapor-phase vinegar reduces *Klebsiella pneumoniae* on fresh coriander. *Food Control*. 50: 502-508.
- Laurila, E. and Ahvenainen, R. 2002. Minimal processing in practice. In: T. Ohlsson, and N. Bengtsson (eds.). *Minimal Processing Technologies in the Food Industry*. Woodhead Publishing, UK.
- Long S.W., Linson S.E., Saavedra M.O., Cantu C., Davis J.J., Brettin T. and Olsen R.J. 2017. Whole-Genome Sequencing of Human Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates Reveals Misidentification and Misunderstandings of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, and *Klebsiella quasipneumoniae*. *American Society for Microbiology*. 2(4): 290-317

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Mahfuza, I., Arzina, H., Kamruzzaman, M., Afifa, K., Afzal, H., Rashed, N. and Roksana, H. 2016. Microbial status of street vended fresh-cut fruits, salad vegetables and juices in Dhaka city of Bangladesh. *International Food Research Journal*. 23(5): 2258-2264.
- Mathers, A.J., Crook D., Vaughan A., Barry K.E., Vegesana K., Stoesser N., Parikh H.I., Sebra R., Kotay S., Walker A.S. and Sheppard E. 2019. *Klebsiella quasipneumoniae* Provides a Window into Carbapenemase Gene Transfer, Plasmid Rearrangements, and Patient Interactions with the Hospital Environment. *American Society for Microbiology*. 6(63): 13-18.
- Mukherjee, S.K. 1997. Introduction: Botany and importance, In *The mango: Botany, production, and uses*. R. E. Litz (ed.). CAB International, Wallingford, UK.1-19
- Nacisco, J. and Plotto, A. 2005. A comparison of sanitation system for fresh-cut mango. *HortTechnology*. 15(4): 837-842.
- Ngarmsuk, M., Ngarmsul, T., Ooraikul, B., Delaquis, P.J., Toivonen, P.M. and Mazza, G. (2005). Effect of sanitation treatments with heated, chlorinated water on the microbiology of fresh-cut Thai mangoes. *Acta Horticulturae*, 682: 1895-1899.
- Pornpukdeewattana, S., Kerdpi boon, 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.
- Poubol, J. and Izumi, H. 2005. Physiology and microbiological quality of fresh-cut mango cubes as affected by high-O₂ controlled atmospheres. *Food Science*. 70(6): 286-291.
- Rattanapanone, N., Lee, Y., Wu, T. and Watada, A.E. 2001. Quality and microbial changes of quality of fresh-cut mango cubes held in controlled atmosphere. *HortScience* 36(3): 1091-1095.
- Sholberg, P., Shephard, T., Randall, P. and Moyls, L. 2004. Use of measured concentrations of acetic acid vapour to control postharvest decay in d'Anjou pears. *Postharvest Biology Technology*. 32: 89-98.
- Tomas, J. M., Benedi, V.J., Ciurana, B. and Jofre, J. 1986. Role of capsule and O antigen in

- resistance of *Klebsiella pneumoniae* to serum bactericidal activity. *Infection and Immunity*. 54: 85-89.
- Tzortzakis, N.G. 2010. Ethanol, vinegar and *Origanum vulgare* oil vapor suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit and vegetables. *Food Microbiology*. 142: 14-18.
- Wiley, R.C. 1993. Introduction to minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In: R.C. Wiley (ed). *Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables*. Chapman & Hall, USA. 10-11.
- Xiao, Z., S. Dai, H., Zhu, J., Yu, H., Tian, H. and Gu, Y. 2011. Discrimination of Chinese vinegars based on headspace solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry of volatile compounds and multivariate analysis. *Journal of Food Science*. 76(8):1125-1135.
- Yu, T., J. Chen, B. Huang, D. Liu and X. Zheng. 2008. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in apple fruit *Cryptococcus laurentii* and indole-3-acetic acid. *Biological Control*. 116: 339-345.

