สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

**ผลของการใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไส้เอแคลร์**

**(Effect of mango peel extracts on *Staphylococcus aureus* in E'clair cream)**

จัดทำโดย

นางสาวชัชรินทร์ คงประเสริฐ รหัสนักศึกษา 47040194

นางสาวสุนทรี ตันพิสัยไพสิฐ รหัสนักศึกษา 47040218

นายปรัชญา คำภาษา รหัสนักศึกษา 47040845

เลขหมู่ 2550

เลขทะเบียน 85377

วัน,เดือน,ปี 11 พ.ย. 2551

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 23 /พ.ค./ 51 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

( รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b 12010686

i

นางสาวชัชรินทร์ คงประเสริฐ นางสาวสุนทรี ตันพิสัยไพสิฐ และนายปรัชญา คำภาษา
ผลของการใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไส้เอแคลร์
ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวิฒน์

## บทคัดย่อ

จากการนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้ครีมเอแคลร์จาก 5 ร้าน คือ ห้างบิ๊กซี สำโรง, ตลาดชัยวิวัฒน์ สำโรง, ตลาดกิ่งแก้ว, ตลาดบางเสาธง และตลาดหัวตะเข้ มาทำการตรวจสอบหาเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบว่าระยะในการเก็บรักษามีผลต่อการเจริญของเชื้อขึ้นและอุณหภูมิตู้เย็นช่วยชะลอการเจริญของเชื้อได้ จากนั้นจึงนำเชื้อ *S. aureus* ที่ได้ไปทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase พบว่ามี 3 ตัวอย่างที่พบการสร้าง coagulase positive ซึ่งสามารถผลิตสารพิษ enterotoxin นั่นคือ ห้างบิ๊กซี สำโรง, ตลาดชัยวิวัฒน์ สำโรง และตลาดกิ่งแก้ว จากนั้นจึงนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100, 150 และ 200 mg/g มาทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* บนแผ่นกระดาษซับกลม (paper disc) พบว่าเริ่มยับยั้งตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้น ขนาดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางก็มากขึ้นด้วย แสดงว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้นก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีขึ้นด้วย จากนั้นจึงนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงมาผสมในไส้เอแคลร์เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยเลือกใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 25 และ 50 mg/g เนื่องจากเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ พบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/g มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่า และเมื่อทำการทดสอบความแตกต่างโดยการประเมินทางประสาทสัมผัสโดยการทดสอบกลิ่นและรสชาติพบว่าไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงความเข้มข้น 50 mg/g ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วง แต่การทดสอบสีพบว่าไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงความเข้มข้น 50 mg/g สีที่เข้มกว่าไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดจนผู้ทดสอบสังเกตได้และไม่เป็นที่ยอมรับ

| | | |
|---|---|---|
| ชัชรินทร์ คงประเสริฐ<br>สุนทรี ตันพิสัยไพสิฐ<br>ปรัชญา คำภาษา | อดิศร | 23 พ.ค. 51 |
| ลายมือชื่อนักศึกษา | ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา | วัน เดือน ปี |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

ในการเสนอปัญหาพิเศษเรื่อง ผลของการใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไส้เอแคลร์ (Effect of mango peel extracts on *Staphylococcus aureus* in E'clair cream) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ซึ่งเป็นที่ปรึกษาปัญหาพิเศษของข้าพเจ้าในครั้งนี้ และ ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม ซึ่งเป็นกรรมการสอบปัญหาพิเศษ ที่ได้สละเวลาให้ความรู้ คำปรึกษา ข้อเสนอแนะต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง รวมทั้งการตรวจสอบแก้ไขรายงานปัญหาพิเศษเล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวก และข้อเสนอแนะต่างๆ ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

นอกจากนี้ ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและคอยเอาใจใส่ ช่วยให้การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณเพื่อนๆ ที่ช่วยให้คำแนะนำจนรายงานฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

นางสาวชัชรินทร์ คงประเสริฐ
นางสาวสุนทรี ตันพิสัยไพสิฐ
นายปรัชญา คำภาษา
15/พฤษภาคม/2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| เรื่อง | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อ | ก |
| กิตติกรรมประกาศ | ข |
| สารบัญ | ค |
| สารบัญตาราง | จ |
| สารบัญภาพ | ฉ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ | |
| 2.1 คุณภาพอาหารทางจุลชีววิทยา | 2 |
| 2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพอาหาร | 3 |
| 2.3 *Staphylococcus aureus* | 4 |
| 2.4 *S. aueus* ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ | 6 |
| 2.5 มะม่วง | 7 |
| 2.6 สารสกัดจากเปลือกมะม่วง | 7 |
| 2.7 สารประกอบฟีนอลิค | 8 |
| 2.8 ประโยชน์ของสารประกอบโพลีฟีนอล | 8 |
| 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะม่วง | 9 |
| 2.10 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์ | 9 |
| 2.11 การทดสอบความไวเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ | 10 |
| บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง | 12 |
| บทที่4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง | |
| 4.1 ผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในไส้ครีมเอแคลร์จากร้านเบเกอรี่โดย เปรียบเทียบอุณหภูมิในการขายเอแคลร์ระหว่างอุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิตู้แช่เย็น | 18 |


เอกสารนี้เป็นที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase ของเชื้อ *S. aureus*..... 20
4.3 การศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วง..... 22
4.4 การนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงไปใช้ในไส้ครีมเอแคลร์..... 23
4.5 ผลของการทดสอบความแตกต่างโดยการประเมินทางประสาทสัมผัส..... 25
บทที่ 4 บทสรุป..... 27
บรรณานุกรม ..... 29
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก..... 31
ภาคผนวก ข..... 35
ภาคผนวก ค..... 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


**ตารางที่** **หน้า**

1 การเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในไส้ครีมเอแคลร์จากร้านเบเกอรี่ที่ระยะเวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน..... 18

2 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase ของเชื้อ *S. aureus* ..... 21

3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นในการทดสอบสมบัติการต้านการเจริญของ *S. aureus* เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง..... 22

4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นในการทดสอบสมบัติการต้านการเจริญของ *S. aureus* เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงภายหลังการบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 22

5 การเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างไส้ครีมเอแคลร์ที่มีระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน..... 24

**ตารางภาคผนวกที่**

1 ค่าต่ำสุดของผู้ทดสอบที่จะต้องเลือกตัวอย่างที่แตกต่างให้ถูกต้อง โดยวิธี Triangle test 36


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | หน้า |
|---|---|
| 1 เชื้อ *Staphylococcus aureus* | 4 |
| 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ไส้ครีมเอแคลร์จาก Big C สำโรงกับระยะเวลาในการเก็บที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น | 19 |
| 3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ไส้ครีมเอแคลร์จากตลาดสำโรงกับระยะเวลาในการเก็บที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น | 19 |
| 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ไส้ครีมเอแคลร์จากตลาดกิ่งแก้วกับระยะเวลาในการเก็บที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น | 19 |
| 5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ไส้ครีมเอแคลร์จากตลาดบางเสาธงกับระยะเวลาในการเก็บที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น | 19 |
| 6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในผลิตภัณฑ์ไส้ครีมเอแคลร์จากตลาดหัวตะเข้กับระยะเวลาในการเก็บที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น | 19 |
| 7 ลักษณะโคโลนีของเชื้อที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ไส้ครีมเอแคลร์เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น | 20 |
| 8 ลักษณะการสร้างเอนไซม์ coagulase ของเชื้อ *S. aureus* | 23 |
| 9 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดจากสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วง | 23 |
| 10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในไส้ครีมเอแคลร์จากการนำไส้ผสมเชื้อและสารสกัดกับระยะเวลาในการเก็บที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น | 24 |
| 11 ความแตกต่างของสีของไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงและไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วง | 26 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

ในปัจจุบันเบเกอรี่จัดเป็นอาหารชนิดหนึ่งที่ผู้คนนิยมบริโภค ผลิตภัณฑ์เอแคลร์ก็จัดอยู่ในอาหารประเภทเบเกอรี่ที่มีผู้นิยมบริโภคจำนวนมากทั้งวัยเด็กและผู้ใหญ่ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ชนิดนี้มีรสชาติอร่อย มีลักษณะเฉพาะตัว และราคาก็ไม่สูงเกินไปนัก ซึ่งผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ผู้ประกอบการมักจะวางจำหน่ายวันต่อวัน เนื่องจากมีอายุการเก็บรักษาสั้น สาเหตุก็คือผลิตภัณฑ์มีความชื้นสัมพัทธ์สมดุลสูงมากกว่าร้อยละ 85 ($a_w$ > 0.85) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ การเสื่อมเสียมักจะเกิดกับไส้เอแคลร์ก่อนเนื่องจากตัวไส้มีค่า $a_w$ สูงกว่าตัวแป้งอยู่มาก อีกทั้งในไส้เอแคลร์มีส่วนผสมของไข่ นม เนย น้ำตาล น้ำและแป้งเป็นส่วนผสมหลัก ซึ่งส่วนผสมเหล่านี้ล้วนแล้วแต่มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยเฉพาะเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค โดยอาจปนเปื้อนจากการที่ผู้ผลิตมีสุขลักษณะในการผลิตที่ไม่ดีพอหรืออาจเกิดจากการปนเปื้อนหลังจากการผลิตก็ได้ การปนเปื้อนของเชื้อ *S. aureus* มีผลให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อผู้ผลิตในแง่ของการจำหน่ายและผู้บริโภคในแง่ของสุขภาพ

ในปัจจุบันมีผู้ทดลองค้นพบวิธีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารชนิดต่างๆ โดยเลือกใช้สารสกัดจากธรรมชาติแทนการใช้สารเคมี เนื่องจากสากสกัดจากธรรมชาติมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภครวมทั้งสิ่งแวดล้อม และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าแก่วัตถุดิบที่นำมาใช้สกัดอีกด้วย ในผลิตภัณฑ์เอแคลร์ก็เช่นเดียวกันคือ ได้มีผู้ทำการทดลองเลือกใช้สารสกัดจากสมุนไพรต่างๆ มายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้นและลดความเสี่ยงจากอันตรายที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค โดยในปัญหาพิเศษนี้ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมาผสมในไส้เอแคลร์ เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus*

**วัตถุประสงค์**

1. เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไส้เอแคลร์
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากเปลืองมะม่วงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ในไส้เอแคลร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# วารสารปริทัศน์

**2.1 คุณภาพอาหารทางจุลชีววิทยา** (จรรยาและรัติยา, 2546)

กระบวนการในการผลิตอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะมักเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารหรือโรคอาหารเป็นพิษต่อผู้บริโภค อันมีผลเนื่องมาจากมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์หรือสารพิษต่างๆ ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นสู่อาหาร โดยที่เชื้อเหล่านี้อาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบหรือขณะทำการผลิตอาหาร

**2.1.1 จุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสุขลักษณะการผลิต (Indicator organism)**

โดยปกติแล้ว จุลินทรีย์เหล่านี้เป็นพวกไม่ก่อให้เกิดโรค (non-pathogenic organisms) แต่มักจะสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค (pathogens) เนื่องจากเชื้อในกลุ่มนี้จะเป็นเชื้อในลำไส้ที่ติดมากับอุจจาระ เช่น coliforms, faecal coliforms และ *Escherichia coli* ซึ่งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคส่วนมากเป็นเชื้อโรคลำไส้ที่ติดมากับอุจจาระด้วยเช่นกัน ดังนั้นการตรวจหาเชื้อในกลุ่ม Indicator organism จึงเป็นการตรวจหาถึงอัตราการเสี่ยงและความเป็นไปได้ของการปนเปื้อนของเชื้อในกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคกับมนุษย์ด้วย

**2.1.2 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic organisms)**

เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่เมื่อผู้บริโภคอาหารที่มีเชื้อเหล่านี้ปนเปื้อนอยู่จะทำให้เกิดโรคหรืออาการผิดปกติที่เกิดขึ้นกับร่างกาย ซึ่งมีหลายกลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ รา ไวรัส พาราสิต เป็นต้น แต่ในที่นี้จะกล่าวเฉพาะแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคโดยมีอาหารเป็นสื่อนำ แบ่งแบคทีเรียเหล่านี้ออกเป็น 2 กลุ่ม ตามลักษณะการเกิดโรค ดังนี้

**2.1.2.1 Bacterial food intoxication** หมายถึง แบคทีเรียที่ปนเปื้อนลงสู่อาหารแล้วสามารถเจริญและสร้างสารพิษออกมาในอาหาร เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีสารพิษนี้อยู่จะทำให้เกิดอาการผิดปกติต่อผู้บริโภคได้ เชื้อที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* และในปัจจุบันยังพบว่าเชื้อ *Cl. perfringens* และ *Bacillus cereus* สามารถก่อให้เกิดโรคในลักษณะ food intoxication ได้ด้วยเช่นกัน

