ผลของน้ำส้มสายชูกลั่นในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmorella* Ratchaburi ในโหระพา *Ocimum bacilicum* Linn.

EFFECTS OF DISTILLED VINEGAR ON REDUCTION OF *Salmorella* Ratchaburi ON SWEET BASIL *Ocimum bacilicum* Linn.

แก้วกาญจน์ จันทนายิ่งยง

KAEWKARN CHANTANAYINGYONG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิทยาศาสตร์อาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2555

KMITL-2012-AI-M-054-146

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของน้ำส้มสายชูกลั่นในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Ratchaburi ในโหระพา *Ocimum bacilicum* Linn.

EFFECTS OF DISTILLED VINEGAR ON REDUCTION OF *Salmonella* Ratchaburi ON SWEET BASIL *Ocimum bacilicum* Linn.

แก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง

KAEWKARN CHANTANAYINGYONG

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 122969
วัน,เดือน,ปี 10 ต.ค. 2555

b.....
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2555

KMITL-2012-AI-M-054-146

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPY RIGHT 2012

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของน้ำส้มสายชูกลั่นในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Ratchaburi ในโหระพา *Ocimum basilicum* Linn.

Effects of Distilled Vinegar on Reduction of *Salmonella* Ratchaburi on Sweet Basil *Ocimum basilicum* Linn.

ชื่อนักศึกษา นางสาวแก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง

รหัสประจำตัว 50068753

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา สุขาภิบาลอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ	
รศ.ดร.วรวุฒิ ครูส่ง	
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
รศ.ดร.สุเมธ ตันตระเธียร	

วัน / เดือน/ ปีที่สอบ 22 พฤษภาคม 2555 เวลา 09.30 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้อง A 302 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ตั้งเจริญชัย)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 31 **เดือน** พฤษภาคม **พ.ศ.** 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของน้ำส้มสายชูกลั่นในการลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* Ratchaburi ในโหระพา *Ocimum bacilicum* Linn.
นักศึกษา	นางสาวแก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง
รหัสประจำตัว	50068753
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2555
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการเจริญของเชื้อ *S.* Ratchaburi ในหลอดทดลอง พบว่าระดับความเข้มข้นของกรดแอซีติกในน้ำส้มสายชูกลั่นมีอิทธิพลร่วมกับระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อ ซึ่งส่งผลต่อการลดลงของเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ทำการทดสอบ โดยเมื่อใช้น้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกมากขึ้นและใช้ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้น ตรวจพบปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาเหลือรอดน้อยลง โดยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 2.00% ระยะเวลาสัมผัสตั้งแต่ 5 นาที เป็นต้นไป สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 6.19 log CFU/ml ได้อย่างสมบูรณ์ และการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.00 - 2.00% ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับสูง (ปริมาณ 6.18 log CFU/g) และความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.10 - 1.00% ในการยับยั้งเชื้อระดับต่ำ (ปริมาณ 2.13 log CFU/g) ระยะเวลา 10 นาที พบว่าน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50 และ 0.40% มีประสิทธิภาพทำลายเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับสูงและต่ำได้อย่างสมบูรณ์ คือตรวจไม่พบการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา พบว่าการปนปื้อนของเชื้อในระดับสูง (ปริมาณ6.06 log CFU/g) บนโหระพา เมื่อทำการล้างด้วยน้ำส้ม สายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50% ระยะเวลา 10 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Ratchaburi ลงได้อย่างสมบูรณ์ แต่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอด 3.14 log CFU/g และที่การปนปื้อนของเชื้อในระดับต่ำ (ปริมาณ 2.91 log CFU/g) สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Ratchaburi ลงได้อย่างสมบูรณ์ แต่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอด 3.61 log CFU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางกายภาพของโหระพาภายหลังการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50 และ 0.40% เปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) พบว่าการล้างผักด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นไม่มีผลในเรื่องคุณภาพของโหระพาภายหลังการล้าง พบว่า ผู้ประเมินให้การยอมรับคุณภาพของโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากโหระพาที่ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Effects of Distilled Vinegar on Reduction of *Salmonella* Ratchaburi on Sweet Basil *Ocimum bacilicum* Linn.
Student	Miss Kaewkarn Chantanayingyong
Student ID	50068753
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2012
Thesis Advisor	Dr. Aphacha Jindapresert

ABSTRACT

The study was conducted to determine the efficacy of distilled vinegar in reduction of *Salmonella* Ratchaburi. The results showed that acetic acid in distill vinegar had combined effects with the exposure time and they were impacted to reducing cells of *S.* Ratchaburi. When using acetic acid in higher concentration and higher exposure time found the survival cells of microorganisms decreased. The reduction of *S.* Ratchaburi were test in 6.19 log CFU/ml and using acetic acid 2.00% for the exposure time 5-15 min found that acetic acid completely inhibited cells of *S.* Ratchaburi which not detected the growth cells in media agar. For the study of efficacy of distilled vinegar which contained acetic acid 1.00-2.00% and 6.18 log CFU/g in high contamination level and acetic acid 0.10-1.00% and 2.13 log CFU/g in low contamination level for the exposure time 10 min. The results showed that acetic acid 1.50 & 0.40% in distilled vinegar were the most effective in eliminated *S.* Ratchaburi for high and low contamination level, respectively. Then the results of contaminated *S.* Ratchaburi reduction in sweet basil which inoculated cells of *S.* Ratchaburi for high contamination level (6.06 log CFU/g) and low contamination level (2.19 log CFU/g). After washing vegetable with distilled vinegar solution which contain acetic acid 1.50% not found the survival cells of *S.* Ratchaburi in media agar, survivals TPC 3.14 log CFU/g for high inoculation and also not found the survival cells of *S.* Ratchaburi in media agar, survivals TPC 3.61 log CFU/g for low inoculation.

In order to concerned to the quality acceptance of sweet basil after washing with 1.5 and 0.4% acetic acid in distilled vinegar solution for 10 min compared with sweet basil that washing with sterile distilled water (control) for 10 min. The results implied that the washing method not effected to the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

physical properties of sweet basil and the 30 panelists have been accepted sweet basil which washing with the distilled vinegar and distilled water were not significantly different in acceptability ($P>0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ และได้กรุณาให้ความรู้ แนวคิด คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการดำเนินการวิจัย ตลอดจนแก้ไขปัญหาต่างๆอันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้ รวมถึงการตรวจแก้ไขรูปเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง และ รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ อาจารย์ประจำคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ รศ.ดร. สุเมธ ตันตระเธียร อาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และได้กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจทาน และแก้ไข จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณทุนวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2555 คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่เทคนิค และเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ ให้ข้อมูลและคำแนะนำต่างๆในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ นักศึกษาคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และให้กำลังใจในการทำวิจัยนี้มาตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติๆทุกคนที่คอยสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณคุณบุรศักดิ์ เอี่ยมประดิษฐ์ภัณ ที่ได้กรุณาช่วยเหลือประสานงาน สนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษาครั้งนี้มาตั้งแต่ต้น จนกระทั่งวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ลงด้วยดี

แก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III
กิตติกรรมประกาศ.....V
สารบัญ.....VI
สารบัญตาราง.....VIII
สารบัญภาพ.....IX

บทที่ 1 บทนำ
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....1
1.2 ขอบเขตงานวิจัย.....3
1.3 วัตถุประสงค์.....3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2.1 โหระพา.....5
2.2 เชื้อซัลโมเนลลา.....6
2.3 น้ำส้มสายชู (Vinegar).....11
2.4 กรดแอซีติก.....15
2.5 บรรจุภัณฑ์พลาสติก.....17
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....19

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง
3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย.....25
3.2 อุปกรณ์การทดลอง.....25
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....26
3.4 สารเคมี.....26
3.5 เชื้อจุลินทรีย์.....26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6 วิธีการทดลอง.....26