ภาคผนวก ก.

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

ก.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Diluent (Merck, ประเทศเยอรมัน)

Peptone	1.0	กรัม
---------	-----	------

ชั่ง Peptone 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เทใส่หลอดทดลอง หลอดละ 9 มิลลิลิตร หรือขวดๆ ละ 225 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

2. Tryptic Soy Broth (TSB) (Himedia, ประเทศอินเดีย)

Casein enzymic hydrolysate	17.0	กรัม
Papanic digest of soyabean meal	3.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Dipotassium phosphate	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม

ชั่ง TSB 30 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ทำให้ละลายด้วยความร้อนเพื่อละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่า pH 7.3±0.2

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

Pancreatic digest of casein	15.0	กรัม
Papaic digest of soybean meal	5.0	กรัม
Sodium Chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่ง TSA 40 กรัม ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ทำให้ละลายด้วยความร้อนเพื่อละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที ปรับค่า pH 7.3±0.1

4. Lauryl Sulfate Tryptose Broth (LST) (Merck, ประเทศเยอรมัน)

Tryptose	20.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Sodium lauryl sulfate	0.1	กรัม
Di-potassium hydrogen phosphate	2.75	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	2.75	กรัม

ชั่งอาหาร LST 35.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 6.8±0.2 ปิเปตลงในหลอดทดสอบ หลอดละ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดดักก๊าซ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

5. Brilliant Green Broth (BGB) (Merck, ประเทศเยอรมัน)

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

ชั่งอาหาร BGB 40.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 6.9±0.2 ปิเปตลงในหลอดทดสอบ หลอดละ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดดักก๊าซ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

6. EC broth (Merck, ประเทศเยอรมัน)

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

ซั่งอาหาร EC 37 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 6.9 ± 0.2 บีบลงในหลอดทดสอบ หลอดละ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดคักก๊าซ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

ก.2 การเตรียมสารละลาย

1. Butterfield's Phosphate-Buffered

Potassium Dihydrogenphosphphate (KH_2PO_4)	34	กรัม
น้ำกลั่น	500	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)		

นำ potassium dihydrogenphosphphate ละลายในน้ำกลั่น 500 กรัม ปรับ pH ให้ได้ 7.2 ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และ ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

การเจือจาง Butterfield's Phosphate-Buffered

Butterfield's Phosphate-Buffered	1.25	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำ Butterfield's Phosphate-Buffered และน้ำกลั่นปรับให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร ใส่ขวดคูแลน 90 มิลลิลิตร (สำหรับเจือจางตัวอย่างอาหาร 10 กรัม) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

2. Tryptone

ละลาย Tryptone 10 กรัม ให้เข้ากันในน้ำกลั่น ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปิเปตลงในหลอดทดสอบ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C (ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

3. Kovac's

ละลาย *p*-Dimethylaminobenzaldehyde 10 กรัมและ Isobutyl alcohol,95% 150 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน จากนั้นค่อยๆเติม hydrochloric acid 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เก็บสารละลายในขวดสีชา

4. methyl red

ละลายสี methyl red 0.8 กรัม ใน 95% ethanol 300 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

5. α -naphthol solution

ละลาย α -naphthol 10 กรัม ใน 95% ethanol 100 มิลลิลิตร

6. 40% KOH

ละลาย Potassium hydroxide 20 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข.

การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสาร

ข.1. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชู

คำนวณโดยใช้วิธีไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 M ด้วยตัวอย่างน้ำส้มสายชู 6 มิลลิลิตร แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\% \text{กรด} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH (M)} \times \text{ปริมาตรที่ไทเทรตได้} \times \text{มวลโมเลกุลกรด} \times 100}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง} \times 100}$$

ข.2. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกที่เข้าไปในระบบกล่องรมไอ

ข.2.1 การหาปริมาณสารกรดอะซิติก

กรดอะซิติกมีมวลโมเลกุล 60 กรัม/โมล

กล่องรมไอมีปริมาตร 37.5 ลิตร

ปริมาณกรดอะซิติกที่เข้าไปในระบบ A กรัม

*ปริมาณกรดอะซิติกที่เข้าไปในระบบหาได้จากการชั่งปริมาณกรดอะซิติกที่หายไป (weight loss) แล้วคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

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

ภาคผนวก ค.