**2.1.2.2 Bacterial food infection** เชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนลงในอาหารแล้วเจริญในปริมาณที่มากพอจนก่อให้เกิดโรค ซึ่งเมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารดังกล่าวแล้วเกิดอาการผิดปกติหรือเกิดการติดเชื้อขึ้น จากสารต่างๆที่เชื้อเหล่านี้ผลิตหรือหลั่งออกมาขณะอยู่ในลำไส้ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Salmonella, Shigella,* Enteropathogenic, *E. coli* และ Vibrios เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวกำหนดคุณภาพอาหาร** (จรรยาและรัติยา, 2546)

โดยทั่วไปในการผลิตอาหารมักจะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในวัตถุดิบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ข้างต้นในปริมาณสูง การใช้กระบวนการผลิตในรูปแบบต่างๆ เช่น การล้างทำความสะอาดวัตถุดิบ การแช่แข็ง การลวกต้ม การใช้ความร้อนในรูปแบบต่างๆ การทำแห้ง การฉายรังสี ฯลฯ จะช่วยยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ให้ลดลงหรือหมดไปได้ ซึ่งการใช้กระบวนการผลิตในรูปแบบต่างๆนั้น มักมุ่งเน้นไปถึงการทำลายจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ทำให้อาหารเน่าเสียในสภาพที่เก็บ ตามแต่ลักษณะของผลิตภัณฑ์ให้ยาวนานขึ้น และผลิตภัณฑ์นั้นมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค การควบคุมการผลิตที่ไม่มีประสิทธิภาพหรือแหล่งผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะจะมีผลทำให้จุลินทรีย์ในกลุ่มต่างๆดังกล่าวกลับเข้าไปปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์อีก ดังนั้น ในการควบคุมคุณภาพทางจุลชีววิทยา มักใช้จุลินทรีย์ที่จะกล่าวถึงเป็นดัชนีบ่งชี้สิ่งต่างๆ ดังต่อไปนี้

**2.2.1 *Enterobacteriaceae* และ *Coliforms***

ถ้าพบเชื้อในกลุ่มนี้ในปริมาณสูงแสดงว่า การปฏิบัติในกระบวนการผลิตไม่เพียงพอที่จะทำลายเชื้อในกลุ่มนี้ให้หมดไปได้ เช่น ให้ความร้อนไม่เพียงพอ วัตถุดิบมีเชื้อปนเปื้อนในปริมาณสูง หรืออาจมีการปนเปื้อนภายหลังโดยเฉพาะอย่างยิ่ง จากแหล่งผลิตที่มีสุขลักษณะส่วนบุคคลและโรงงานไม่ดีเกิดการปนเปื้อนจากอุปกรณ์ที่ล้างไม่สะอาด เกิด food handling จากมือของผู้สัมผัสอาหาร เป็นต้น นอกจากนี้การตรวจพบเชื้อดังกล่าวในอาหาร ยังแสดงถึงอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคทางเดินอาหารจากจุลินทรีย์ทั้งในแบบ food infection และ food intoxication กับผู้บริโภคอาหารด้วย

**2.2.2 *Escherichia coli***

เป็นตัวบ่งชี้ว่ามีการปนเปื้อนของอุจจาระเพราะเชื้อดังกล่าวพบมากในลำไส้ของคนและสัตว์ การตรวจพบเชื้อนี้แสดงให้เห็นถึงสุขลักษณะของการผลิตที่ไม่ดี นอกจากนี้การตรวจพบเชื้อ *E. coli* ยังเป็นตัวบ่งชี้ถึงโอกาสที่จะมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคทางเดินอาหารอื่นๆ เช่น *Salmonella, Shigella* เป็นต้น ซึ่งเป็นเชื้อที่พบในลำไส้ของคนและสัตว์เช่นเดียวกัน

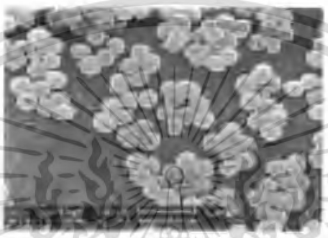
**2.2.3 Coagulase positive staphylococci**

เป็นตัวบ่งชี้ถึงว่าโรงงานผลิตมีสุขลักษณะส่วนบุคคลในการผลิตที่ไม่ดี เกิด food handling ในระหว่างการผลิตอาหาร เพราะเชื้อนี้พบมากตามผิวหนัง จมูก ลำคอของมนุษย์ จัดว่าเป็น skin index microorganism คือ ถ้าพบเชื้อนี้ในอาหารมักจะบอกได้ว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจากผู้สัมผัสอาหารในขณะผลิต นอกจากนี้ ถ้าตรวจพบเชื้อนี้ในปริมาณมากในอาหาร ผู้บริโภคอาจเกิดโรคอาหารเป็นพิษในแบบ food intoxication ได้ เนื่องจากเชื้อในกลุ่มนี้จะผลิตสารที่เรียกว่า enterotoxin ขณะที่เจริญในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.3 *Staphylococcus aureus***

**2.3.1 ลักษณะทั่วไป** เชื้อชนิดนี้ เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้นๆ เป็นกิ่งหรือเป็นลักษณะพวงองุ่น เป็นแบคทีเรียแกรมบวกบางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษที่เป็นโปรตีนซึ่งทนต่อความร้อนได้ดี และเป็นสาเหตุให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ซึ่งโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *S. aureus* นั้นมีชื่อเรียกคือ Stapyhloenterotoxicosis หรือ Staphylorenterotoxemia



**ภาพที่ 2.1** เชื้อ *Staphylococcus aureus*
ที่มา : L'Escholier de la Sorbonne (2006)

**2.3.2 สาเหตุที่ทำให้เกิดโรค** เชื้อ *S. aureus* จะมีชีวิตอยู่ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหารและนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ สภาวะแวดล้อมภายนอกมนุษย์และสัตว์ ซึ่งมนุษย์และสัตว์นั้นเป็นแหล่งปฐมภูมิของเชื้อชนิดนี้โดยจะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือ เส้นผมและผิวหนังถึง 50 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่านี้ในคนที่มีสุขภาพดีและอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80% ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาลตลอดจนผู้ประกอบอาหาร รวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมภายนอกนั้นก็เป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกอย่างหนึ่งก็คือการเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม เป็นผลให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้วมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อและสร้างสารพิษอย่างรวดเร็วเมื่อไม่นานมานี้มีเด็กประถม 1,364 คน ที่ป่วยจากจำนวนเด็กทั้งหมด 5,842 คนที่รับประทานอาหารกลางวันที่โรงเรียนแห่งหนึ่งในรัฐ Texas ซึ่งอาหารกลางวันนั้นได้เตรียมโดยห้องครัวกลาง แล้วจะนำอาหารไปส่งยังโรงเรียนด้วยรถบรรทุก การเกิดโรคระบาดของเด็กนักเรียน

ในครั้งนี้มีจำนวนเด็กที่ป่วยคิดเป็น 95% ของเด็กที่รับประทานสลัดไก่ ในตอนบ่ายของวันนั้น ไก่แช่แข็งจะถูกนำมาต้มให้เดือดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากให้ความร้อนแล้ว ไก่จะถูกนำมาถอดกระดูก ใช้พัดลมเป่าเพื่อลดอุณหภูมิให้เท่ากับอุณหภูมิห้อง ทำเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปใส่ไว้ในถาดลึก 12 นิ้ว หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ข้ามคืนในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 42-45 องศาฟาเรนไฮน์ และในตอนเช้าไก่จะถูกนำมาผสมกับส่วนผสมของสลัดแล้วสับผสมด้วยเครื่องสับผสมไฟฟ้าอาหารจะถูกจัดใส่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาชนะที่ควบคุมอุณหภูมิและกระจายไปยังโรงเรียนต่างๆในเวลา 9.30-10.30 น. หลังจากนั้นมันจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะถึงเวลาเสิร์ฟคือ 11.30-12.00 น. และจากการตรวจหาจำนวนแบคทีเรียในช่วงนี้พบว่ามีเชื้อ *S. aureus* เจริญอยู่ในอาหารเป็นจำนวนมากเลยทีเดียว

มีความเป็นไปได้ที่ไก่จะมีการปนเปื้อนของเชื้อในระหว่างที่ทำการถอดกระดูกและมีโอกาสที่เชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนไปจะเจริญ และเพิ่มจำนวนขึ้นในระหว่างการรอเสิร์ฟขณะที่เก็บอยู่ที่อุณหภูมิห้อง

**2.3.2 อาการของโรค** ลักษณะอาการที่บ่งบอกว่าติดเชื้อ *S. aureus* นั้นจะแสดงให้เห็นอย่างรวดเร็วและรุนแรงในหลายๆกรณี โดยทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย อาการทั่วไปที่พบคือผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ในผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการอื่นแทรกซ้อน หลายรายจะมีอาการปวดหัว เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน

**2.3.4 ปริมาณการติดเชื้อ** สามารถเกิดอาการได้เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษน้อยกว่า 1 ไมโครกรัมที่ปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งสารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อถึง 100,000 ต่อกรัมอาหารการวินิจฉัยอาการป่วยในคนและวิธีการตรวจเชื้อ *S. aureus* ที่ได้ผลดีนั้นนิยมใช้วิธี ทางเซรุ่มวิทยา (serology)

**2.3.5 การตรวจสอบอาหาร** อาหารโดยทั่วไปควรมีการตรวจสอบหาความเป็นพิษจากเชื้อ Staphylococcus อยู่เป็นประจำ เช่น เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่อาหารประเภทสลัด เช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีมพาย เอแคลร์ ชอกโกแลต แซนวิช และผลิตภัณฑ์นม สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงในระหว่างการเตรียมอาหารนั้นก็คือ เก็บอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิสูงเป็นสาเหตุให้มีการเพิ่มจำนวนเชื้ออย่างรวดเร็วซึ่งกรณีดังกล่าวเป็นกรณีที่พบได้บ่อยในการเกิดอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *S. aureus*

ในการตรวจหาปริมาณของสารพิษที่สร้างจากเชื้อ *Staphylococcus aureus* เพื่อพิสูจน์ความเป็นพิษของอาหารนั้นจะมีการแยกสารพิษจากส่วนประกอบของอาหารและพิจารณาที่ความเข้มข้นของสารพิษด้วย และต่อมาจะทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีที่มีความจำเพาะสูงขึ้นนั่นก็คือการตกตะกอนด้วยแอนติซีรัมหรือสารต้านสารพิษ (antienterotoxin) โดยมีหลักการ 2 หลักการที่นำมาใช้คือ

1.) การดูดซับของสารพิษที่สกัดได้จากอาหารบนแผ่น ion exchange resin และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.) ใช้หลักการทางเคมีและกายภาพแยกสกัดสารพิษออกจากอาหารให้ได้สารพิษอยู่ในสารละลายที่ใช้สกัด การใช้เทคนิคนี้และการดูความเข้มข้นของสารพิษที่ผลิตขึ้นมา (มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ ) มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ตรวจสอบสารพิษที่มีปริมาณน้อยๆในอาหาร

เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบให้รวดเร็วยิ่งขึ้น โดยอาศัยหลักการของ Monoclonal antibodies เพื่อใช้ในการประเมินประสิทธิภาพในการตรวจสอบความเป็นพิษในอาหารซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็ว สามารถตรวจสอบความเป็นพิษได้แม้ในปริมาณของสารพิษเพียง 1 นาโนกรัม / อาหาร 1 กรัม

**2.3.6 ความถี่ในการเกิดโรค** ไม่มีใครสามารถบอกจำนวนการเกิดโรคที่แท้จริงได้จากการไม่ให้ความร่วมมือในการสัมภาษณ์ของตัวผู้ป่วยและการวินิจฉัยโรคที่ผิดพลาดเนื่องจากอาการที่ผู้ป่วยแสดงออกมีความคล้ายคลึงกับอาการของโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ เช่นอาการอาเจียนคล้ายกับการได้รับสารพิษในอาหารที่สร้างจากเชื้อ *Bacillus cereus* และปัญหาในการวินิจฉัยโรคอื่นๆ คือ การมีตัวอย่างที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการน้อยเกินไป และวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ไม่ถูกต้อง

**2.3.7 โรคแทรกซ้อน** พบว่าผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *S. aureus* นั้นมีน้อยมากรวมทั้งกรณีที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยสูงอายุ เด็กแรกเกิด และผู้ป่วยโรคเบาหวานขั้นรุนแรง