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่น
ต่อการเจริญของเชื้อ S. Ratchaburi ในหลอดทดลอง.....33

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่น
ต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา.....38

4.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของโหระพา
หลังผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นในระหว่างการเก็บรักษา.....43

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง.....44

5.2 ข้อเสนอแนะ.....45

บรรณานุกรม.....46

ภาคผนวก

ก สูตรและการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....53

ข การวิเคราะห์ทางเคมีและการเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น.....58

ค การวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์.....63

ง การทดสอบทางด้านประสัมผัส.....68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 คุณค่าทางโภชนาการในโหระพาสด 100 กรัม.....6

2.2 การปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ต่างๆในผักและผลไม้สด.....14

2.3 คุณสมบัติทั่วไปของกรดแอซีติก.....18

4.1 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอด ภายหลังการสัมผัสกับอาหาร TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติก 0.25 0.50 0.75 1.00 และ 2.00% บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 5 10 และ 15 นาที โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.19±0.24 log CFU/ml.....34

4.2 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดและการยับยั้งการเจริญของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติกในช่วง 1.00-2.00% บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 นาที โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.18±0.47 log CFU/ml.....36

4.3 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดและการยับยั้งการเจริญของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติกในช่วง 0.10-1.00% บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 นาที โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2.13±0.44 log CFU/ml.....37

4.4 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เหลือรอดในโหระพาในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50% ระยะเวลา 10 นาที ที่มีปริมาณ *S.* Ratchaburi ในระดับสูง.....39

4.5 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เหลือรอดในโหระพาในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.40% ระยะเวลา.....40 10 นาที ที่มีปริมาณ *S.* Ratchaburi ในระดับต่ำ

4.6 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.4 และ 1.5% เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น 4±1 และอุณหภูมิห้อง 31±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน.....41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดแอซีติก.....16

2.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์.....17

4.1 ลักษณะการเปลี่ยนคุณลักษณะทางกายภาพของโหระพา ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (4±1 องศาเซลเซียส) (ก) ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ข) ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.4% (ค) ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.5% และโหระพาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) (ง) ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (จ) ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.4% (ฉ) ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.5% โดยเก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน.....42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสดนอกจากจะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคแล้ว ยังส่งผลให้เกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจอีกด้วย ประเทศไทยมีการส่งออกสินค้าพืชผัก ผลไม้และสมุนไพรไปยังตลาดสหภาพยุโรปหรืออียูมากเป็นอันดับสองรองจากตลาดญี่ปุ่น ในแต่ละปีมีแนวโน้มการส่งออกเพิ่มสูงขึ้น โดยในปี พ.ศ. 2553 มูลค่าการส่งออกผักสดไปยังตลาดอียูมีมูลค่า 1,086 ล้านบาท คิดเป็นสัดส่วนการส่งออก 17.68 ของมูลค่าการส่งออกผักสดแบบแช่เย็นและแช่แข็งทั้งหมด (ส่วนงานสารสนเทศและเผยแพร่วิชาการ, 2554)โดยเฉพาะพืชผักสวนครัวและสมุนไพรชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นที่ต้องการของร้านอาหารไทยที่ขยายตัวเพิ่มมากขึ้นในอียูอย่างต่อเนื่อง ผักสดส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ ผักชีไทย ผักชีฝรั่ง ใบกะเพรา ใบโหระพา ใบสะระแหน่ ต้นหอม ถั่วฝักยาว เป็นต้น แต่ในการส่งออกสินค้าพืชผักสมุนไพรของไทยไปยังอียูได้รับการแจ้งเตือนเกี่ยวกับปัญหาด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชอยู่บ่อยครั้ง โดยในปี พ.ศ. 2548 ตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลา และ *Escherichia coli* ติดต่อกันหลายครั้ง ส่งผลให้ประเทศนอร์เวย์ระงับการนำเข้าพืชผักและสมุนไพรไทยทุกชนิด และปัญหาดังกล่าวได้ขยายผลไปยังประเทศสมาชิกอื่นๆด้วย (กรชกร แก้วทองคำ, 2548) ในปี พ.ศ. 2552 มีสถิติการแจ้งเตือนปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และสารตกค้างในสินค้าพืชผักและสมุนไพรที่นำเข้าจากไทย จำนวน 62 ครั้ง ปี พ.ศ. 2553 ที่ผ่านมาได้รับการแจ้งเตือนแล้ว 73 ครั้ง (คณะผู้แทนไทยประจำประชาคมยุโรป, 2553) โดยในปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยไม่ได้รับการแจ้งเตือนปัญหาดังกล่าว แต่การส่งออกพืชผักและสมุนไพรไทยไปยังอียูก็ยังคงต้องอยู่ภายใต้กฎระเบียบเงื่อนไขการนำเข้าสินค้าใหม่ที่เพิ่มมาตรการเข้มงวดในการตรวจสอบและควบคุมการนำเข้าสินค้าพืชผักของไทยเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสมุนไพร 3 ประเภท ได้แก่ ผักชี กะเพรา-โหระพา และสะระแหน่ มีการเพิ่มการกักสุ่มและขยายมาตรการตรวจเชื้อซัลโมเนลลาจากเดิมที่ระดับ 5 เป็น 10% ด้วย (คณะผู้แทนไทยประจำประชาคมยุโรป, 2553) ซึ่งส่งผลกระทบต่อผู้ประกอบการส่งออกสินค้าผักสดในวงกว้าง เนื่องจากสินค้าถูกด่านของอียูกักเพื่อรอการตรวจสอบ ทำให้เกิดความล่าช้าในการจัดส่งสินค้าให้แก่ร้านค้าปลีก อีกทั้งผู้ประกอบการต้องแบกรับค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบเพิ่มขึ้นด้วย (ชุติมา ศิริชุมแสง, 2554)

เชื้อซัลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหารที่สำคัญ พบได้ทั่วไปในเนื้อสัตว์ดิบ นมและผลิตภัณฑ์นม รวมทั้งผักและผลไม้ (Meldrum และคณะ, 2009) หากผู้บริโภคได้รับเชื้อเข้าไปจะทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ โดยผู้ป่วยจะมีอาการท้องเดิน คลื่นไส้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปวดท้อง ไข้สูงปานกลาง หนาวสั่น ในบางครั้งอาจอาเจียน อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร และปวดศีรษะ อาการจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อแล้วประมาณ 6-48 ชั่วโมง และมีอาการอยู่ระหว่าง 1-15 วัน (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และพิทยา เหล่าสมบัติ, 2553) มีรายงานการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในผักและผลไม้สดในช่วงปี ค.ศ. 1996-2008 พบมีผู้เจ็บป่วยเนื่องจากการบริโภคผักผลไม้สด 82 ราย โดย 28 ราย (34%) มีสาเหตุมาจากการบริโภคผักใบเขียว (Patel และ Sharma, 2010) และในเดือนสิงหาคม ปี ค.ศ. 2008 ตรวจพบ *Salmonella* Saintpaul ในพริกไทยและมะเขือเทศใน 43 รัฐของประเทศสหรัฐอเมริกาและแคนาดา ส่งผลให้มีผู้เจ็บป่วยจากเชื้อโรคดังกล่าว จำนวน 1,442 ราย (Centers for Disease Control and Prevention, 2008) สำหรับประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนในผักสดจากร้านค้าในตลาดและห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพฯ ช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม พ.ศ. 2537 พบการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาบนผักสะระแหน่ (*S.* Derby และ *S.* Muenchen) โหระพา (*S.* Rissen) ผักกาดหอม (*S.* London) และกะหล่ำปลี (*S.* Weltevreden) (อดิศร เสวตวิวัฒน์ และปรีชา จึงสมานุกูล, 2538) นอกจากนี้ยังพบการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาหลายสายพันธุ์ในผักสดที่นิยมบริโภคดิบและไม่ผ่านความร้อนจากตลาดสดในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา และเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร จากการสุ่มตัวอย่างผัก จำนวน 40 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาในผัก จำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็น 25% โดยตรวจพบเชื้อในสะระแหน่ (*S.* Corvalis และ *S.* Agona) ผักบุ้งไทย (*S.* Weltevreden และ *S.* Amsterdam) ผักชี (*S.* Corvarlis และ *S.* Rubislow) ผักกาดหอม (*S.* Corvalis และ *S.* Hvittingfoss) อย่างละ 2 ตัวอย่าง ผักกาดขาว (*S.* Agona) และผักชีฝรั่ง (*S.* Corvalis) อย่างละ 1 ตัวอย่าง (นวรัตน์ รัตนดิลก ณ ภูเก็ต, 2552) และจากการตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในโหระพาที่ไม่ผ่านการล้าง โดยสุ่มตัวอย่างจากตลาดสดในอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น พบมีปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาสูงถึง 5.26 log CFU/g (ตรีอุบล แก้วหย่อง และบวรศักดิ์ ลีลานนท์, 2553)