ผลการทดสอบยืนยันสปีชีส์เชื้อชนิด

ด้วยวิธี Single Strand 16s rDNA sequencing จากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพ (ไบโอเทค) ประเทศไทย

ลำดับที่ No.	รหัสตัวอย่าง Code	วิธีการจำแนกชนิด Method of identification	มีความใกล้เคียงกับ Closely related with	% ความเหมือน % similarity	หมายเหตุ Note
1	MG33	Single strand 16S rDNA sequencing	<i>Klebsiella</i> sp.	-	The BLAST search result of 16S rDNA sequence against the database showed that the bacterial sample had highest similarity with <i>Klebsiella pneumoniae</i> 99.7% (attachment 3). However, the result of phylogenetic analysis of the 16S rDNA compared with closely related type strains could not discriminate <i>Klebsiella pneumoniae</i> and <i>Klebsiella quasipneumoniae</i> clearly from each other's. So, the identification at species level of this strain should be confirmed by additional identification methods.

เอกสารแนบ / Attachment:

- (1) วิธีการวิเคราะห์ / Analytical method
- (2) ลำดับนิวคลีโอไทด์ / nucleotide sequence (s)
- (3) ข้อมูลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ / Sequence similarity
- (4) ภาพความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ / Phylogenetic relationship
- (5) เอกสารแนบอื่นๆ / other document

ลำดับนิวคลีโอไทด์
Nucleotide sequence(s)

ลำดับที่ No.	รหัสตัวอย่าง Sample No.	บริเวณของลำดับนิวคลีโอไทด์ Nucleotide region of	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5' -> 3') Nucleotide sequence (5' -> 3')
1	MG33	16S rDNA	<pre> >MG33 CAGATTGAAAGCTTGGCCGAGAGCCATAGCAGTGGAGTGGAGGAGTACACAGAGAGCCTTCTCTGGGTGACGAGCGGCGG ACGGTGGTAACTCTTGGGAACTGCTGGTGGAGGAGTAACTACTGGAAAGGTAAGCTAATACCCGATAACTGCGAA GACGAAATGGGGGACCTTGGGCGCTGATGCGCATCAGATGTGGCCGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGTAAGCGGCTCACC TAGGGGAGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACAGCCACACTGGAACTGAGACAGGCTCCAGACTCCCTACGGGAGGAG CAGTGGGGAATATTGCACAAATGGGGCAAGCCTGATCCAGGATGGCCGCTGTGTGAAGAGGCGCTTGGGTTGTAAGCAC TTTCAGGGGAGG TTTCAGGGGAGG CAGCAGCCGCGGTAATAGG GATGTGAATCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCACTTCGAACTGGCAGGCTTGAAGCTTTGTAGAGGGGGTAGAATTCAG GTGTAGCGGTGAAATGCTGTAGAGATTGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG GAAAGCGTGGGAGG GCGTGGCTTCCGGGTTAAGCGGTTAAGTCCAGCGCTGGGGAGTACGGCCCGAGGTTAAACTCAAAATGAATGACGGGG GCGCGCAAGCGGTTGAGCATGTGGTTTAACTCGATGCAACGGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG CAGAGATGCTTTGGTCCCTTGGGAACTGTGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG AGTCCCGCAACGAGCGCAACTTATCCCTTTGTTGCCAGCGGTTCCGGCGGAGACTCAAGGAGAGCTGCCAGTGATAAAGT GAGG AAGCGACCTCCGAGAGG GAATCGCTAGTAACTAGATCAGAAATGCTACGGTGAATACGTTCC </pre>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์
Comparison of nucleotide sequences with reference strain(s)