**2.3.8 การป้องกัน** (ศิวาพร ศิวเวชช, 2550)

1. อบรมให้ผู้ประกอบอาหารมีความรู้และเห็นถึงความสำคัญของการรักษาความสะอาดในขณะปรุงอาหารเพื่อเป็นการลดโอกาสการปนเปื้อน
2. รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ๆ
3. นำอาหารที่ปรุงสำเร็จแล้วไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำเพียงพออย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อหากยังไม่รับประทานในทันที
4. อุ่นอาหารให้ร้อนก่อนรับประทานทุกครั้ง

**2.4 *S. aueus* ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่**

ปัจจุบันอาหารประเภทเบเกอรี่ จัดเป็นอาหารที่มีผู้นิยมบริโภคสูงตั้งแต่วัยเด็กจนถึงผู้ใหญ่ และเนื่องจากมีผู้ผลิตหลากหลาย ทำให้หน่วยงานของราชการที่ทำหน้าที่ดูและคุ้มครองความปลอดภัยแก่ผู้บริโภคไม่สามารถเข้าไปดูแลได้อย่างทั่วถึง ที่สำคัญเบเกอรี่เป็นอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำตาล น้ำ ไขมัน เนย แป้ง และผลไม้ ซึ่งวัตถุเหล่านี้ถูกปนเปื้อนจากเชื้อได้ง่าย ดังนั้นถ้าผู้ผลิตไม่ระวัง ไม่รักษาความสะอาด ผลิตไม่ถูกสุขลักษณะ จะทำให้อาหารดังกล่าวมีการปนเปื้อนของเชื้อและเกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษได้ง่าย เช่น เอแคลร์ เนื่องจากเอแคลร์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องทำการใส่ไส้หลังจากกระบวนการอบเพื่อทำให้สุกแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*S. aureus* เป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษชนิดหนึ่งและเป็นเชื้อที่พบได้ทั่วๆไปในอวัยวะส่วนต่างๆของคน โดยเฉพาะส่วนที่มีบาดแผล ดังนั้น ถ้ามีการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อชนิดนี้ จะบ่งบอกถึงการมีสุขลักษณะที่ไม่ดีของผู้ผลิต *S. aureus* ที่มีผลต่อทางเดินอาหารของคนโดยมากเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษได้ (enterotoxin) และเป็นพวกที่ทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ (Coagulation Blood Plasma) เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญและสร้างสารพิษได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 4-47 องศาเซลเซียส ดังนั้น จึงง่ายต่อการปนเปื้อนในอาหารหลายประเภท แต่เนื่องจากเชื้อชนิดนี้ไม่สามารถทนความร้อนได้ การปนเปื้อนของเชื้อจึงมักเกิดขึ้นหลังจากอาหารได้ผ่านความร้อนแล้ว (post processing contamination)

การเกิดโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจากการกินอาหารที่มีสารพิษของ *S. aureus* เรียกว่า Staphylococcus intoxication ซึ่งโดยทั่วไปเชื้อจะสามารถสร้างสารพิษได้ต้องมีจำนวนไม่ต่ำกว่า $10^6$ โคโลนีต่อกรัมของอาหาร จึงทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้ อาการป่วยที่พบโดยทั่วไป คือ มีน้ำลายมาก วิงเวียนศีรษะ อาเจียน ปวดท้อง ท้องร่วง อาจมีมูกเลือดปน

**2.5 มะม่วง (Mango)**

มะม่วง (*Mangifera* L.) เป็นไม้ยืนต้น ชื่อสามัญ แมงโก้ (Mango) อยู่ในวงศ์อนาคาร์ดิอาซีอี (Anacardiaceae) เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ลำต้นตรง มีกิ่งก้านแผ่ออกเป็นทรงพุ่มที่แน่นทึบ ไม่ผลัดใบ มีอายุยืนมากกว่า 100 ปี มะม่วงจัดเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง เนื่องจากปลูกง่าย โตเร็ว นอกจากนี้การรับประทานมะม่วงยังเป็นประโยชน์ให้คุณค่าทางอาหารแก่ร่างกาย เนื่องจากเนื้อมะม่วงประกอบด้วยน้ำตาลร้อยละ 15 โปรตีนร้อยละ 0.5 และอุดมไปด้วยวิตามิน เอ บี และซี (Huxley et al., 1997)

การใช้ประโยชน์ รับประทานผลดิบและผลสุก และแปรรูปเป็นมะม่วงกวน มะม่วงดอง มะม่วงแช่อิ่ม มะม่วงเค็ม น้ำมะม่วง แยมมะม่วง ฯลฯ พันธุ์มะม่วงแยกตามลักษณะการรับประทาน ดังนี้ พันธุ์รับประทานสุก ได้แก่ น้ำดอกไม้ หนังกลางวัน อกร่อง พันธุ์รับประทานดิบ ได้แก่ ทองดำ ฟ้าลั่น เขียวเสวย แรด พันธุ์แปรรูป ได้แก่ สามฤดู แก้ว (นภชลัช, 2549)

**2.6 สารสกัดจากเปลือกมะม่วง**

มะม่วงก็เป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่เหมาะสำหรับเขตร้อน การนำผลผลิตไปเข้ากระบวนแปรรูปของผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ทำน้ำแกงและน้ำซุป น้ำผลไม้ อาหารดอง หั่นเป็นชิ้นบางๆบรรจุกระป๋องและผลิตภัณฑ์อื่นๆ ผลิตภัณฑ์ที่กล่าวมามีอย่างแพร่หลายทั่วโลก ในระหว่างกระบวนการผลิตของผลิตภัณฑ์ต่างๆจากมะม่วง ในส่วนของวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนใหญ่คือส่วนของเปลือกมะม่วง ส่วนของเปลือกมะม่วงโดยทั่วไปจะไม่เป็นที่นิยมที่จะนำไปใช้ให้เป็นประโยชน์ใดๆที่เป็นผลประโยชน์ทางการค้า จากรายงานผลการวิจัยของ Toshihide และคณะ (2000) พบว่าภายในเปลือกจะมีสารที่เป็นประโยชน์มากซึ่งในส่วนของเปลือกนั้นพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิคอยู่ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิคสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคได้ เป็นสิ่งที่น่านำมาใช้ให้เกิดประโยชน์

**2.7 สารประกอบฟีนอลิค (phenolic compounds)** ( ชุลีพร สินธพรัตนะ, 2548)

สารประกอบฟีนอลิค เป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบฟีนอลิคในพืชแต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันออกไป ในปัจจุบันพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิคที่ทราบโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิค (phenolic acid) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น แทนนิน (tannins) ในธรรมชาติสารประกอบฟีนอลิคจะมีโครงสร้างจับอยู่กับโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปที่หมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide)หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) ก็ได้ แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิค คือ กลูโคส (glucose) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นที่พบได้แก่ กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rammnose) ไซโลส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโรนิค (glucoronic acid) กรดกาแลคทิวโรนิค (galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิคกับสารประกอบฟีนอลิคด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิคกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิค (carboxylic acid) กรดอินทรีย์ (organic acid) อะมีน (amine) และไขมันอีกด้วย (นภชลัช, 2549)

**2.8 ประโยชน์ของสารประเภทโพลีฟีนอล**

1. ป้องกันการเกิดเนื้องอก มะเร็ง ด้วยคุณสมบัติต่อต้านออกซิเดชันของสารโพลีฟีนอล
2. ป้องกันโรคหัวใจและเส้นโลหิตในสมองแตก เนื่องจากสารโพลีฟีนอลช่วยลดระดับแอลดีแอลคอเลสเทอรอล (LDL cholesterol) และไตรกลีเซอไรด์ แต่ช่วยเพิ่มระดับ เอชดีแอลคอเลสเทอรอล (HDL cholesterol) ซึ่งเป็นคอเลสเทอรอลที่ช่วยกำจัดเกร็ดเลือดที่เกาะตามผนังเส้นเลือดใหญ่ออกไป
3. ลดความดันโลหิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ลดระดับน้ำตาลในเลือด โพลีฟีนอลช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะมีเลส (amylase) ที่ทำหน้าที่เร่งการย่อยโมเลกุลแป้งไปเป็นน้ำตาล

5. ต่อต้านออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในสมอง โพลีฟีนอลอาจช่วยป้องกันโรคอัลไวเมอร์ (Alzheimer's disease) โดยรวมกับโลหะที่กระตุ้นให้เกิดการสะสม amyloid beta peptide ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี (อาจรวมอลูมิเนียมและแมงกานีสด้วย) ซึ่งทำให้เป็นโรคนี้

**2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะม่วง**

นภชลัช (2549) ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีโอกาสปนเปื้อนในโยเกิร์ต พบว่าเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงดิบ 4 พันธุ์ คือมะม่วงแก้ว มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงเขียวเสวย และมะม่วงฟ้าลั่น มาศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ (*E.coli, S. anatum, S. aureus , L. innocua*) และแบคทีเรียแลคติก 2 สายพันธุ์ (*L. plantarum, P. pentosaceus*) ด้วยวิธีการให้สารที่ทดสอบแพร่ในอาหารวุ้น (agar disc diffusion method) พบว่าสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วให้ผลการยับยั้งดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์อื่นๆ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

Nilgün และคณะ (2003) พบว่าสารประกอบฟีนอลิคที่สกัดได้จากเมล็ดองุ่นที่ระดับความเข้มข้น 20 % สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยตรวจสอบวงใสที่เกิดขึ้นพบว่ามีขนาด 29 มิลลิเมตร

Toshihide และคณะ (2000) พบว่าสารประกอบฟีนอลิคจากเมล็ดมะม่วงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* โดยระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ได้ คือ 1000 ppm.

**2.10 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์** (นภชลัช ยอดพรหม, 2549)

สารต้านแบคทีเรียมีคุณสมบัติ ขอบข่าย และการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้ง หรือทำลายแบคทีเรีย โดยการขัดขวางการสร้างส่วนต่างๆของเซลล์ คือออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ ระดับเยื่อหุ้มเซลล์และสุดท้ายออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึม ( มาลิน, 2540)

**2.10.1 การออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์**

โดยไปยังยั้งการสร้างผนังเซลล์ ทั้งนี้แบคทีเรียและราต่างมีผนังเซลล์ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุดของเซลล์ เป็นชั้นที่แข็งแรง คงทน เพื่อทำหน้าที่ป้องกันสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ แต่ลักษณะโครงสร้างผนังเซลล์ของกลุ่มเชื้อทั้ง 2 ต่างกัน สำหรับแบคทีเรียผนังเซลล์เป็นโครงสร้างที่สำคัญที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ในการจำแนกชนิดของแบคทีเรียตามลักษณะการติดสีแกรม ( gram stain) และการติดสีแบบแอซิด ฟาส์ท ( acid - fast) การย้อมแบคทีเรียด้วยวิธีแบบแรก ทำให้สามารถแบ่งแบคทีเรียเป็น 2 พวก คือ แบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียทั้งสองพวกนี้มีโครงสร้างพื้นฐานของผนังเซลล์เป็นเปปติโดไกลแคน ( peptidoglycan ) แบคทีเรียแกรมบวก มีส่วนนี้หนามากกว่าพวกแกรมลบ แต่พวกแกรมลบมีส่วนของไลโพโพลีแซคคาร์ไรด์ ( lipopolysaccharide ) หุ้มรอบอีกชั้นหนึ่ง สารต้านจุลินทรีย์ชนิดที่มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์เปปติโดไกลแคน ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ไม่แข็งแรง แบคทีเรียแบ่งตัวไม่ได้ ได้แต่ยืดออก และเกิดรูที่ผนังเซลล์ ทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ไหลออกมาภายนอก และแตกในที่สุด

**2.10.2 การออกฤทธิ์ที่ระดับเยื่อหุ้มเซลล์**

โดยสารต้านแบคทีเรียจะไปรบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ เนื้อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่ถัดจากผนังเซลล์เข้ามา หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์โดยทั่วไปคือเป็น osmotic barrier ที่ช่วยป้องกันไม่ให้สารต่างๆ เข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป อีกทั้งยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับ electron transport และเข้าไปแทรกระหว่างโปรตีนและไลปิดของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการฉีกขาด เป็นผลให้สารในไซโตพลาสซึมไหลออกมา

**2.10.3 การออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึม**

โดยทั่วไปยับยั้งการนำไทมีน ( thymine ) เข้าจับกับนิวคลีโอไทด์ตัวอื่นๆทำให้การสร้าง DNA ไม่สมบูรณ์ และไปยับยั้งการสร้างโปรตีนโดยไปทำให้กรดอะมิโน ไม่สามารถต่อกันเป็นโพลีเปปไทด์จึงไม่สามารถสร้างโปรตีนได้