S. Ratchaburi ตรวจพบครั้งแรกโดยปนเปื้อนในอาหารประเภทลาบและยำ และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคซัลโมเนลโลซิสในผู้ป่วย จำนวน 11 ราย ที่จังหวัดราชบุรี (Bangtrakulnonth และคณะ, 1999) อาจมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Ratchaburi ในโหระพาที่ใช้เป็นวัตถุดิบโดยไม่ผ่านความร้อน หากมีการจัดการผักตั้งแต่กระบวนการเพาะปลูกไปจนถึงภายหลังการแปรรูปไม่ดี ทำให้เชื้อซัลโมเนลลาเหลือรอดในผักสด ส่งผลให้ผู้บริโภคได้รับอันตรายได้ (Beuchat, 2002)

การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ซัลโมเนลลาในผักสด สามารถแก้ปัญหาได้ด้วยการกำจัดหรือลดจำนวนจุลินทรีย์ออกโดยเฉพาะในขั้นตอนการล้างผักที่มีการใช้สารล้างผักที่มีประสิทธิภาพ จากรายงานพบว่าการล้างผักด้วยน้ำสามารถกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาจากภายนอกได้เป็นอย่างดี แต่ยังคงเหลือจุลินทรีย์ตามธรรมชาติของผักอยู่ และการล้างจำเป็นต้องใช้น้ำปราศจากจุลินทรีย์ มิเช่นนั้นจะเป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ซึ่งสามารถเจริญได้อีกบนพื้นผิวที่ชื้นของผัก (บุญศรี จงเสรีจิตต์, 2552) โดยทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การล้างผักนิยมล้างด้วยน้ำผสมคลอรีนและน้ำยาล้างผัก เพื่อกำจัดจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนมากับผัก แต่วิธีนี้ก็มีข้อจำกัดเนื่องจากต้องใช้สารเคมีในปริมาณที่มีการควบคุม (Sengun และ Karapinar, 2004) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจนำน้ำส้มสายชูกลั่นซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่หาได้ง่าย ราคาถูกและนิยมใช้บริโภคกันในระดับครัวเรือน มาทำการศึกษาผลของน้ำส้มสายชูกลั่นที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ กันต่อการลดจำนวน *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนในโหระพา ซึ่งเป็นผักที่นิยมรับประทานสดแกล้มกับอาหารหลายชนิดโดยไม่ผ่านความร้อน จัดว่ามีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหารค่อนข้างสูง หากไม่ผ่านกระบวนการล้างที่มีประสิทธิภาพ โดยศึกษาสภาวะในการล้างผักด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นและอายุการเก็บรักษาโหระพาเพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาและทำให้เกิดความปลอดภัยในการบริโภค

1.2 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการทดสอบผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการลดลงของเชื้อ *S.* Ratchaburi ในหลอดทดลอง เพื่อหาช่วงความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับต่ำและสูงได้ดีที่สุด และนำสภาวะที่ได้มาศึกษาวิธีการล้างโหระพาที่มีการปนปื้อนเชื้อ 10^6 CFU/g (การปนเปื้อนของเชื้อระดับสูง) และ 10^2 CFU/g (การปนเปื้อนของเชื้อระดับต่ำ) ด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นด้วยวิธีการแช่ ทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอด และทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของโหระพาในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง

1.3 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการเจริญของเชื้อ *S.* Ratchaburi ในหลอดทดลอง
2. ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา
3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของโหระพาหลังผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นในระหว่างการเก็บรักษา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อ *S.* Ratchaburi ด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นในหลอดทดลอง และสภาวะที่เหมาะสมในการล้างโหระพาด้วยน้ำส้มสายชูกลั่น เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Ratchaburi บนโหระพา ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัย นอกจากนี้ยังทราบสภาวะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมาะสมในการเก็บรักษาโหระพาหลังผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่น เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาโหระพาได้นานขึ้น และสามารถนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้เพื่อลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผักและผลไม้สดทั้งในระดับครัวเรือนและระดับอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โหระพา

โหระพามีชื่อสามัญคือ sweet basil และชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Ocimum basilicum* Linn. โดยมีชื่ออื่นๆคือ common basil กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอนเรียก ห่อกวยซวย ห่อวอซุ ฉาน-แม่ฮ่องสอนเรียกว่า อิ่มคิมขาว จีนแต้จิ๋วเรียกว่า หล่อเล็ก จีนกลางเรียกว่า หลัวเล่อ โหระพามีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกาและทวีปเอเชีย ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของโหระพาเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก ตระกูลเดียวกับแมงลักและกะเพรา ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยม กิ่งอ่อนเป็นสีเขียวแกมม่วง มีขนอ่อนปกคลุม ใบเดี่ยวลักษณะยาวรี ปลายและโคนใบเรียวแหลมออกเป็นคู่ตรงข้ามกัน สีเขียวเข้ม ออกดอกเป็นช่อที่ปลายยอด มีลักษณะเป็นชั้นๆ คล้ายฉัตร ดอกมีทั้งสีขาวและสีม่วงแกมแดงอ่อน ยาวประมาณ 9 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยงสีขาว แยกเป็น 2 ปาก โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 2 ปาก ปากล่างมีสีม่วงแดงคาดตามยาว ปากบนมีขนาดใหญ่กว่า ปลายแยกเป็น 4 กลีบ มีใบประดับสีเขียวแกมม่วง ผลมี เมล็ดอยู่ 4 เมล็ด ใบมีความกว้างประมาณ 2-3 เซนติเมตร ยาวประมาณ 3-4 เซนติเมตร โหระพาปลูกได้ทุกฤดูกาล ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและปักชำกิ่ง ระยะเวลาตั้งแต่ปลูกจนถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 45 วัน และพบได้ทุกภาคของประเทศไทย (ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์ และนิดดา หงษ์วิวัฒน์, 2548)

สรรพคุณทางยาของโหระพาใช้ต้นต้มน้ำดื่ม เพื่อลดอาการไข้ แก้พิษฝี หลอดลมอักเสบ แก้พิษตานซาง ส่วนใบนำมาคั้นน้ำแล้วต้มดื่ม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้ลมวิงเวียน ช่วยย่อยอาหาร ขับลมในลำไส้ ขับเสมหะ ตำพอกแก้โรค ไขข้ออักเสบ แก้แผลอักเสบ ยอดอ่อนใช้ตำแก้พิษแมลงสัตว์กัดต่อย ส่วนเมล็ด ใช้แก้ไอ ขับพยาธิ ขับน้ำเหลืองเสีย พอกฝี แช่น้ำกินเป็นยาระบาย (ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์ และนิดดา หงษ์วิวัฒน์, 2548)