Strain: MG33

Rank	Name	Strain	Authors	Accession	Pairwise Similarity(%)	Mismatch/ Total nt
1	<i>Klebsiella quasipneumoniae</i> subsp. <i>similipneumoniae</i>	07A044	Brisse et al. 2014	CBZR010000040	99.70	4/1355
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i>	ATCC 13884	(Trevisan 1887) Oerskov 1984	ACZD01000038	99.63	5/1355
3	<i>Klebsiella quasipneumoniae</i> subsp. <i>quasipneumoniae</i>	01A030	Brisse et al. 2014	HG933296	99.63	5/1350
4	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	DSM 30104	(Schroeter 1886) Trevisan 1887	AJJI01000018	99.48	7/1355
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>ozaenae</i>	ATCC 11296	(Abel 1893) Oerskov 1984	Y17654	99.33	9/1349
6	<i>Klebsiella variicola</i>	DSM 15968	Rosenblueth et al. 2004	CP010523	99.26	10/1355
7	<i>Klebsiella singaporensis</i>	LX3	Li et al. 2004	AF250285	99.06	12/1271
8	<i>Enterobacter aerogenes</i>	KCTC 2190	Hormaech and Edwards 1960	CP002824	98.60	19/1355
9	<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>dissolvens</i>	LMG 2683	(Rosen 1922) Hoffmann et al. 2005	Z96079	98.52	20/1353
10	<i>Klebsiella granulomatis</i>	KH 22	(Aragao and Vianna 1913) Carter et al. 1999	AF010251	98.52	20/1348
11	<i>Klebsiella michiganensis</i>	W14	Saha et al. 2013	JQ070300	98.37	22/1346
12	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	ATCC 33241	(Urosevic 1966) Dickey and Zumoff 1988	FYBA01000020	98.30	23/1355
13	<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i>	ATCC 13047	(Jordan 1890) Hormaech and Edwards 1960	CP001918	98.30	23/1355
14	<i>Yokenella regensburgei</i>	ATCC 49455	Kosako et al. 1985	JMPS01000045	98.15	25/1355
15	<i>Enterobacter bugandensis</i>	EB-247	Dojrad et al. 2016	FYBI01000003	98.15	25/1355
16	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	ATCC 33435	Farmer et al. 1981	AF310218	98.08	25/1303
17	<i>Enterobacter ludwigii</i>	EN-119	Hoffmann et al. 2005	JTLO01000001	98.08	26/1355
18	<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	(Braak 1928) Werkman and Gillen 1932	ANAV01000046	98.08	26/1355
19	<i>Erwinia aphidicola</i>	DSM 19347	Harada et al. 1998	AB273744	98.08	26/1355
20	<i>Raoultella electrica</i>	1GB	Kimura et al. 2014	AB762091	98.08	26/1353
21	<i>Raoultella terrigena</i>	ATCC 33257	(Izard et al. 1981) Drancourt et al. 2001	Y17658	98.08	26/1353
22	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	JCM 6096	(Sakazaki et al. 1989) Drancourt et al. 2001	AJ251467	98.07	26/1350
23	<i>Enterobacter kobei</i>	JCM 8580	Kosako et al. 1997	MXXD01000003	98.01	27/1355
24	<i>Raoultella planticola</i>	ATCC 33531	(Bagley et al. 1982) Drancourt et al. 2001	JMPP01000074	98.01	27/1355
25	<i>Lelliottia amnigena</i>	NBRC 105700	(Izard et al. 1981) Brady et al. 2013	BCNNO1000001	98.01	27/1355
26	<i>Citrobacter murlinae</i>	CDC 2970-59	Brenner et al. 2000	AF025369	98.01	27/1355
27	<i>Klebsiella oxytoca</i>	JCM 1665	(Flügge 1886) Lautrop 1956	AB004754	98.00	27/1349
28	<i>Serratia ureilytica</i>	NIVA 51	Bhadra et al. 2005	AJ854062	98.00	27/1347
29	<i>Kosakonia oryzodendrophytica</i>	REICA_082	(Hardoim et al. 2015) Li et al. 2016	JF795011	97.96	27/1324
30	<i>Citrobacter europaeus</i>	97/79	Ribeiro et al. 2017	LT615140	97.96	24/1175