## 2.11 การทดสอบความไวเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์

การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์มีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีในการใช้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ลักษณะงาน ชนิดของเชื้อทดสอบ จำนวนเชื้อทดสอบ ชนิดและจำนวนยา เป็นต้น แต่สำหรับวิธีที่ได้รับความนิยมและเป็นวิธีมาตรฐานแบ่งได้ 3 วิธี ( มาลิน, 2542 ) ดังนี้

**2.11.1 การเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารเหลว ( Broth dilution method )**

วิธีนี้สามารถทดสอบในหลอดทดลอง โดยนำยาเจือจางในอาหารเหลวที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในลักษณะลดลงทุกๆ 2 เท่า จากนั้นใส่เชื้อลงในอาหาร ภายหลังการเพาะบ่ม สังเกตความขุ่นใสของอาหารและแปรผลการทดสอบวิถีการออกฤทธิ์ของยาฆ่าเชื้อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.11.2 การเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารวุ้น ( Agar dilution method )**

น้ำยาเจือจางด้วยน้ำหรือตัวเจือจางที่เหมาะสมจนได้ระดับความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นทดสอบ แล้วผสมกับอาหารวุ้นตั้งทิ้งไว้ให้แข็ง หลังจากนั้นทำการเพาะเชื้อทดสอบแล้วแตะลงบนอาหารวุ้นที่เตรียมไว้ สังเกตการณ์เจริญของเชื้อบนอาหารหลังการเพาะบ่ม การทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถใช้ทดสอบเชื้อหลายชนิดในเวลาเดียวกันและสามารถสังเกตการณ์ปนเปื้อนจากเชื้ออื่นได้

**2.11.3 การให้สารต้านจุลินทรีย์ซึมซ่านในอาหารวุ้น ( Agar diffusion method )**

วิธีนี้อาศัยหลักการแพร่ซึม โดยนำสารสกัดต้านจุลินทรีย์ใส่ในสิ่งรองรับซึ่งอยู่บนหรือในอาหารวุ้นที่ได้เพาะเชื้อไว้แล้ว ภายหลังการเพาะบ่ม สังเกตรอบบริเวณสิ่งที่รองรับที่ตัวสารต้านซึมซ่านว่ามีบริเวณใส ( Inhibition zone ) ซึ่งไม่มีเชื้อเกิดขึ้นหรือไม่ วิธีนี้สามารถทำได้หลายรูปแบบขึ้นกับสิ่งรองรับตัวสารต้าน เช่น สิ่งรองรับเป็นหลุมที่เจาะลงในอาหารวุ้น (Agar – well diffusin method ) สิ่งรองรับเป็นถ้วยโลหะทรงกระบอก ( Cup diffusion method ) หรือกระดาษซับกลมซึมซ่านในอาหารวุ้น (Agar – disc diffustion method ) ทั้งนี้ในปัจจุบันการใช้กระดาษซับกลมเป็นที่นิยม เนื่องจากสะดวกต่อการใช้งาน แต่การทดสอบแบบใช้สิ่งรองรับเป็นหลุมและถ้วยนั้นสามารถเห็นผลการทดสอบได้ชัดเจนกว่า จึงเหมาะกับสารต้านที่มีการซึมซ่านได้ยาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

## 3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ตัวอย่างเอแคลร์จากร้านเบเกอรี่

ร้านที่ 1 Big C สำโรง อ.เมืองสมุทรปราการ จ.สมุทรปราการ

ร้านที่ 2 ร้านชัยวิวัฒน์ ตลาดสำโรง อ.เมืองสมุทรปราการ จ.สมุทรปราการ

ร้านที่ 3 ตลาดกิ่งแก้ว อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ

ร้านที่ 4 ตลาดบางเสาธง กิ่งอ.บางเสาธง จ.สมุทรปราการ

ร้านที่ 5 ตลาดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

3.1.2 เปลือกมะม่วงแก้วดิบ ตลาดไท จ.ปทุมธานี

## 3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 95% Ethanal

3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird Parker agar

3.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA

3.2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB

3.2.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)

3.2.6 อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion ( BHI ) Broth

3.2.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol salt agar (MSA)

3.2.8 น้ำยาเจือจาง ( 0.02 M phorphate – saline buffer ที่มี 1% NaCl )

3.2.9 ชุดย้อมสีแบบแกรม ( Gram' s stain)

## 3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.1 เครื่องระเหยแบบหมุน

3.3.2 ตู้บ่มเชื้อ

3.3.3 หม้อนึ่งความดัน

3.3.4 ตู้อบลมร้อน

3.3.5 เครื่องชั่งอิเล็คทรอนิค

3.3.6 ตู้เขี่ยเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.7 Autopipette

3.3.8 เครื่องตีปั่นไฟฟ้า ( stomacher)

3.3.9 Paper disc

3.3.10 เครื่องวัดพีเอช

3.3.11 water bath

3.3.12 เครื่องเขย่าหลอดทดสอบ (vortex mixer)

3.3.13 กล้องจุลทรรศน์

3.3.14 จานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

3.3.15 Freeze drier & Lyophilizer

**3.4 วิธีการทดลอง**

**3.4.1 การตรวจนับเชื้อ *S. aureus* ในไส้ครีมแอแคลร์**

ซื้อตัวอย่างแอแคลร์ในช่วงเช้าจากร้านค้าทั้ง 5 ร้าน คือ Big C สำโรง, ร้านชัยวิวัฒน์ ตลาดสำโรง, ตลาดกิ่งแก้ว, ตลาดบางเสาธงและตลาดหัวตะเข้ จากนั้นแบ่งเก็บตัวอย่างแอแคลร์เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และส่วนที่สองเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดำเนินการตรวจหาเชื้อ *S. aureus* จากแอแคลร์ทั้ง 2 อุณหภูมิที่เวลา 0 ,3 และ 6 ชั่วโมง โดยวิธีการทดสอบดังนี้

3.4.1.1 ชั่งตัวอย่างไส้แอแคลร์ 25 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ

3.4.1.2 เทน้ำยาเจือจาง ( 0.02 M phorphate – saline buffer ที่มี 1% NaCl ) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องตีปั่นไฟฟ้า

3.4.1.3 ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1 – 2 ระดับ ตามความเหมาะสม โดยใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 ($10^{-1}$) 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดน้ำยาสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดด้วยเครื่องเขย่าหลอดทดสอบ หรือใช้มือเขย่าขึ้น – ลง อย่างแรง 25 ครั้ง ตัวอย่างอาหารในขั้นนี้จะมีระดับความเจือจาง 1:100 ( $10^{-2}$) เตรียมตัวอย่างให้เจือจางในระดับต่อไปคือ 1:1000 ( $10^{-3}$) เรื่อยไปตามลำดับ

3.4.1.4 ถ่ายตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางลงบนอาหาร Baird – Parker จานละ 0.1 มิลลิลิตร ด้วยปิเปตปลอดเชื้อ ระดับความเจือจางละ 2 จาน

3.4.1.5 ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอล ทำการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วตามวิธี spread plate ให้ครบทุกระดับความเจือจางที่ต้องการทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วกลับจานเพาะเชื้อคว่ำลง นำเข้าบ่มเชื้อที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.6 อ่านผลโดยนับเฉพพที่ดับการเจือจางที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ในช่วง 30 – 300 โคโลนีเท่านั้น

3.4.1.7 ตรวจนับโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* โดยโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* มีลักษณะกลมนูน สีดำเป็นมัน ผิวเรียบ ขอบขาว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 – 3 มิลลิเมตร มีตะกอนขุ่นรอบๆโคโลนี ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ lecithinase ทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนขุ่นที่เรียกว่า opaque หรือ creamy zone และมักพบโซนใสในอาหารเลี้ยงเชื้อถัดจาก opaque zone ในตัวอย่างอาหารแช่แข็งและอาหารแห้งโคโลนีของเชื้ออาจเกิดสีดำช้ากว่าปกติและขอบไม่เรียบได้

3.4.1.8 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อเขี่ยโคโลนีจากแต่ละจานเพาะเชื้อที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* ทำการตรวจสอบด้วยการส่องกล้องจุลทรรศน์ด้วยการย้อมสีแบบแกรม ( Gram`s stain)

3.4.1.9 ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ NA slant เขียนรหัสเชื้อกำกับบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อทุกหลอด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 - 48 ชั่วโมง

3.4.1.10 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อเขี่ยเชื้อจาก NA slant แล้วทำการเขี่ยเพาะเชื้อบนอาหาร Mannitol Salt Base Agar เพื่อยืนยันผลว่าเป็นเชื้อ *S. aureus* จริงหรือไม่ โดยที่ถ้าเป็นเชื้อ *S. aureus* จะเกิดการสร้างบริเวณโซนใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสังเกตจากบริเวณนั้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

**3.4.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase ของ *S. aureus***

3.4.2.1 เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI broth ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ลงในหลอดทดลองปราศจากเชื้อขนาด 13 × 100 mm. หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร

3.4.2.2 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ปราศจากเชื้อ เขี่ยโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *S. aureus* เพาะเลี้ยงเชื้อ BHI broth บ่มเพาะเชื้อในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 35 -37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 - 18 ชั่วโมง

3.4.2.3 ดูด Rabbit plasma ปริมตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดเพาะเชื้อ BHI broth บ่มเพาะเชื้อในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 – 6 ชั่วโมง

3.4.2.4 อ่านผล โดยดูการแข็งตัวของ plasma อันเนื่องจากเอนไซม์ coagulase ที่เชื้อ *S. aureus* สร้างขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.4.3 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว**

นำมะม่วงแก้วมาล้างให้สะอาดและปอกเปลือกด้วยมีด 2 คม นำเปลือกที่ได้มานึ่งเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นและหั่นเป็นชิ้นขนาด 1 × 2 เซนติเมตร นำเปลือกมะม่วงที่หั่นเป็นชิ้น 40 กรัม ผสมกับ 95 % เอธานอล ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ( อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 28 ชั่วโมง ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที นำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman No. 2 ระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้ได้สารสกัดเข้มข้นโดยเครื่องระเหยหมุนภายใต้สุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทำการระเหยตัวทำละลายออก เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดแก้วสีชาที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ – 60 องศาเซลเซียส นำไปทำแห้งด้วยวิธีไลโอฟิไลเซอร์ (Lyophilizer)

**3.4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์**

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ คือ *S. aureus* ใช้วิธี Agar disc diffusion ซึ่งอาศัยการแพร่ซึมของสารละลายที่ต้องการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเพาะเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบไว้แล้ว โดยใช้กระดาษซับกลม ( paper disc) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเป็นตัวรองรับสารละลาย ภายหลังการบ่มแปรผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส ( inhibition zone ) ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร และขั้นตอนมีดังนี้

3.4.4.1 การเตรียมเชื้อตั้งต้นเพื่อใช้ในการทดสอบ

นำเชื้อ *S. aureus* ที่เก็บไว้ มาทำการถ่ายเชื้อ 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth + 0.6 % Yeast Extract ( TSB – YE ) บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16– 18 ชั่วโมง ทำการถ่ายเชื้อต่อโดยถ่ายเชื้อ 1 ลูป ลงใน TSB – YE เช่นเดิม นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 -18 ชั่วโมง นำเชื้อที่เจริญในช่วงการบ่มเวลา 16 – 18 ชั่วโมงเป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในขั้นตอนต่อไป

3.4.4.2 การเตรียมสารละลายจากสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

นำแผ่นกระดาษซับกลม ( paper disc ) ที่ปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร มาหยดสารสกัดจากเปลือกมะม่วงในตัวทำละลาย 40 % เอธานอล อย่างละ 1 แผ่น โดยหยดด้วย Autopipette ครั้งละ 40 ไมโครลิตร ปล่อยให้แห้งแล้วหยดอีก 1 ครั้งจะได้แผ่น paper disc ที่มีสารสกัดปริมาตร 80 ไมโครลิตร นำไปวางบนผิววุ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ใช้คลอแรมแฟนนิคอล (chloramphenical) 30 ไมโครกรัมต่อแผ่นกระดาษซับกลม เป็น Positive

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

control และใช้ 40% เอธานอล 80 ไมโครลิตร ในแผ่นกระดาษซับกลม เป็น Solvent control ทำการทดสอบ 3 ครั้ง

3.4.4.3 การเตรียมจานเพาะเลี้ยงทดสอบ

เตรียมจานเพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบโดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบ 2 ชั้น นำอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA – YE (Trypticase Soy Broth + 0.6 % Yeast Extract) ชั้นล่างใช้ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 15 มิลลิลิตร ต่อจานเพาะเลี้ยง ทิ้งให้วุ้นแข็ง ชั้นบนเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อ ปิเปตสารแขวนลอยของเชื้อทดสอบ 20 ไมโครลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่หลอมแล้ว เททับลงอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ รอให้อาหารแข็ง นำแผ่นกระดาษซับกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อ หยดสารละลายที่สกัดจากพืชปริมาณ 40 ไมโครลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร วางลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อทดสอบ ตั้งทิ้งไว้นานประมาณ 30 นาที เพื่อให้สารแพร่ในชั้นอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งเชื้อซึ่งสังเกตได้จากวงใส ( inhibition zone ) รอบ paper disc ที่วัดได้