โหระพาเป็นพืชสมุนไพรที่ได้รับความนิยมในการนำมาบริโภคสด โดยในต่างประเทศใช้ใบโหระพาสดในการแต่งกลิ่นรสของอาหาร เช่น ซอส สตูว์ สลัด ผักดอง เป็นต้น ส่วนโหระพาสดและอบแห้งนิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบและแต่งกลิ่นรสของอาหารอิตาเลียน เมดิเตอร์เรเนียน และเวียดนาม ส่วนใบใหญ่ๆ และดอกถูกนำมาใช้ในการตกแต่งจานอาหาร (Paull, 2007) สำหรับตำรับอาหารไทยนิยมบริโภคใบและยอดอ่อนโหระพาสดกับอาหารประเภท ลาบ ยำ ก๋วยเตี๋ยวเรือ แกงเผ็ด และผัดเผ็ด (ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์ และนิดดา หงษ์วิวัฒน์, 2548) ยิ่งไปกว่านั้นโหระพายังเป็นแหล่งของเบต้าแคโรทีน (β–carotene) ชั้นดีอีกด้วย (Paull, 2007) คุณค่าทางโภชนาการของโหระพาสด ดังตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการในโหระพาสด 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณ	
พลังงาน	44	กิโลแคลอรี
ไขมัน	1	กรัม
คาร์โบไฮเดรต	5.4	กรัม
แคลเซียม	165	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	46	มิลลิกรัม
เส้นใย	3.9	กรัม
วิตามินบี1	9.12	มิลลิกรัม
วิตามินบี2	9.16	มิลลิกรัม
ไนอะซิน	0.8	มิลลิกรัม
วิตามินซี	22	มิลลิกรัม
เบตา-แคโรทีน	452.16	ไมโครกรัม

ที่มา : ระพีพรรณ ใจภักดี (2545)

Bagamboula และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของโหระพา พบว่าน้ำมันหอมระเหยในโหระพามีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ โดยมีสารประกอบฟีนอลิคที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น คาร์วาครอล (carvacrol) ยูจีนอล (eugenol) เมนทอล (menthol) ลิโมนีน (limonene) ลินาลูล (linalool) แอลฟา-คาร์ดินอล (∝-cadinol) แอลฟา-เบอร์กามอทีน (∝-bergamotene) และ แคมเฟอร์ (camphor) เป็นต้น สารคาร์วาครอลในโหระพาสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายชนิด และยับยั้งการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนในปลาสด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้ (Bagamboula และคณะ, 2004) จากการทดลองการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* พบว่า สารลินาลูลและคาร์วาครอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้มากที่สุด (Bagamboula และคณะ, 2004)

2.2 เชื้อซัลโมเนลลา

2.2.1 ลักษณะที่สำคัญของซัลโมเนลลา (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

ซัลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ที่พบได้ทั่วไปทั้งในสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมทั้งมนุษย์ ลักษณะของเชื้อมีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ มีขนาดประมาณ 0.7-1.5 ไมโครเมตร ยาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.0-5.0 ไมโครเมตร เจริญได้ดีทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (water activity, a_w) ต่ำสุดสำหรับการเจริญประมาณ 0.93-0.95 สำหรับการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อโคโลนีมีลักษณะขอบเรียบ ผิวมัน ไม่มีสี เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-4 มิลลิเมตร เจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 37-45 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส เซลล์ไม่ทนทานต่อความร้อน จะถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส นาน 15-20 นาที ในขณะที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแต่ไม่สามารถทำลายเชื้อได้

ซัลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีความรุนแรง นอกจากเป็นสาเหตุให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีประวัติการระบาดสูงเป็นอันดับหนึ่งในสหรัฐอเมริกา อังกฤษ และในอีกหลายๆประเทศแล้ว ยังทำให้ประชากรเสียชีวิตสูงสุด แบคทีเรียนี้อยู่ในตระกูลเอนเตอโรแบคเทอริซิอี (Enterobacteriaceae) เช่นเดียวกับแบคทีเรียจำพวกโคลิฟอร์ม (Coliforms) และ *E. coli* เชื้อซัลโมเนลลาชอบอุณหภูมิปานกลาง แม้ว่าที่ 37 องศาเซลเซียส จะเป็นอุณหภูมิเหมาะสม แต่ที่ 42 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่นิยมใช้บ่มเพาะเชื้อในขั้น selective enrichment เพราะที่อุณหภูมินี้เชื้อซัลโมเนลลาสามารถเจริญแข่งกับอุณหภูมิอื่นๆได้ดีกว่า คนและสัตว์เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยปฐมภูมิตามธรรมชาติ (primary habitat) ของเชื้อซัลโมเนลลา การเกิดโรคอาหารเป็นพิษสืบเนื่องมาจากการบริโภคอาหารหรือน้ำดื่มที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนผ่านทางเดินอาหาร

2.2.2 แหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

ในทางระบาดวิทยา จำแนกเชื้อซัลโมเนลลาออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ

2.2.2.1 เชื้อซัลโมเนลลาที่อาศัยคนเป็นโฮสต์เพียงอย่างเดียว

ประกอบด้วย *S.* Typhi, *S.* Paratyphi และ *S.* Paratyphi C เป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์และไข้รากสาดน้อย จัดเป็นเชื้อซัลโมเนลลาที่มีความรุนแรงมากที่สุดและก่อให้เกิดอัตราการเสียชีวิตสูงที่สุด ในบรรดาเชื้อซัลโมเนลลาทั้งหมดเชื้อไข้ไทฟอยด์ใช้เวลาฟักตัวนานที่สุด ผู้ป่วยมักมีไข้ขึ้นสูงมาก อาจแยก *S.* Typhi ได้จากเลือด อุจจาระ และ/หรือปัสสาวะของผู้ป่วยได้ก่อนและหลังอาการไข้ขึ้นสูง ส่วนไข้รากสาดน้อยมีอาการรุนแรงน้อยกว่า ไข้ไทฟอยด์

2.2.2.2 เชื้อซัลโมเนลลาที่ปรับตัวตามโฮสต์

เชื้อซัลโมเนลลาในกลุ่มนี้สามารถทำให้เกิดโรคกับคนโดยผ่านทางอาหาร ประกอบด้วย *S.* Enteritidis สายพันธุ์ PT4, *S.* Pullorum และ *S.* Gallinarum อาศัยเป็ดและไก่เป็นโฮสต์ประจำ *S.* Dublin อาศัยวัวเป็นโฮสต์ประจำ *S.* Abortus-equi อาศัยม้าเป็นโฮสต์ประจำ *S.* Abortus-ovis อาศัยแกะเป็นโฮสต์ประจำและ *S.* Choleraesuis อาศัยห่านเป็นโฮสต์ประจำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.3 เชื้อซัลโมเนลลาที่ไม่จำกัดโฮสต์

เชื้อซัลโมเนลลาในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรคกับคนและสัตว์ ประกอบด้วยเชื้อซัลโมเนลลา ที่เหลือทั้งหมดซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (salmonellosis)

2.2.3 การจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาโดยอาศัยเทคนิคทางซีโรวิทยา (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

ในอดีตการจำแนกเชื้อซัลโมเนลลาอาศัยชนิดของซีโรวาร์ (serovars) ที่ได้จากการทดสอบปฏิกิริยาทางซีโรวิทยา (serology) คือปฏิกิริยาการตกตะกอนของโปรตีนจากเซลล์แบคทีเรียที่ผิว (somatic cells) และที่แฟลกเจลลา (flagella cells) โดยการอาศัยสมบัติของโปรตีนที่มีความจำเพาะตามลักษณะทางพันธุกรรมที่ประยุกต์มาใช้ทดสอบสปีชีส์ของเชื้อแบคทีเรีย