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การทดสอบทางประสาทสัมผัส

1. แบบฟอร์มการทดสอบทางประสาทสัมผัสของสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติกกลิ่นมะม่วง

แบบบันทึกผลการทดสอบการให้คะแนนความชอบด้านกลิ่นของสารละลายน้ำส้มสายชูและสารละลายกรดอะซิติก

ชื่อผู้ทดสอบวันที่.....

คำแนะนำ กรุณาดมกลิ่นตัวอย่างแล้วให้คะแนนความชอบในด้านกลิ่นของตัวอย่างสารละลาย ตามคำอธิบายคะแนนต่อไปนี้

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

รหัสตัวอย่าง	คุณลักษณะของตัวอย่าง กลิ่น	การยอมรับ ตัวอย่าง
A		<input type="checkbox"/> ยอมรับ <input type="checkbox"/> ไม่ยอมรับ เพราะ.....
B		<input type="checkbox"/> ยอมรับ <input type="checkbox"/> ไม่ยอมรับ เพราะ.....
C		<input type="checkbox"/> ยอมรับ <input type="checkbox"/> ไม่ยอมรับ เพราะ.....

ขอขอบคุณที่สละเวลาทำแบบสอบถาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. แบบฟอร์มการทดสอบทางประสาทสัมผัสของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

แบบบันทึกผลการทดสอบการให้คะแนนความชอบของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภค

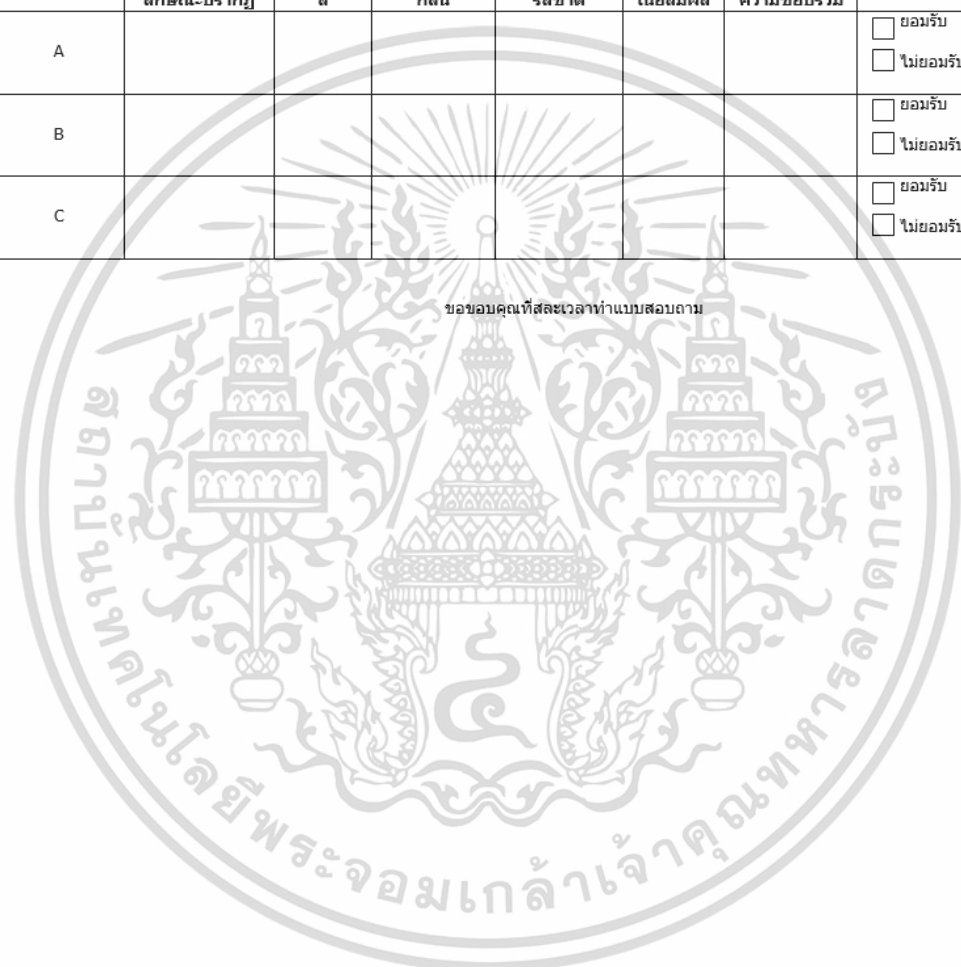
ชื่อผู้ทดสอบวันที่.....