**3.4.5 การผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วใสในไส้เอแคลร์**

นำไส้เอแคลร์ตามวิธีที่เตรียมได้ตามภาคผนวก ก มาชั่งน้ำหนัก 200 กรัมใส่ลงในถุงพลาสติกปลอดเชื้อหรือกล่องพลาสติกปลอดเชื้อ หลังจากชั่งน้ำหนักเตรียมไว้แต่ละถุงนำมาผสมกับ เชื้อ, เชื้อผสมกับสารสกัดความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณ 5 มิลลิลิตร, เชื้อผสมกับสารสกัดความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณ 10 มิลลิลิตร, สารสกัด อย่างละถุง ปริมาณเชื้อที่นำมาผสมนั้นได้มาจากการคำนวณปริมาณเชื้อจากผลการทดลองเริ่มต้น ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้นั้นมาจากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยที่มีโซนใส (clear zone) กว้างที่สุด โดยการดูผลการทดลองที่ได้ที่ระดับความเข้มข้นน้อยๆ ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ นำแต่ละตัวอย่างที่ได้มาตักแบ่งชั่งน้ำหนักใส่ถุงปลอดเชื้อถุงละ 25 กรัม ทำการทดลองคล้ายกับวิธีที่ 3.4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.4.6 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้ครีมเอแคลร์ที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว**

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้ครีมเอแคลร์ที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วจะเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารสกัดโดยใช้วิธี การทดสอบความแตกต่าง (Difference Test) ใช้วิธีการเลือกตัวอย่างคี่จากสามตัวอย่าง (Triangle Test) โดยเสนอ 3 ตัวอย่างที่มีรหัส 3 หลักพร้อมกัน ภายใน 3 ตัวอย่างนี้จะมี 2 ตัวอย่างเหมือนกันและอีกตัวอย่างหนึ่งแตกต่างกันไป

โดยตัวอย่างที่ใช้นั้นคือไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดและไส้ครีมเอแคลร์ 200 กรัม ผสมสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัม การจัดลำดับการเสนอตัวอย่างทำโดยวิธีการสุ่มตัวเลขจาก Master Sheet โดยการทดสอบมีผู้ทดสอบทั้งหมด 20 คน ต้องทดสอบโดยทำการประเมินทางประสาทสัมผัส คือ กลิ่น รสชาติและสี โดยที่การทดสอบกลิ่นและรสชาติ ผู้ทดสอบจะต้องปิดตาเพื่อป้องกันการสังเกตเห็นความแตกต่างของสีของไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดกับไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัด แล้วทำการดมกลิ่นและชิมรสตัวอย่างไส้ครีมเอแคลร์ ที่มีทั้งหมด 2 ชุด ชุดละ 3 ตัวอย่าง โดยผู้ทดสอบจะต้องเลือกตัวอย่าง 1 ตัวอย่างที่แตกต่างจากอีก 2 ตัวอย่างของแต่ละชุด นำผลจำนวนผู้ทดสอบที่สามารถแยกตัวอย่างที่แตกต่างจากกลุ่มได้ ไปเปิดตารางค่าต่ำสุดของผู้ทดสอบที่จะต้องเลือกตัวอย่างที่แตกต่างให้ถูกต้องโดยวิธี Triangle test เมื่อทดสอบกลิ่นและรสชาติเสร็จเรียบร้อยแล้วจึงจะทำการสังเกตสีของไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดกับไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
85377

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

## 4.1 ผลการศึกษาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างไส้ครีมเอแคลร์จากร้านเบเกอรี่

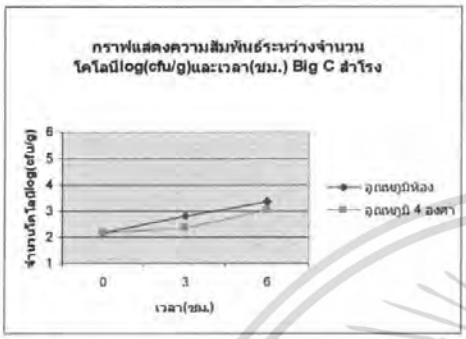
จากการสุ่มนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เอแคลร์ที่ได้จากการผลิตในเวลาช่วงเช้าจากห้าง Big C สำโรง ตลาดสำโรงร้านชัยวิวัฒน์ ตลาดกิ่งแก้ว ตลาดบางเสาธง ตลาดหัวตะเข้ ทดลองโดยการนำตัวอย่างไส้ครีมเอแคลร์มาเก็บรักษา ที่อุณหภูมิห้อง (32 – 35 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส) แล้วทำการตรวจหาปริมาณเชื้อ *S. aureus* ที่เพิ่มขึ้นเป็นเวลาทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าชั่วโมงเริ่มต้นมีการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในปริมาณเล็กน้อย และที่อุณหภูมิห้องมีการเจริญของเชื้อเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่นานขึ้น ส่วนที่อุณหภูมิตู้เย็นมีการเจริญของเชื้อปริมาณใกล้เคียงกับชั่วโมงเริ่มต้น แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อผลิตภัณฑ์ไส้เอแคลร์ โดยที่อุณหภูมิตู้เย็นช่วยชะลอการเจริญของเชื้อได้บ้าง จากนั้นจึงนำเชื้อ *S. aureus* ที่พบไปทดสอบการหาเอนไซม์ coagulase

**ตารางที่ 4.1** การเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างไส้ครีมเอแคลร์จากร้านเบเกอรี่ซึ่งเก็บรักษาที่ระยะเวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

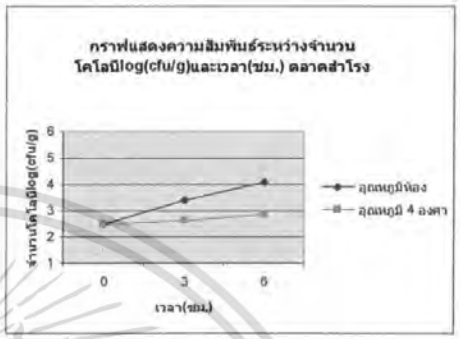
| ระยะเวลาในการเก็บรักษา (ชั่วโมง) ตัวอย่าง (ร้าน) | ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/ กรัม) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Big C สำโรง | ตลาดสำโรงร้านชัยวิวัฒน์ | ตลาดกิ่งแก้ว | ตลาดบางเสาธง | ตลาดหัวตะเข้ |
| 0 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง | $1.5\times10^{2}$ | $3\times10^{2}$ | $6.15\times10^{4}$ | $2.5\times10^{2}$ | $6.78\times10^{4}$ |
| 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง | $6.5\times10^{2}$ | $2.25\times10^{3}$ | $1.8\times10^{5}$ | $1.1\times10^{3}$ | $1.79\times10^{5}$ |
| 6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง | $2.25\times10^{3}$ | $1.3\times10^{4}$ | $3.65\times10^{5}$ | $3.3\times10^{3}$ | $3.74\times10^{5}$ |
| 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิตู้เย็น | $2.5\times10^{2}$ | $4.5\times10^{2}$ | $9.4\times10^{4}$ | $3.5\times10^{2}$ | $7.65\times10^{4}$ |
| 6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิตู้เย็น | $1.1\times10^{3}$ | $7\times10^{2}$ | $1.99\times10^{5}$ | $5\times10^{2}$ | $2.35\times10^{5}$ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

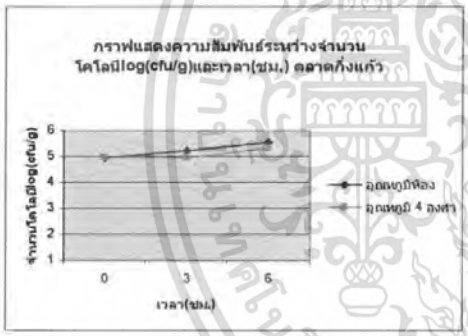
เมื่อนำผลจากตารางที่ 4.1 มาหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับจำนวนโคโลนี Log CFU/ กรัมเอแคลร์ เปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น เป็นเวลา 0, 3 และ6 ชั่วโมง แสดงดังภาพที่ 4.1 – 4.5



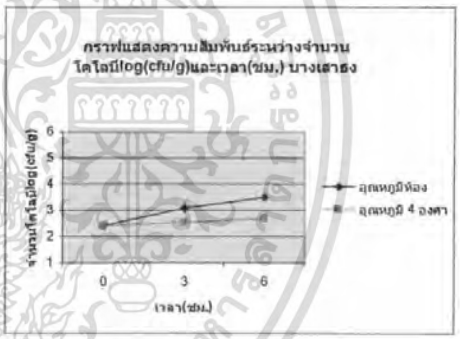

**ภาพที่ 4.1** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ใน ไส้เอแคลร์จาก Big C สำโรงกับระยะเวลาในการเก็บที่ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น



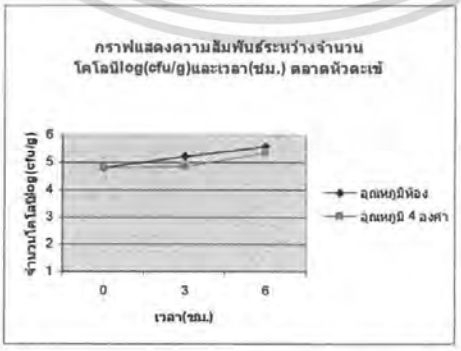

**ภาพที่ 4.2** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ใน ไส้เอแคลร์จาก ตลาดสำโรงกับระยะเวลาในการเก็บที่ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น




**ภาพที่ 4.3** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ใน ไส้เอแคลร์จากตลาดกิ่งแก้วกับระยะเวลาในการเก็บที่ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

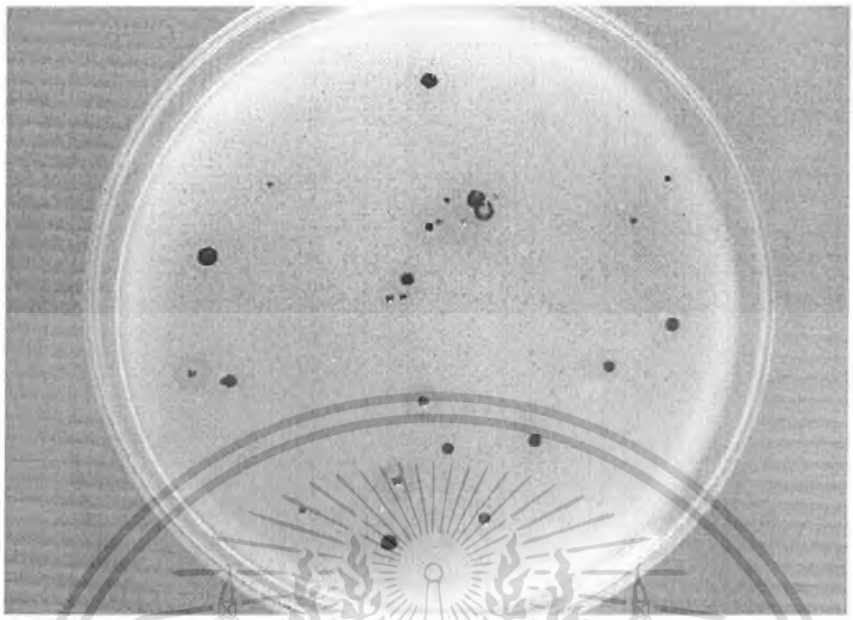



**ภาพที่ 4.4** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ใน ไส้เอแคลร์จากตลาดบางเสาธงกับระยะเวลาในการเก็บที่ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น




**ภาพที่ 4.5** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ใน ไส้เอแคลร์จากตลาดหัวตะเข้กับระยะเวลาในการเก็บที่ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**ภาพที่ 4.6** ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *S. aureus* ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ไส้ครีมเอแคลร์เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิแช่เย็น

**4.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase ของเชื้อ *S. aureus***

การทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase อาศัยหลักการที่ว่า plasma กระต่ายที่นำมาใช้ในการทดสอบยังมีองค์ประกอบของ fibrin และ fibrinogen อยู่ เมื่อเชื้อ *S. aureus* เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีการสร้างเอนไซม์ coagulase ออกมา และเมื่อทำการเติม rabbit plasma ลงในหลอดเพาะเลี้ยงเชื้อ เอนไซม์ coagulase จะทำปฏิกิริยากับ fibrin และ fibrinogen ใน plasma แล้วเกิดการรวมตัวของ fibrin และ fibrinogen เกิดการแข็งตัว (clot) ขึ้น แสดงดังภาพที่ 4.7 เมื่อทำการทดลองผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ Coagulase ของเชื้อ *S. aureus*

| ร้านค้าที่ทำการทดลอง | การสร้างเอนไซม์ Coagulase ของ ***S. aureus*** |
|---|---|
| บิ๊กซี สำโรง | + |
| ร้านชัยวิวัฒน์ ตลาดสำโรง | + |
| ตลาดกิ่งแก้ว | + |
| ตลาดบางเสาธง | - |
| ตลาดหัวตะเข้ | - |