ต่อมาได้มีการใช้เทคนิคอื่นที่ใช้ยืนเป็นตัวทดสอบที่เรียกว่า DNA hybridization และ multilocus enzyme electrophoresis (MEE) typing ทำให้เชื้อซัลโมเนลลาทั้งหมดถูกนำมาจัดใหม่เป็น 2 สปีชีส์ คือ *S.* Enterica และ *S.* Bongori แต่ละสปีชีส์จำแนกออกเป็นอีกหลายสปีชีส์ย่อย (subspecies) เชื้อ ซัลโมเนลลากว่า 2,000 ซีโรวาร์ถูกนำมาจัดอยู่ในสปีชีส์ *S.* Enterica ซึ่งจำแนกออกเป็น 6 กลุ่มหรือ subspecies ดังนี้ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

Group I : *S. enterica* subsp. *enterica*

Group II : *S. enterica* subsp. *salamae*

Group III a : *S. enterica* subsp. *arizonae*

Group III b : *S. enterica* subsp. *diarizonae*

Group IV : *S. enterica* subsp. *houtenae*

Group VI : *S. enterica* subsp. *indica*

โดยเชื้อซัลโมเนลลากลุ่ม V เดิม ถูกยกอันดับขึ้นเป็นสปีชีส์คือ *S.* Bongori

สำหรับเชื้อซัลโมเนลลานั้น ในขั้นแรกจะทำการทดสอบปฏิกิริยาตอบสนองต่อชนิดของโปรตีนที่ผิวเซลล์ เรียกว่า somatic antigens (O-antigens) ก่อน โดยจำแนกซีโรวาร์ออกเป็นกลุ่มๆตามตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ เช่น A,B,C เรื่อยไป ตัวอย่างเช่น เชื้อซัลโมเนลลาที่มี O-antigens 6 และ 7 ได้รับการจัดไว้ในกลุ่ม C_1 ในขั้นที่สองเป็นการทดสอบปฏิกิริยาตอบสนองต่อชนิดของโปรตีนที่แฟลกเจลลาของแบคทีเรีย เรียกว่า flagella antigens (H-antigens) ซึ่งจำแนกออกเป็น 2 ชนิด คือ เฟส 1 หรือเฟสจำเพาะ (specific phase) และเฟส 2 หรือเฟสกลุ่ม (group phase) เฟส 1 ประกอบด้วยซัลโมมเนลลาไม่กี่สปีชีส์ เชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่จัดอยู่ในเฟส 2 โดยเชื้อซัลโมเนลลาหนึ่งๆอาจมี H-antigens ตกอยู่ในเฟสใดเฟสหนึ่งเพียงเฟสเดียว หรือตกอยู่ทั้งสองเฟสก็ได้ เฟส 1 ใช้สัญลักษณ์เป็นตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็ก ส่วนเฟส 2 ใช้ตัวเลขอารบิค ตัวอย่างเช่น การวิเคราะห์แอนติเจนของ *S.* Choleraesuis ปรากฏผลเป็น 6, 7, c, 1, 5 เลข 6, 7 เป็นตัวแทนของ O-antigens gr. C_1 ตัวอักษร c แทน H-antigens เฟส 1 และเลข 1,5 แทน H-antigens เฟส 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อของซัลโมเนลลาเป็นข้อตกลงระหว่างประเทศ ซีโรวาร์ที่บ่งถึงสปีชีส์ถูกตั้งชื่อขึ้นตามสถานที่ที่แยกเชื้อนั้นได้เป็นครั้งแรก เช่น *S.* London, *S.* Miami, *S.* Richmond, *S.* Muenchen, *S.* Bangkok, *S.* Ratchaburi และ *S.* Lamphun เป็นต้น ก่อนหน้านี้ได้มีการตั้งชื่อเชื้อซัลโมเนลลาหลายแบบ ตัวอย่างเช่น *S.* Typhimurium ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์ในหนูทดลอง

2.2.4 เชื้อ *S.* Ratchaburi

สำหรับในประเทศไทยมีการตรวจพบเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ใหม่ที่ยังไม่เคยพบที่ใดมาก่อนตั้งแต่ปี พ.ศ. 2515 ได้แก่ *S.* Bangkok, *S.* Ratchaburi และ *S.* Lamphun เป็นต้น เชื้อ *S.* Ratchaburi ตรวจพบครั้งแรก เมื่อวันที่ 8-17 มิถุนายน พ.ศ. 2531 โดยศูนย์ WHO National Salmonella and Shigella Center (NSSC) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้รับเชื้อซัลโมเนลลาจากโรงพยาบาลศูนย์ราชบุรีจำนวน 18 สายพันธุ์ ซึ่งแยกเชื้อได้จากผู้ป่วยเด็กเพศชาย 5 ราย เพศหญิง 5 ราย ผู้ป่วยชาย 1 ราย และเจ้าหน้าที่โรงครัวเพศหญิง 7 ราย มาทำการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีตามวิธี Edwards และ Ewing และทดสอบคุณสมบัติทางซีโรวิทยาโดย Gard Technique ผลการศึกษาพบว่าเชื้อซัลโมเนลลาทั้ง 18 สายพันธุ์จัดอยู่ใน Species I (enterica) และ subspecies I (enterica) อยู่ใน group E มี O antigen 3 และ 10 มี H antigen Phase I คือ z_{35} และ Phase II คือ 1, 6 สรุปคือมีโครงสร้าง *Salmonella* I. 3, 10 : z_{35} : 1, 6 เมื่อตรวจสอบจากคู่มือ Antigenic Formulas of the *Salmonella* serovars, 1997 ไม่พบว่ามีซีโรวาร์ใดที่มีโครงสร้างเช่นนี้ และเมื่อได้ทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ 15 ชนิด ปรากฏว่าเชื้อทั้ง 18 สายพันธุ์นี้ดื้อต่อ สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) และอีริโธรมัยซิน (erythromycin) แต่ไม่ดื้อต่อสารอีก 13 ชนิดเหมือนกัน จากนั้นได้ส่งเชื้อไปทดสอบที่ Centre International des Salmonella, Institute Pasteur ประเทศฝรั่งเศส ได้ผลการทดสอบเหมือนกับ NSSC และทาง Institute Pasteur ได้ส่งเชื้อนี้ไปที่ WHO Collaborating Center for Salmonella, Atlanta ประเทศสหรัฐอเมริกา และ Salmonella-Zentrale Hygienischen Institut, Hamburg ประเทศเยอรมันนี ผลการทดสอบตรงกันทั้ง 3 แห่งและได้มีมติว่าเป็นเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ใหม่ของโลก (Bangtrakulnonth และคณะ, 1999) และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้เสนอชื่อว่า *S.* Ratchaburi และได้ตีพิมพ์ใน WHO Collaborating Center for Salmonella (Bangtrakulnonth และคณะ, 1999)

2.2.5 การแพร่กระจายของเชื้อ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

แหล่งที่อยู่อาศัยลำดับแรกของเชื้อซัลโมเนลลา คือ ลำไส้ของสัตว์ เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยง มนุษย์ รวมทั้งแมลง แต่บางครั้งอาจพบเชื้อซัลโมเนลลาอยู่ตามร่างกายของมนุษย์และสัตว์ก็เป็นได้ จากลำไส้ของมนุษย์และสัตว์แบคทีเรียออกมาทางอุจจาระ อาศัย สัตว์ แมลง และน้ำ แพร่กระจายเข้าไปสู่สิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ ปุ๋ย ซากสัตว์ที่เน่าเปื่อย วนเวียนเข้าสู่วงจรของห่วงโซ่อาหารสู่ลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ วนเวียนเป็นวัฏจักร การขนส่งสัตว์และอาหารระหว่างประเทศมีส่วนทำให้เชื้อกระจายไปทั่วโลก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 การก่อโรค