คำแนะนำ ทดสอบตัวอย่างมะม่วงแล้วให้คะแนนความชอบแต่ละคุณลักษณะของมะม่วงตัดแต่งพร้อมบริโภคตามคำอธิบายคะแนนต่อไปนี้และกรณานำวนปากระหว่างตัวอย่าง

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

รหัสตัวอย่าง	คุณลักษณะของตัวอย่าง						การยอมรับ ตัวอย่าง
	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม	
A							<input type="checkbox"/> ยอมรับ <input type="checkbox"/> ไม่ยอมรับ เพราะ.....
B							<input type="checkbox"/> ยอมรับ <input type="checkbox"/> ไม่ยอมรับ เพราะ.....
C							<input type="checkbox"/> ยอมรับ <input type="checkbox"/> ไม่ยอมรับ เพราะ.....

ขอขอบคุณที่สละเวลาทำแบบสอบถาม












เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.

ผลศึกษาการรมไอน้ำส้มสายชูและไอกรดอะซิติกแก่มะม่วงตัดแต่งพร้อมบรีโกล

ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

สภาพที่ศึกษา	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)		
	0	3	5
C			
V-URV			
V-PAA			

หมายเหตุ C = มะม่วงตัดแต่งพร้อมบรีโกลชุดควบคุมที่ไม่ได้ผ่านรมไอ;
 V-URV = มะม่วงตัดแต่งพร้อมบรีโกลที่ผ่านการรมไอน้ำส้มสายชู;
 V-PAA = มะม่วงตัดแต่งพร้อมบรีโกลที่ผ่านการรมไอกรดอะซิติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว มินท์ธิดา นาทอง
วัน เดือน ปีเกิด	24 มีนาคม 2535
ที่อยู่	170/108 หมู่บ้านเกษรคลาสสิกโฮม ถนนเสรีไทย 81/2 แขวงคันนายาว จ.กรุงเทพมหานคร 10250
ประวัติการศึกษา	2557 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 2562 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการความปลอดภัยอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	2558-ปัจจุบัน ฝ่าย Sensory Evaluation บริษัท ซีพี ออลล์ จำกัด (มหาชน) 2557-2558 ฝ่ายประกันคุณภาพและควบคุมคุณภาพ บริษัท สยามร่วมมิตร จำกัด
ผลงานวิจัย	ผลงานวิชาการ Nathong, M., Jindaprasert, A., Sriphochanart, W. and Krusong, W. 2019. Growth inhibition of <i>Klebsiella quasipneumoniae</i> contamination on fresh-cut mango by vapor-phase vinegar and pure acetic acid. Proceedings on 31 st Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conferenc (TSB2019), Pathong, Phuket, 10-12 November 2019, pp. 663-672.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้