+ = positive (แข็งตัว) , - = negative (ไม่แข็งตัว)

**ภาพที่ 4.7 ก** ลักษณะ negative ของการสร้างเอนไซม์ coagulase ของเชื้อ *S. aureus*

**ภาพที่ 4.7 ข** ลักษณะ positive ของการสร้างเอนไซม์ coagulase ของเชื้อ *S. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.3 การศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว**

การประเมินสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว จะใช้การทดสอบเบื้องต้นด้วยวิธีการให้สารสกัดแพร่ในอาหารวุ้น (Agar disc diffusion method ) ซึ่งการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดทั้งชนิดการต้านการเจริญ (bacteriostatic) และทำลายจุลินทรีย์ ( bactericidal) จะก่อให้เกิดวงใส (clear zone) รอบแผ่นกระดาษซับกลม (paper disc) ทดสอบโดยการเตรียมสารละลายของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับดังนี้คือ 12.5, 25, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค การวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นรอบๆแผ่นกระดาษซับกลม เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ที่ระดับดับความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นมากขึ้น ขนาดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางก็มากขึ้นด้วยแสดงว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดมากขึ้นก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีขึ้นด้วย

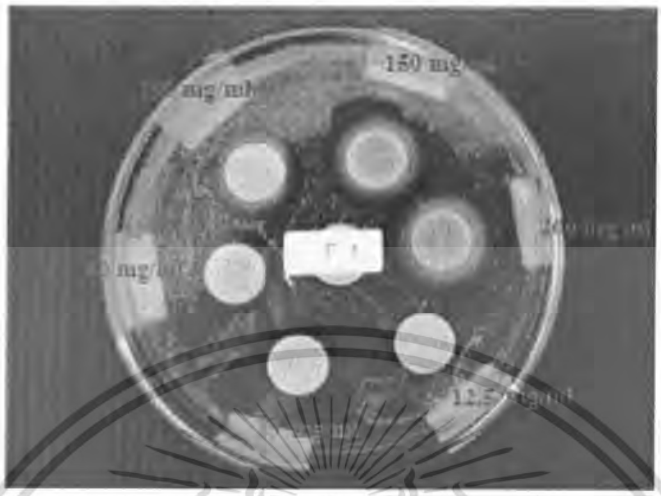
**ตารางที่ 4.3** ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นในการทดสอบสมบัติการต้านการเจริญของ *S. aureus* เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

| ตัวอย่าง | ความกว้าง (มิลลิเมตร) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ระดับความเข้มข้น( มิลลิกรัม / มิลลิลิตร) | | | | | |
| | 12.5 | 25 | 50 | 100 | 150 | 200 |
| Big C สำโรง | 0.4 | 0.5 | 0.8 | 0.9 | 0.9 | 1.1 |
| ตลาดสำโรง ร้านชัยวิวัฒน์ | 0.3 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 | 1.2 |
| ตลาดกิ่งแก้ว | 0.0 | 0.2 | 0.5 | 0.6 | 0.8 | 0.9 |

**ตารางที่ 4.4** ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นในการทดสอบสมบัติการต้านการเจริญของ *S. aureus* เมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงภายหลังการบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| ตัวอย่าง | ความกว้าง (มิลลิเมตร) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ระดับความเข้มข้น( มิลลิกรัม / มิลลิลิตร) | | | | | |
| | 12.5 | 25 | 50 | 100 | 150 | 200 |
| Big C สำโรง | 0.2 | 0.5 | 0.7 | 0.7 | 1.0 | 1.2 |
| ตลาดสำโรง ร้านชัยวิวัฒน์ | 0.2 | 0.5 | 0.6 | 1.0 | 1.2 | 1.3 |
| ตลาดกิ่งแก้ว | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.8 | 1.0 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 4.8** ลักษณะของวงใสที่เกิดจากสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

**4.4 ผลการเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในไส้ครีมเอแคลร์ต่อการเจริญของ *S. aureus***

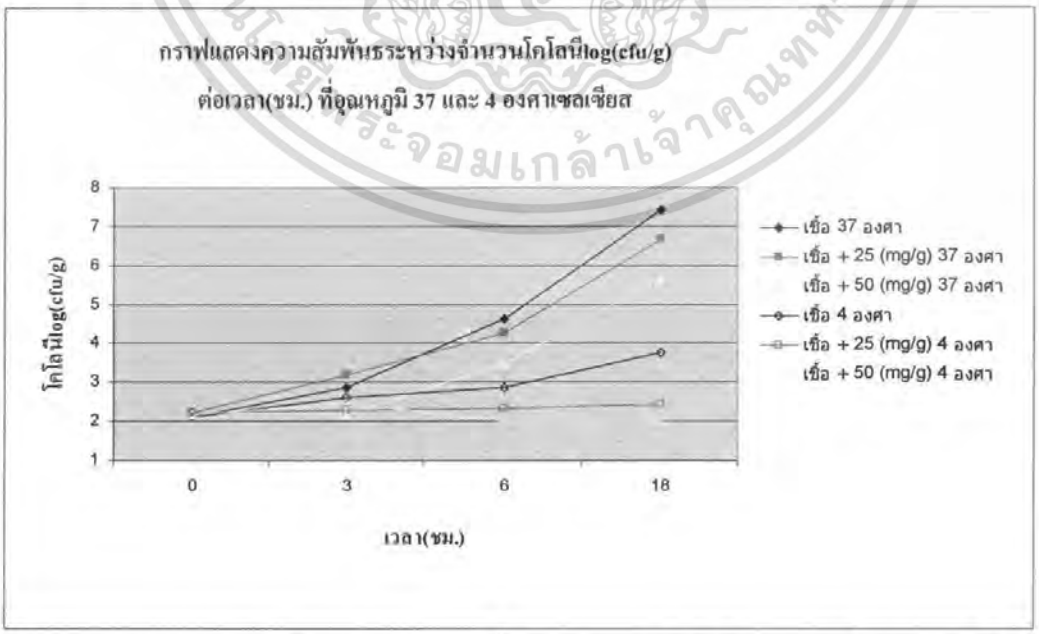
นำตัวอย่างไส้ครีมเอแคลร์ *S. aureus* ในไส้ครีมเอแคลร์จากร้านเบเกอรี่ และใส่สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยพิจารณาจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นและความเข้มข้นที่ไม่สูงจนเกินไปเพื่อนำมาทดสอบความแตกต่างของกลิ่นและรสชาติในการทดลองต่อไป ผสมไส้เอแคลร์กับเชื้อ และสารสกัด ได้ดังนี้ ไส้ครีมเอแคลร์ผสมเชื้อ, ไส้ครีมเอแคลร์ผสมสารสกัด 25 มิลลิกรัมต่อกรัม, ไส้ครีมเอแคลร์ผสมสารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อกรัม ไส้ครีมเอแคลร์ผสมเชื้อ +สารสกัด 25 มิลลิกรัมต่อกรัม และไส้ครีมเอแคลร์ผสมเชื้อ + สารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 3, 6 และ 18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (32 – 35 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส) แล้วทำการตรวจหาปริมาณเชื้อ *S. aureus* จากตารางที่ 4.5 จะพบว่าชั่วโมงเริ่มต้น การเจริญของเชื้อ *S. aureus* ยังเจริญไม่มาก แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปครบ 3, 6 และ 18 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าการเจริญของเชื้อจะเพิ่มมากขึ้น และปริมาณของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นมีปริมาณน้อยกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเปรียบเทียบดูปริมาณการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จะพบว่าในไส้ครีมเอแคลร์ผสมเชื้อ + สารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อกรัม มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าไส้ครีมเอแคลร์ผสมเชื้อ + สารสกัด 25 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัด 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อกรัม ทั้งสองความเข้มข้นไม่พบการเจริญของเชื้อ *S. aureus*

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5** การเจริญของเชื้อ *S. aureus* ในตัวอย่างไส้ครีมเอแคลร์ซึ่งเก็บรักษาที่ระยะเวลา และอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

| ระยะเวลาในการเก็บรักษา (ชั่วโมง) ตัวอย่างเอแคลร์ | ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/ กรัม) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ควบคุมไม่ผสมเชื้อ | ผสมสารสกัด25 mg/g | ผสมสารสกัด 50 mg/g | ผสมเชื้อ $10^2$ cfu/g | ผสมเชื้อ$10^2$ cfu/g + สารสกัด25 mg/g | ผสมเชื้อ$10^2$ cfu/g + สารสกัด50 mg/g |
| 0 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง | - | - | - | $1.3\times10^2$ | $1.66\times10^2$ | $1.5\times10^2$ |
| 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง | - | - | - | $7.3\times10^2$ | $1.5\times10^3$ | $1.5\times10^2$ |
| 6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง | - | - | - | $4.1\times10^4$ | $1.91\times10^4$ | $3.01\times10^3$ |
| 18 ชั่วโมงที่ อุณหภูมิห้อง | - | - | - | $2.7\times10^7$ | $4.58\times10^6$ | $4.88\times10^5$ |
| 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิตู้เย็น | - | - | - | $4\times10^2$ | $1.15\times10^3$ | $3\times10^2$ |
| 6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิตู้เย็น | - | - | - | $7.16\times10^2$ | $6.83\times10^2$ | $1\times10^2$ |
| 18 ชั่วโมงที่อุณหภูมิตู้เย็น | - | - | - | $5.9\times10^3$ | $2.66\times10^2$ | $1\times10^2$ |

เมื่อนำผลจากตารางที่ 4.5 มาหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ Log CFU/ กรัมเอแคลร์ เปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น เป็นเวลา 0, 3, 6 และ18 ชั่วโมง แต่ละตัวอย่างแสดงดังภาพที่ 4.9




**ภาพที่ 4.9** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *S. aureus* ในไส้ครีมเอแคลร์จากการนำไส้ผสมเชื้อและสารสกัดกับระยะเวลาในการเก็บที่อุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิแช่เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

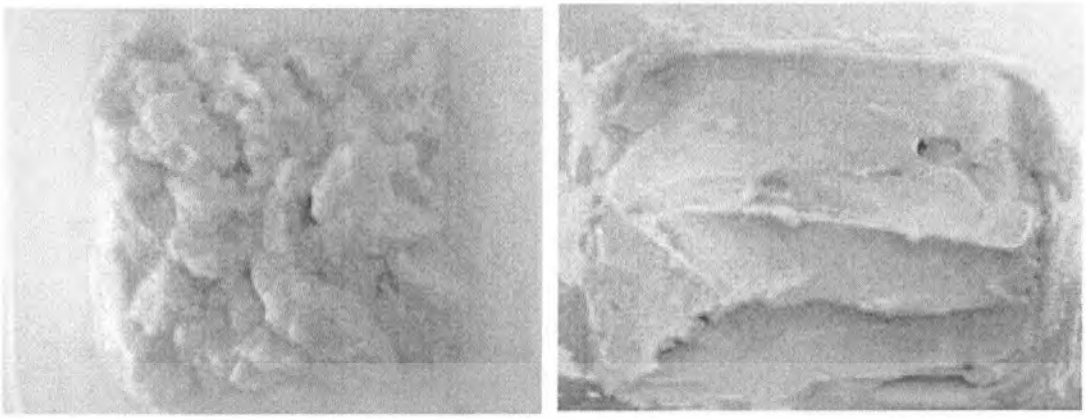
**4.5 ผลของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว**

นำไส้เอแคลร์ที่ผลิตขึ้นจากวิธีตามภาคผนวก ก ปริมาณ 200 กรัม มาเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัม ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับไส้เอแคลร์ควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัด โดยการทดสอบด้วยวิธี Triangle Test ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน ต้องทำการปิดตาและทดสอบตัวอย่างโดยการคมกลิ่นและชิมรส จากนั้นจึงทำการประเมินและตัดสินใจเลือกตัวอย่าง 1 ตัวอย่างที่แตกต่างจากอีก 2 ตัวอย่าง จากนั้นนำผลของจำนวนผู้ตอบถูกไปเปิดตารางค่าต่ำสุดของผู้ทดสอบที่จะต้องเลือกตัวอย่างที่แตกต่างให้ถูกต้องโดยวิธี Triangle test

จากการทดลองพบว่า ผู้ทดสอบ 20 คน มีผู้ตอบถูก 3 คน เมื่อนำผลไปเปิดเปิดตารางค่าต่ำสุดของผู้ทดสอบที่จะต้องเลือกตัวอย่างที่แตกต่างให้ถูกต้องโดยวิธี Triangle test พบว่าที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ต้องมีผู้ตอบถูก 13 คน จึงจะถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เพราะฉะนั้นการทดสอบความแตกต่างโดยการประเมินทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและรสชาติครั้งนี้พบว่าไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงที่ระดับความเข้มข้น 50 μL ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วง ส่วนผลของการทดสอบด้านสีของผลิตภัณฑ์ พบว่าผู้ทดสอบทั้ง 20 คน ตัดสินใจว่าสีของไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงที่ระดับความเข้มข้น 50 μL มีความแตกต่างจากสีของไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดอย่างชัดเจน กล่าวคือ ไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงที่ระดับความเข้มข้น 50 μL มีสีเข้มกว่า และไม่น่ารับประทาน

ดังนั้นในด้านของการผลิตผลิตภัณฑ์เอแคลร์ ถ้าจะมีการนำเอาสารสกัดจากเปลือกมะม่วงมาประยุกต์ใช้กับไส้ครีมเอแคลร์เพื่อเป็นการปรับปรุงคุณภาพและลดอันตรายจากเชื้อ *S. aureus* ก็น่าจะเป็นอีกตัวเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเนื่องจากผู้บริโภคให้การยอมรับด้านกลิ่นและรสชาติได้ แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นควรจะมีการพัฒนาปรับปรุงเรื่องสีของผลิตภัณฑ์ โดยอาจมีการเติมวัตถุดิบบางชนิด เช่น ช็อกโกแลต ชาเขียว เป็นต้น เพื่อเป็นการปรับปรุงสี รวมทั้งกลิ่นรสของไส้ครีมเอแคลร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงให้ดีขึ้นและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก. ข.