ซัลโมเนลลาก่อโรคโดยเริ่มจากเข้าบุกรุกเซลล์ของลำไส้เล็กและเพิ่มจำนวนขึ้น หลังจากนั้นเซลล์จะแทรกไปยังลำไส้เล็กตอนปลายและมีเซลล์บางส่วนแทรกไปยังลำไส้ใหญ่และทำให้เกิดการอักเสบขึ้น ถุงน้ำเหลืองมีขนาดใหญ่ขึ้นและอาจเกิดแผลเน่าเปื่อย ต่อมน้ำเหลืองขยายใหญ่ขึ้น ในบางกรณีซัลโมเนลลาจะทำลายเยื่อเมือก บุกรุกเข้ามาในกระแสเลือดและทำให้เนื้อเยื่อต่างๆเป็นฝีหนอง (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคซัลโมเนลโลซิส นอกจากขึ้นอยู่กับภูมิคุ้มกันในแต่ละบุคคลที่แตกต่างกัน ความรุนแรงของสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อแล้ว ยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่เป็นพาหะอีกด้วย (D'Aoust, 1997)

2.2.7 อาการของโรคอาหารเป็นพิษ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

ตามปกติเชื้อซัลโมเนลลาที่ไม่เลือกโฮสต์สามารถทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษได้ภายในเวลา 12-14 ชั่วโมงหลังบริโภคอาหาร ผู้ป่วยมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ปวดศีรษะ หนาวสั่น และท้องเดิน ตามด้วยอาการเหงื่อแตก อ่อนเพลีย ปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อ เป็นลม มีไข้ปานกลาง มึนงง อาการมักทรงตัวอยู่ราว 2-3 วัน อัตราการตายเฉลี่ย 4.1% ทั้งนี้จะแตกต่างกันตามกลุ่มเสี่ยง คือ ทารกมีอัตราการตายประมาณ 5.8% ผู้สูงอายุประมาณ 15% และผู้อยู่ในวัยกลางคนประมาณ 2% หลังจากการป่วยแล้วประมาณ 5% ของผู้ติดเชื้อยังคงมีเชื้อซัลโมเนลลาอยู่ในร่างกายและกลายเป็นพาหะของเชื้อ (carrier) ต่อไป

2.2.8 การป้องกันและการควบคุม (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2549)

เนื่องจากทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยระดับปฐมภูมิของเชื้อซัลโมเนลลา จึงคาดว่าอุจจาระของมนุษย์และสัตว์อาจมีเชื้อซัลโมเนลลาด้วย แต่ในอุจจาระของสัตว์มีโอกาสพบเชื้อซัลโมเนลลาได้มากกว่าอุจจาระของมนุษย์เพราะสัตว์กินอาหารไม่เลือก อีกทั้งอาหารสัตว์ก็มีโอกาสปนเปื้อนได้มากกว่าอาหารมนุษย์ แหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่เชื้อซัลโมเนลลาไปยังเนื้อสัตว์ชำแหละคือ สัตว์ที่เป็นพาหะและอาหารสัตว์

การปนเปื้อนเชื้อในลำดับต่อมาคือ ผู้ปฏิบัติงานที่สัมผัสกับอาหาร ยิ่งถ้าผู้ทำหน้าที่ที่ต้องสัมผัสกับอาหารเป็นพาหะของเชื้อซัลโมเนลลาด้วยแล้ว ความเสี่ยงของผู้บริโภคก็จะยิ่งสูงขึ้น ที่ปลายทางก่อนการบริโภค การเตรียมและการเคลื่อนย้ายอาหารจำเป็นจะต้องกระทำอย่างถูกต้องทั้งในระดับครัวเรือนและในสถาบันจัดบริการอาหาร ผู้ให้บริการต้องมั่นใจว่าวิธีการจัดเตรียมและการบริการอาหารได้ทำลายเชื้อซัลโมเนลลาจนมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคแล้วเท่านั้นจึงจะให้บริการต่อไปได้ เพื่อป้องกันและลดความเสี่ยงที่อาจเกิดอันตรายกับผู้บริโภคจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.9 การปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาในผักสด

โดยทั่วไปเชื้อซัลโมเนลลามักพบปนเปื้อนในสัตว์ปีก แต่ภายหลังพบว่ามีการปนเปื้อนในผักและผลไม้สดหลายชนิด ซึ่งมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนผ่านทางดิน น้ำ อากาศ สัตว์ แมลง กรรมวิธีการเพาะปลูก และผู้ปฏิบัติงานด้านการเกษตร องค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา รายงานว่าสหรัฐอเมริกาพบผู้ป่วยจากการบริโภคผักสดเพิ่มขึ้นทุกปี โดยในปี ค.ศ. 1992 ตรวจพบเชื้อ *S.* Javiana ในสตรอเบอร์รี่ที่นำเข้ามาจากประเทศเม็กซิโก จากนั้นในปี ค.ศ. 1993 พบ *S.* Montevideo ในแคนตาลูป และในปี ค.ศ. 2000 พบ *S.* Baildon ในมะเขือเทศ (U.S. FDA, 2010) รายงานการตรวจพบการปนเปื้อนเชื้อ ซัลโมเนลลาในผักและผลไม้ ดังตารางที่ 2.2

2.3 น้ำส้มสายชู (Vinegar)

น้ำส้มสายชูเป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ประเภทไวน์ โดยน้ำส้มสายชูเกิดจากการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ไวน์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย ในสกุล Acetobacter ซึ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ให้เป็นกรดแอซิติค ในสภาพที่มีออกซิเจนทำให้ไวน์ ที่ได้นั้นมีรสเปรี้ยว จึงเรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า "น้ำส้มสายชู (Vinegar)" มาจากภาษาฝรั่งเศสว่า "Vinaigre" ซึ่งมีความหมายว่าไวน์เปรี้ยว (วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, 2532) น้ำส้มสายชูตามคำจำกัดความของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส ผลิตจากวัตถุดิบที่เหมาะสม เช่น ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาลหรือกากน้ำตาล ตามกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูแต่ละประเภท มีรสเปรี้ยวที่เกิดจากกรดแอซีติกเป็นส่วนใหญ่ (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2527)

2.3.1 ชนิดของน้ำส้มสายชู (กระทรวงสาธารณสุข, 2543)

น้ำส้มสายชูจัดเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน โดยน้ำส้มสายชูที่จำหน่ายตามท้องตลาดและที่จำแนกตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด

2.3.1.1 น้ำส้มสายชูหมัก

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นมาจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธัญพืช ผลไม้ หรือน้ำตาลมาหมักกับส่าเหล้าแล้วหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ การหมักจะเปลี่ยนน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเหล่านี้ให้เป็นแอลกอฮอล์ โดยอาศัยยีสต์ที่มีตามธรรมชาติ เพื่อให้น้ำส้มสายชูที่หมักมีกลิ่นหอมและรสชาติดี จากนั้นจะอาศัยแบคทีเรียตามธรรมชาติ หรือการเติมแบคทีเรีย เพื่อเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชูหมักจะมีสีเหลืองอ่อนตามธรรมชาติ มีรสหวานของน้ำตาลที่ตกค้าง มีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก ความแตกต่างใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านกลิ่นรส และความเข้มข้นขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก น้ำส้มสายชูหมักจะใส ไม่มีตะกอน ยกเว้นตะกอนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ และมีปริมาณกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4%

ตารางที่ 2.2 การปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาสายพันธุ์ต่างๆในผักและผลไม้สด