**ภาพที่ 4.11** ไส้ครีมเอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว (ก) และผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลอง

เอแคลร์เป็นผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ชนิดหนึ่งที่พบปัญหาการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ เนื่องจากไส้เอแคลร์มีส่วนผสมของน้ำ นมและไข่แดง ซึ่งเป็นสภาวะและแหล่งอาหารที่เหมาะสมแก่การเจริญของจุลินทรีย์ ในการศึกษาถึงผลของระยะเวลาและอุณหภูมิที่มีต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เอแคลร์ โดยการนำตัวอย่างจากร้านค้าทั้ง 5 ร้านดังนี้คือ ห้าง Big C สำโรง, ร้านชัยวิวัฒน์ตลาดสำโรง, ตลาดกิ่งแก้ว, ตลาดบางเสาธง และตลาดหัวตะเข้ พบว่าตัวอย่างทั้ง 5 ร้านพบเชื้อ *S. aureus* จากนั้นจึงนำเชื้อ *S. aureus* ที่ได้ไปทำการยืนยันผลโดยการทดสอบการเกิดเอนไซม์ Coagulase พบว่าเชื้อ *S. aureus* จากร้าน Big C สำโรง, ร้านชัยวิวัฒน์ ตลาดสำโรง และตลาดกิ่งแก้ว ให้ผลเป็น Coagulase positive ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *S. aureus* ที่พบอาจมีการผลิตสารพิษ Enterotoxin นอกจากนี้ยังพบว่าผลิตภัณฑ์เอแคลร์ที่เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นมีปริมาณเชื้อลดน้อยลงกว่าการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง จึงแสดงให้เห็นว่าเวลาและอุณหภูมิมีผลต่อการเพิ่มปริมาณเชื้อ *S. aureus* ดังนั้นผู้ผลิตควรเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ระหว่างรอจำหน่ายไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น เพื่อช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ หลังจากนั้นทำการได้นำเชื้อ *S. aureus* ที่ให้ผล Coagulase positive มาทำการทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับดังนี้คือ 12.5, 25, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร มาทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดระดับ 25 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ จากการทดลองจึงนำความเข้มข้นของสารสกัดที่ระดับ 25 และ 50 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร มาทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยวิธีการผสมสารสกัดลงในไส้เอแคลร์ที่ผลิตขึ้นเอง โดยแบ่งการทดสอบออกเป็น 5 ตัวอย่างคือ ไส้ครีมเอแคลร์ควบคุมไม่ผสมเชื้อ, ผสมสารสกัด25 มิลลิกรัมต่อกรัม, ผสมสารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อกรัม, ผสมเชื้อ $10^2$ cfu/g, ผสมเชื้อ$10^2$ cfu/g + สารสกัด25 มิลลิกรัมต่อกรัม, ผสมเชื้อ$10^2$ cfu/g + สารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อกรัม แล้วแยกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น แบ่งเป็น 0, 3, 6 และ 18 ชั่วโมงตามลำดับ พบว่าไส้เอแคลร์ที่ผสมเชื้ออย่างเดียว เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องปริมาณเชื้อจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ โดยชั่วโมงที่ 18 ปริมาณเชื้อจะสูงมาก ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น เมื่อเวลาผ่านไป 3 ถึง 6 ชั่วโมงปริมาณเชื้อลดน้อยลง แต่เมื่อเวลาผ่านไป 18 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อจะเพิ่มสูงขึ้นมากจนเห็นได้ชัดเจน ส่วนไส้เอแคลร์ที่ผสมเชื้อ$10^2$ cfu/g + สารสกัด 25 มิลลิกรัมต่อกรัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสารสกัดไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างผสมเชื้อ $10^2$ cfu/g + สารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อกรัมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเหมือนกัน ส่วนไส้เอแคลร์ที่ผสมเชื้อ$10^2$ cfu/g + สารสกัด 25 มิลลิกรัมต่อกรัม และผสมเชื้อ$10^2$ cfu/g + สารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ระดับมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* แต่ไม่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้ทั้งหมด จึงพอสรุปได้ว่าเชื้อ *S. aureus* มีคุณสมบัติเป็น bacteriostatic เนื่องจากว่ามีการยับยั้งเชื้อได้ในช่วงเวลาหนึ่งแต่ไม่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ทั้งหมด ส่วนตัวอย่างไส้ครีมเอแคลร์ควบคุมไม่ผสมเชื้อ, ผสมสารสกัด 25 มิลลิกรัมต่อกรัมและผสมสารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อกรัม ไม่พบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในขั้นตอนการผลิตไส้ครีมเอแคลร์นั้นไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อ *S. aureus*

หลังจากที่ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* แล้วจึงทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อแยกความแตกต่างของไส้เอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัดและไส้เอแคลร์ที่ผสมสารสกัดความเข้มข้น 50 ไมโครลิตร ด้วยวิธี Triangle Test พบว่าในการทดสอบด้านกลิ่นและรสชาติไส้เอแคลร์ที่ผสมสารสกัดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากไส้เอแคลร์ที่ไม่ผสมสารสกัด ส่วนการทดสอบด้านสีของไส้เอแคลร์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนโดยที่ไส้เอแคลร์ที่ผสมสารสกัดความเข้มข้น 50 ไมโครลิตรมีสีเข้มกว่ามาก

ดังนั้นถ้าจะมีการนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงมาประยุกต์ใช้กับไส้เอแคลร์รวมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเพื่อยืดอายุของผลิตภัณฑ์ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ แต่ก็ควรจะมีการพัฒนาปรับปรุงในด้านสีของไส้เอแคลร์ให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บรรณานุกรม


จันทิมา จาปะเกษตร์ และ สร้อยทอง สายหยุดทอง. 2543. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ **การปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ในไอศกรีมและเบเกอร์รี่** สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิยาลัยเกษตรศาสตร์.

จรรยา นาคินทร์ และ รัติยา ไกรสัย. 2546. ปัญหาพิเศษเรื่อง **การสกัดพริกยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella anatum*.** สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

ชุลีพร สินธพรัตนะ 2548. **การเทียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารสกัดจากเนื้อและเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ระดับความสุกต่างกัน.** สัมมนาปริญญาโท 2. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

นภชลัช ยอดพรหม. 2546. **สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีโอกาสปนเปื้อนในโยเกิร์ต.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. คณะอุตสากรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

ณัฐนภัสถ์ โสภา, ภัทรี ตั้งมงคลเลิศ และ รัชนีวรรณ วิภาคเบ็ญจานุภาพ. 2549. **การใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus*.** คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

มาลิน จุลศิริ. 2540. **ยาต้านจุลชีพ.** สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน. กรุงเทพมหานคร.

มาลิน จุลศิริ. 2542. **ยาต้านจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและประยุกต์.** โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน. นครปฐม.

สุภา ชนะกุล. 2550. **เอแคลร์.** [Online]. Available : http://school.obec.go.th/mrSupa/acare.htm.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2550. ***Staphylococcus aureus.*** [Online]. Available : http://www.techno.msu.ac.th/fn/center/pathogens/staphylococcus_aureus.htm

อดิศร เสวตวิวัฒน์, บุญเทียม พันธุ์เพ็ง, สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา , 2549. **ปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร.** สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.

Cvetnic, Z. and V.S. Knezevic. 2004. **Antimicrobail activity of grapefruit seed and pulp ethanolic extract**. Acta Pharmacologica Sinica. 54 :243 – 250.


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Huxley, A., Griffiths, M. and Levy, M. 1997. **The New Royal horticultural Society Dictionary of Gardening**, volume 3 L to Q. New york : The Stockton Press.

L'Escholier de la Sorbonne. (2006). **Staphylococcus.** [Online]. Available : http://www.sorbonnard.com/2006/11/.

National Food Institute Thailand. 2547. **ภัยในอาหาร**, สถาบันอาหาร, พฤษภาคม 2547, p.13-15. [online]. Available: http://textbookofbacteriology.net.

Nilgün G. B., Gülcan Ö., Osman S. 2003. **Total Phenolic Contents and Antibacterial Activities of Grap ( Vitis vinifera L.) Extracts**. Journal of Food Control. 15:335 – 339.

Toshihide K., Hadjime N., Megumi A., Shigeko U., Yoshiharu K., Shun ' ichi D. 2000. **Charaterization of Novel Antimicrobial Compounds from Mango (Mangifera indica L.) Kernel Seeds.** Journal Food Chemistry. 71:61-66.

***Staphylococcus aureus***. 20 เมษายน 2551. [Online]. Available : (http://www.charpa.co.th/e_mag/Charpa%20E-Journal%2010%20May%2007.pdf,2007)

**Triangle Test for Difference: Critical Number (Minimum) of Correct Answers**. 12 พฤษภาคม 2551. [Online]. Available : http://www.fao.org/DOCREP/v7180e/V7180E12.HTM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก
## วิธีการเตรียมวัตถุดิบ อาหารเลี้ยงเชื้อและน้ำยาเจือจาง

### 1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Baird Parker agar

**1.1.1 การเตรียม egg yolk solution**

1.1.1.1 นำ ไข่ไก่สดมาล้างเปลือกให้สะอาด จากนั้นจึงนำ ไปแช่ใน 70% ethyl alcohol เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.1.1.2 นำมาวางในบีกเกอร์ที่มีกระดาษรองปลอดเชื้อ ทิ้งไว้สักพักให้แอลกอฮอล์ที่ติดมาบนเปลือกไข่ระเหยไปหมด

1.1.1.3 ตอกไข่ในตู้ปลอดเชื้อ ทำการแยกไข่ขาวออกให้หมดโดยเทคนิคปลอดเชื้อ แยกส่วนที่เป็นไข่แดงลงในบีกเกอร์ปลอดเชื้อ เติมไข่แดงลงในขวดดูแรนปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่มีน้ำเกลือ 0.85 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้ออยู่ 140 มิลลิลิตร ใส่ไข่แดงจนมีปริมาตร 200 มิลลิลิตร ( ผสมในอัตราส่วน น้ำเกลือ 0.85 % 7 ส่วน + ไข่แดง 3 ส่วน ) เขย่าให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4° C จนกว่าจะนำ ไปใช้

**1.1.2. การเตรียม 1% Potassium tellurite (PT)**

1.1.2.1 ชั่ง Potassium tellurite 1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์แก้ว ใส่น้ำกลั่นทำการคนจนสารละลายหมด แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

1.1.2.2 นำ Potassium tellurite ที่ปรับปริมาตรแล้วเทใส่บีกเกอร์แก้ว ทำให้สารละลายปลอดเชื้อโดยการกรองด้วยแผ่นกรองปลอดเชื้อ ( syring millipore filter ) ใส่ลงในขวดดูแรนปลอดเชื้อ ในตู้ปลอดเชื้อ เก็บในขวดดูแรนปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะนำไปใช้

**1.1.3. การผสม egg yolk - tellurite emulsion**

1.1.3.1 นำ egg yolk solution ที่เตรียมไว้มาผสมกับ 1% Potassium tellurite ที่กรองแล้ว โดยนำ 1% Potassium tellurite วัดปริมาตร 40 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวงปลอดเชื้อ ผสมลงในขวดดูแรน egg yolk solution

1.1.3.2 ทำการเขย่าให้เข้ากัน จะได้ egg yolk tellurite 240 มิลลิลิตร เก็บในขวดดูแรนปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**1.1.4 การเตรียม Baird Parker medium**

1.1.4.1 ใช้กระบอกตวง ตวงน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มล. เทน้ำกลั่นเพียง 200 มล. ลงในบีกเกอร์ปริมาตร 2000 มล.