ปี ค.ศ.	สายพันธุ์เชื้อซัลโมเนลลา	ชนิดผัก/ผลไม้	ที่มา
1992	*S.* Montevideo	มะเขือเทศ	CDC (2010)
1993	*S.* Javiana	มะเขือเทศ	CDC (2010)
1994	*S.* London	ผักกาดหอม	อดิศร เสวตวิวัฒน์
1994	*S.* Derby/*S.* Muenchen	สะระแหน่	และปรีชา จึงสมานุกูล
1994	*S.* Rissen	โหระพา	(2538)
1994	*S.* Weltevreden	กะหล่ำปลี	
1997	*S.* Enteritidis	พริกหวาน	CDC (2010)
1998	*S.* Tennessee	ยอดอ่อนอัลฟาฟ่า	CDC (2010)
1999	*S.* Thompson	ผักชี	CDC (2010)
2000	*S.* Typhimurium DT204B	ผักกาดหอม	Patel and Sharma (2010)
2000	*S.* Typhimurium	กะหล่ำปลี	Patel and Sharma (2010)
2000	*S.* Chester	แคนตาลูป	Heaton and Jones (2008)
2001	*S.* Enteritidis	ถั่วงอก	CDC (2010)
2002	*S.* Javiana	มะเขือเทศ	
2004	*S.* Thompson	ผักกาดหอม	Heaton and Jones (2008)
2005	*S.* Typhi DT104	ผักโขม/ผักกาดหอม	CDC (2010)
2006	*S.* Anatum	โหระพา	CDC (2010)
2006	*S.* Typhimurium	มะเขือเทศ	Heaton and Jones (2008)
2007	*S.* Stanley	ยอดอ่อนอัลฟาฟ่า	
2007	*S.* Senftenberg	โหระพา	Patel and Sharma (2010)
2008	*S.* Litchfield	แคนตาลูป	Patel and Sharma (2010)
2009	*S.* Saintpaul	พริกไทย/มะเขือเทศ	CDC (2010)
2009	*S.* Saintpaul	ยอดอ่อนอัลฟาฟ่า	CDC (2010)
2010	*S.* Montevideo	พริกหวาน	CDC (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.2 น้ำส้มสายชูกลั่น

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำแอลกอฮอล์กลั่นเจือจาง (dilute distilled alcohol) มาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู หรือเมื่อหมักแล้วนำไปกลั่นอีก หรือได้จากการนำน้ำส้มสายชูหมักมากลั่น น้ำส้มสายชูกลั่นจะต้องมีลักษณะใส ไม่มีตะกอนและมีปริมาณกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4%

2.3.1.3 น้ำส้มสายชูเทียม

เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอากรดน้ำส้ม (acetic acid) ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นทางเคมี เป็นกรดอินทรีย์มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีความเข้มข้นประมาณ 95% มาเจือจางจนได้ปริมาณกรด 4-7% ลักษณะใส ไม่มีสี กรดน้ำส้มที่นำมาเจือจางจะต้องมีความบริสุทธิ์สูงเหมาะสมที่จะนำมาเป็นอาหารได้ และน้ำที่ใช้เจือจางต้องเหมาะสมที่จะใช้ดื่มได้

2.3.2 การควบคุมคุณภาพหรือมาตรฐานน้ำส้มสายชู (กระทรวงสาธารณสุข, 2543)

น้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

1. มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส
2. ตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินปริมาณกำหนด ดังต่อไปนี้
   - สารหนู ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   - ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   - ทองแดงและสังกะสี ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   - เหล็ก ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
3. ไม่มีกรดน้ำส้มที่มิได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น
4. ไม่มีกรดกำมะถัน (Sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น
5. ใสไม่มีตะกอน เว้นแต่น้ำส้มสายชูหมักตามธรรมชาติ
6. ไม่มีหนอนน้ำส้ม (Vinegar eel)
7. ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม
8. ให้ใช้วัตถุเจือปนอาหาร (food additives) ได้ ดังต่อไปนี้
   - ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   - กรดแอล-แอสคอร์บิก ไม่เกิน 400 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
9. มีแอลกอฮอล์ตกค้าง (residual alcohol) ไม่เกิน 0.5%
10. การแต่งสี ให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้หรือสีคาราเมล

น้ำส้มสายชูเทียม ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

1. มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัม และไม่เกิน 7 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส
2. ตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินปริมาณที่กำหนด ดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สารหนู ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
- ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
- ทองแดงและสังกะสี ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
- เหล็ก ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

3. ใสไม่มีตะกอน
4. ไม่มีกรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น
5. ไม่ใช้สี
6. ไม่มีการแต่งกลิ่นหรือรส
7. ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม

2.3.3 การใช้ประโยชน์จากน้ำส้มสายชู

2.3.3.1 การใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหาร

น้ำส้มสายชูมีองค์ประกอบสำคัญทางเคมีเป็นกรดแอซีติกหรือกรดน้ำส้มซึ่งเป็นกรดอ่อน มักใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารและการถนอมอาหาร และเป็นสารอินทรีย์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร โดยนำน้ำส้มสายชูมาใช้ในการหมักดองอาหารพวกผัก ปลา นำมาใช้ในการทำน้ำสลัด น้ำซอส หรือมัสตาร์ด เป็นต้น (ดุษณี ธนะบริพัฒน์, 2534)

2.3.3.2 การใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหาร

นอกจากนี้มีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากน้ำส้มสายชู โดยทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูในการทำลายจุลินทรีย์หลายชนิดในผลิตภัณฑ์อาหาร Albright และคณะ (2003) ได้ศึกษาการใช้น้ำส้มสายชูกลั่นผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:1 (750:750 มิลลิลิตร) ในการลดจำนวน *E .coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เนื้ออบแห้ง ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^9 log CFU/cm^2 วิธีแรกนำเนื้อดิบมาจุ่มลงในสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นนาน 20 วินาที จากนั้นนำมาคลุกกับน้ำหมัก เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนวิธีที่ 2 นำเนื้อดิบคลุกกับน้ำหมัก เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาจุ่มลงในสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นนาน 20 วินาที จากนั้นจึงนำไปอบแห้ง พบว่าน้ำส้มสายชูกลั่นสามารถลดจำนวน *E. coli* O157:H7 ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ได้ 4.9-5.2 และ 4.7-4.8 log CFU/cm^2 ตามลำดับ โดยไม่ส่งผลต่อกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์แต่อย่างใด นอกจากนี้ จิราวรรณ ยี่สิบแสน (2552) ได้ศึกษาผลของการใช้น้ำส้มสายชูหมัก ความเข้มข้นกรด 2 และ 10% โดยปริมาตรต่อปริมาตร (v/v) เพื่อลดจำนวนเชื้อ *S.* Enteritidis บนเปลือกไข่ พบว่าการฆ่าเชื้อโดยวิธีจุ่มไข่ในน้ำส้มสายชูหมัก ความเข้มข้นกรด 2% โดยปริมาตรต่อปริมาตร สามารถฆ่าเชื้อซัลโมเนลลาได้ภายในระยะเวลา 10 นาที และที่ความเข้มข้นกรด 10% โดยปริมาตรต่อปริมาตร สามารถฆ่าเชื้อได้ภายในระยะเวลา 5 นาที แต่การฆ่าเชื้อโดยวิธีนี้ส่งผลกระทบต่อการทำลายชั้น cuticle และเปลือกไข่อย่างมาก ในขณะที่วิธีการรมไอน้ำส้มสายชูหมักไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

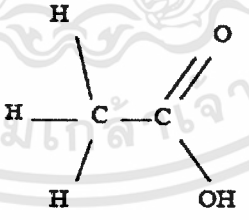
ของไข่ไก่ แต่จะใช้ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อนานขึ้น โดยน้ำส้มสายชูหมัก ความเข้มข้นกรด 2 และ 10% โดยปริมาตรต่อปริมาตร ใช้เวลา 6.0 ชั่วโมงและ 5.0 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาไข่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง ภายหลังการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการรมไอน้ำส้มสายชูหมัก ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Enteritidis ที่เปลือกไข่และภายในไข่ เป็นเวลา 28 วัน