1.1.4.2 ชั่ง Baird Parker agar 16.2 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นในบีกเกอร์ ใช้แท่งแก้วคนให้ผงอาหารกระจายในน้ำกลั่น จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นที่เหลือทั้งหมด

1.1.4.3 นำไปต้มให้วุ้นละลาย นำมาเทใส่ขวดรูปชมพู่ 285 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวง แล้วกำจัดเชื้อโดยการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจึงนำ ไปแช่ในอ่างปรับอุณหภูมิที่ 55°C

1.1.4.4 เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อเย็นลงที่ 55°C แล้วจึงเติม egg yolk tellurite ลงไปในขวดรูปชมพู่ปลอดเชื้อขวดละ 15 มิลลิลิตร

1.1.4.5 เขย่าเบาๆให้ไข่แดงละลายทั่วขวด แล้วจึงเทลงในจานเลี้ยงเชื้อที่ปลอดเชื้อจานละ 15-20 มิลลิลิตร

**1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA**

| | | |
|---|---|---|
| Peptone from casein ( Tryptone) | 15 | กรัม |
| Peptone from soymeal ( Soytone) | 5 | กรัม |
| NaCl | 5 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |

สารแขวนลอย 40 กรัม/ลิตร ปรับ pHให้ได้ 7.3 $\pm$ 0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส ด้วย NaCl , $H_2SO_4$ 1 N. นำเข้าฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB**

| | | |
|---|---|---|
| Trypticase peptone | 17 | กรัม |
| NaCl | 5 | กรัม |
| Glucose | 2.5 | กรัม |
| Phytone peptone | 3 | กรัม |
| $K_2HPO_4$ | 2.5 | กรัม |
| D.W. | 1 | ลิตร |

อุ่นละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารปริมาตร 225 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์หรือขวดที่มีจุกสำลีหรือปิดฝา นำเข้าฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)**

| | | |
|---|---|---|
| Beef extract | 3 | กรัม |
| Peptone | 5 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| D.W. | 1 | ลิตร |

ต้มละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายใส่ขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำเข้าฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion ( BHI ) Broth**

| | | |
|---|---|---|
| Calf brain infusion | 200 | กรัม |
| Beef heart infusion | 250 | กรัม |
| Proteose peptone | 10 | กรัม |
| NaCl | 2 | กรัม |
| $Na_2HPO_4.12H_2O$ | 2.5 | กรัม |
| Dextrose | 2 | กรัม |
| D..W. | 1 | ลิตร |
| Final pH | $7.4 \pm 0.2$ | |

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ถ่ายอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ในหลอดหรือขวด ปิดจุกให้สนิท นำเข้าฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**2. การเตรียมน้ำยาเจือจาง**

| | | |
|---|---|---|
| $Na_2HPO_4$ | 2.85 | กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 2.76 | กรัม |
| NaCl | 14 | กรัม |
| D.W. | 2 | ลิตร |

ละลายสาร $Na_2HPO_4$ และ $KH_2PO_4$ แยกกันด้วยน้ำกลั่นจากนั้นทำการปรับปริมาตรสารทั้ง 2 ด้วยขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร หลังจากปรับปริมาตรแล้วนำสารทั้ง 2 มาค่อยๆเทผสมรวมกันให้ได้ pH 7 เมื่อผสมสารทั้งได้ตามต้องการแล้วนำมาปรับปริมาตรอีกครั้งให้ได้ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเกลือที่เตรียมไว้ผสมลงไปแล้วคนให้ละลาย ทำการเทน้ำยาเจือจางใส่ขวดที่เตรียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไว้ใส่ขวดละ 225 มิลลิลิตร ตวงด้วยกระบอกตวง และใช้ปิเปตดูดใส่หลอดปริมาตรหลอดละ 9 มิลลิลิตร นำเข้าฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**3. การทำไส้เอแคลร์**

**3.1 ส่วนผสมไส้**

1. แป้งข้าวโพด 1/4 ถ้วย + 2 ช้อนโต๊ะ
2. ไข่แดง 4 ฟอง
3. เนยสดจืด 5 ช้อนโต๊ะ
4. นมผง 1/3 ถ้วย
5. น้ำตาลทราย 1/2 ถ้วย
6. นมข้นจืด 3/4 ถ้วย
7. น้ำ 1 1/2 ถ้วย
8. วนิลา1/2 ช้อนชา
9. เกลือ 1/4 ช้อนชา

**3.2 วิธีทำไส้**

1 .ตวงนมข้นจืดและน้ำผสมกันไว้ ตวงแป้งกับนมผง

2. นำไข่แดงมาตีกับน้ำตาลทรายและเกลือ ตีจนน้ำตาลละลาย

3.ร่อนแป้งกับนมผงลงไปในไข่แดง ตะล่อมให้ให้กันดีและแป้งไม่เป็นเม็ด

4. ค่อยๆ ใส่นมข้นจืดที่ผสมน้ำไว้ทีละน้อย ตีผสมจนส่วนผสมเนียน กรองสองรอบ ส่วนผสมจะได้เนียน

5. นำส่วนผสมที่ได้ไปกวนให้สุกข้น พอส่วนผสมเริ่มข้นดีก็ใส่เนยลงไป กวนให้เข้ากันดีแล้วก็ใส่วนิลาเป็นขั้นตอนสุดท้าย

6. ก็ทิ้งไส้ขนมไว้ให้เย็น นำพลาสติกมาคลุมหน้าไส้ไว้หรือใส่กล่องที่มีฝาปิดเพื่อไม่ให้ผิวด้านหน้า ได้ไม่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

**การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธีไวเอเบิลเพลทเคาท์ ( viable plate count )**

**1. หลักการ**

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธีตรวจนับเฉพาะเซลล์ที่มีชีวิต(viable count) เป็นการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์เฉพาะที่ยังมีชีวิตอยู่และสามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้เท่านั้น โดยการตรวจนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นวุ้นในจานเพาะเชื้อ โดยถือว่าโคโลนีเจริญมาจากเซลล์หนึ่งเซลล์หรือกลุ่มของเซลล์ที่อยู่ใกล้ๆกัน

การตรวจนับโดยวิธีไวเอเบิลเพลท์เคาท์จะให้ผลความแม่นยำมากที่สุดเมื่อ

1.1 ตัวอย่างอาหารที่จะนำมาตรวจนับมีความเจือจางพอเหมาะ คือเมื่อนำตัวอย่างอาหารที่ทำการเจือจางแล้วมาทำการเพาะเชื้อให้เจริญบนอาหารวุ้นในจานเพาะเชื้อแล้วมีจำนวนโคโลนีระหว่าง 30 – 300 โคโลนี

1.2 โคโลนีที่เกิดขึ้นบนจานเพาะเชื้อมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ ไม่เกาะกลุ่มกันเป็นกระจุก

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการตรวจนับมีความเหมาะสมกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการตรวจนับ

1.4 อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมอื่นๆ ที่ใช้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์

**2. การตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (spread plate or surface plate)**

เทอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมงเพื่อให้ผิวแห้ง ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ต้องการปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนผิวหน้าอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้วรูปตัว L (spreader) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยการจุ่มแอลกอฮอล์ลนไฟแล้วทิ้งให้เย็นในอากาศ นำมาเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายไปทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งทำได้โดยใช้มือช่วยหมุนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ กลับจานเพาะเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35–37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีในระดับความเจือจางที่เหมาะสมได้ประมาณ 30 – 300 โคโลนี คำนวณจุลินทรีย์ต่อกรัมหรือต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค

## การทดสอบความแตกต่างโดยการประเมินทางประสาทสัมผัส

**การทดสอบความแตกต่าง (Different Test) โดยวิธีการเลือกตัวอย่างคี่จากสามตัวอย่าง (Triangle Test)**

หลักการ : เป็นการเสนอตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง ที่มีรหัส 3 หลักพร้อมกัน ภายใน 3 ตัวอย่างนี้จะมี 2 ตัวอย่างเหมือนกันและอีกตัวอย่างหนึ่งแตกต่างกันไป ผู้ตัดสินจะต้องเลือกตัวอย่างที่แตกต่างกันนั้น โดยอาศัยการตัดสินใจของตนเอง โอกาสที่ผู้ตัดสินจะเลือกตัวอย่างได้ถูกต้องเท่ากับ 1/3 การจัดลำดับการเสนอตัวอย่างทำโดยวิธีการสุ่ม อาจเป็น AAB ABA BAA ABB BAB BBA หรือสุ่มตัวเลขจากตาราง Master Sheet

การวิเคราะห์ผล : นำจำนวนผู้ทดสอบที่อบถูกเทียบกับตารางสำเร็จรูป

**ตารางภาคผนวกที่ 1** ตารางค่าต่ำสุดของผู้ทดสอบที่จะต้องเลือกตัวอย่างที่แตกต่างให้ถูกต้องโดยวิธี Triangle test

| | Significance Level (%) | | | | | Significance Level (%) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| n | 10 | 5 | 1 | 0.1 | n | 10 | 5 | 1 | 0.1 |
| 3 | 3 | 3 | - | - | 21 | 11 | 12 | 13 | 15 |
| 4 | 4 | 4 | - | - | 22 | 11 | 12 | 14 | 15 |
| 5 | 4 | 4 | 5 | - | 23 | 12 | 12 | 14 | 16 |
| 6 | 5 | 5 | 6 | - | 24 | 12 | 13 | 15 | 16 |
| 7 | 5 | 5 | 6 | 7 | 25 | 12 | 13 | 15 | 17 |
| 8 | 5 | 6 | 7 | 8 | 26 | 13 | 14 | 15 | 17 |
| 9 | 6 | 6 | 7 | 8 | 27 | 13 | 14 | 16 | 18 |
| 10 | 6 | 7 | 8 | 9 | 28 | 14 | 15 | 16 | 18 |
| 11 | 7 | 7 | 8 | 10 | 29 | 14 | 15 | 17 | 19 |
| 12 | 7 | 8 | 9 | 10 | 30 | 14 | 15 | 17 | 19 |
| 13 | 8 | 8 | 9 | 11 | 31 | 15 | 16 | 18 | 20 |
| 14 | 8 | 9 | 10 | 11 | 32 | 15 | 16 | 18 | 20 |
| 15 | 8 | 9 | 10 | 12 | 33 | 15 | 17 | 18 | 21 |
| 16 | 9 | 9 | 11 | 12 | 34 | 16 | 17 | 19 | 21 |
| 17 | 9 | 10 | 11 | 13 | 35 | 16 | 17 | 19 | 22 |
| 18 | 10 | 10 | 12 | 13 | 36 | 17 | 18 | 20 | 22 |
| 19 | 10 | 11 | 12 | 14 | 42 | 19 | 20 | 22 | 25 |
| 20 | 10 | 11 | 13 | 14 | 48 | 21 | 22 | 25 | 27 |

Note: For values of n not in the table computer

$$z = (k - (1/3)n) / \sqrt{(2/9)n}$$

where k is the number of correct answers.

ที่มา : http://www.fao.org/DOCREP/v7180e/V7180E12.HTM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## แบบทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส
### ผลิตภัณฑ์เอแคลร์

เพศ O ชาย O หญิง อายุ O 18-23 ปี O ไม่ใช่อายุ18-23 ปี

ท่าน O ชอบเอแคลร์ O ไม่ชอบเอแคลร์

ท่านรับประทานผลิตภัณฑ์เอแคลร์

O ไม่ชอบรับประทาน O เดือนละมากกว่า 2-3 ครั้ง

O เดือนละ 2-3 ครั้ง O เดือนละน้อยกว่า 2-3 ครั้ง

**คำแนะนำ** กรุณาชิมตัวอย่างที่เสนอแต่ละชุดตามลำดับจากซ้ายไปขวา ในแต่ละชุดมี 3 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่เหมือนกัน 2 ตัวอย่าง จงเขียนวงกลมล้อมรอบตัวอย่างที่แตกต่าง กรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่าง

| | | | |
|---|---|---|---|
| **ชุดที่ 1** | 383 | 349 | 468 |
| **ชุดที่ 2** | 975 | 973 | 235 |

**ข้อเสนอแนะ**

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้