2.4 กรดแอซีติก

2.4.1 โครงสร้างทางเคมีและสมบัติทั่วไป

กรดแอซีติกสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ CH_3COOH (ภาพที่ 2.1) เป็นสารอินทรีย์ซึ่งเป็นกรดคาร์บอกซิลิกอย่างอ่อน (weak organic carboxylic acid) ในรูปบริสุทธิ์จะไม่มีสี เป็นของเหลวใส มีกลิ่นฉุน และมีรสเปรี้ยว สามารถรวมตัวกับน้ำ แอลกอฮอล์ และกลีเซอรีนได้ดี (Sakanaka และ Ishihara, 2008) ในบรรดากรดอินทรีย์ กรดแอซีติกเป็นที่รู้จักกันดีและนิยมใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร ได้แก่ การใช้เป็นส่วนผสมของน้ำสลัด มายองเนส น้ำซอส หรือใช้ในการหมักไก่ กรดแอซีติกเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่ได้รับการยอมรับให้ใช้ภายใต้การควบคุม (generally recognized as safe, GRAS additives) (U.S. FDA, 2011) โดยคุณสมบัติทั่วไปของกรดแอซีติก ดังตารางที่ 2.3

ตามธรรมชาติกรดแอซีติกซึ่งเป็นกรดกรดคาร์บอกซิลิกละลายน้ำได้เนื่องจากโมเลกุล มีสภาพขั้วโมเลกุลสูง โดยหมู่ฟังก์ชันที่มีขั้วมีถึง 2 หมู่ คือหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอนิล แต่การละลายได้ของกรดคาร์บอกซิลิกจะลดลงเมื่อจำนวนอะตอมคาร์บอนเพิ่มขึ้น เนื่องจากโมเลกุลมีส่วนที่ไม่มีขั้วมากขึ้น (Sakanaka และ Ishihara, 2008)



ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดแอซีติก
ที่มา : Sakanaka และ Ishihara (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

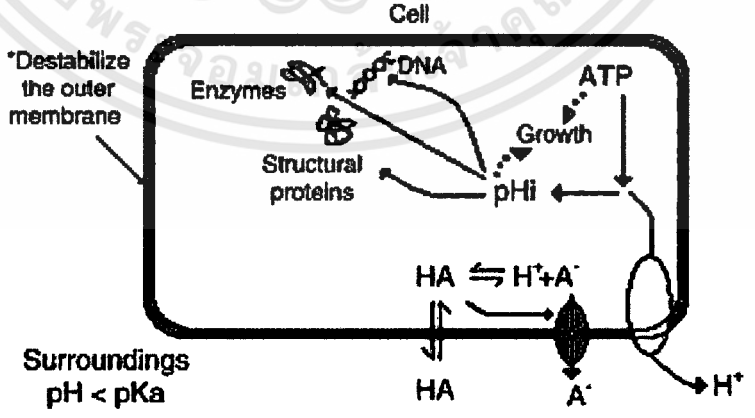
ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติทั่วไปของกรดแอซีติก

คุณสมบัติ	หน่วย	
น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight)	60.05	กรัมต่อโมล
จุดหลอมเหลว (melting point)	16.6	องศาเซลเซียส
จุดเดือด (boiling point)	118	องศาเซลเซียส
ความหนาแน่น (density)	1.049	กรัมต่อมิลลิลิตร
ค่า Pka ที่ 25 องศาเซลเซียส	4.8	

ที่มา : Sakanaka และ Ishihara (2008)

2.4.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดแอซีติก (Savard และคณะ, 2002)

ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับค่าคงที่การแตกตัวของกรด (pKa) โดยประสิทธิภาพในการทำลายของกรดจะเพิ่มขึ้น เมื่อมีความเป็นกรดด่างต่ำ เพราะเมื่อความเป็นกรดด่างที่ต่ำลงส่งผลให้ปริมาณกรดไม่แตกตัวมากขึ้น และกรดที่ไม่แตกตัวมีความสามารถในการผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีกว่า และกรดไปเกิดการแตกตัวภายในเซลล์ปล่อยโปรตอนจับกับเบสไปขัดขวางแรงขับเคลื่อนโปรตอนของผนังเซลล์ ส่งผลให้เซลล์ไม่สามารถสร้างพลังงานได้ ขัดขวางการผ่านเข้าออกของเซลล์ และจากการที่เซลล์ต้องใช้พลังงานมากเพื่อพยายามรักษาสภาพความเป็นกรดด่างภายในเซลล์ให้สมดุลกับสิ่งแวดล้อมภายนอก ทำให้พลังงานเหลือน้อยและยับยั้งการเจริญในที่สุด นอกจากนี้กรดยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโปรตีนกรดนิวคลีอิคและฟอสโฟไลปิดของเซลล์อีกด้วย ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์

ที่มา : Mani-Lopez และคณะ (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดแอซีติกมีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่ากรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ชนิดอื่น เนื่องจากกรดแอซีติกมีสมบัติเป็นไลโปฟิลิค (lipophilic) ให้กรดแอซีติกในรูปไม่แตกตัว สามารถละลายในไขมันและสามารถแทรกซึมเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ได้ดี กรดแอซีติกยับยั้งการรับออกซิเจนและลดการผลิตสารชีวโมเลกุลที่ทำหน้าที่ให้พลังงานในสิ่งมีชีวิตหรืออะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) ในเซลล์แบคทีเรีย โดยขัดขวางการขนส่งสับสเตรทและขัดขวางกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสโฟริเลชัน (oxidative phosphorylation) ในกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน ยับยั้งการขนส่งสารเมตาบอลิซึมเข้าสู่เซลล์ นอกจากนี้กรดแอซีติกยังขัดขวางแรงขับเคลื่อนโปรตอนและส่งผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์

2.5 บรรจุภัณฑ์พลาสติก

2.5.1 ชนิดของบรรจุภัณฑ์พลาสติก (สินีนาถ จริยโชติเลิศ, 2550)

บรรจุภัณฑ์พลาสติกที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบันมีหลายประเภท โดยส่วนผสมและกระบวนการผลิตที่แตกต่างกันจะได้พลาสติกที่มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันออกไป เทอร์โมพลาสติก (thermoplastic) หรือเรซิน เป็นพลาสติกที่แพร่หลายที่สุด เมื่อได้รับความร้อนจะอ่อนตัวและเมื่อเย็นตัวลงจะแข็งตัว สามารถปรับเปลี่ยนรูปร่างได้ พลาสติกประเภทนี้มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นโซ่ตรงยาวมีการเชื่อมต่อระหว่างโพลิเมอร์น้อย จึงสามารถหลอมเหลวได้และเมื่อนำไปผ่านการอัดด้วยแรงดันสูงพบว่าโครงสร้างเดิมไม่ถูกทำลาย จึงมีคุณสมบัติพิเศษคือเมื่อหลอมเหลวแล้วสามารถนำมาขึ้นรูปเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ได้แก่

2.5.1.1 โพลิเอทิลีน (Polyethylene, PE)

เป็นพลาสติกที่นิยมนำมาใช้มากที่สุดในอุตสาหกรรมและมีราคาถูก มีจุดหลอมเหลวต่ำเมื่อเทียบกับพลาสติกชนิดอื่นๆ ผลิตจากกระบวนการโพลิเมอไรเซชั่น (polymerization) ของก๊าซเอทิลีน ภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูง โดยอยู่ในสภาวะปราศจากตัวเร่งปฏิกิริยาโลหะ เป็นพลาสติกที่ไอน้ำซึมผ่านได้เล็กน้อย แต่อากาศผ่านเข้าออกได้ มีลักษณะขุ่นและทนความร้อนได้ปานกลาง และ เช่น ท่อน้ำ ถัง ถุง ขวด พาเลตพลาสติก เป็นต้น

การเรียงตัวของโมเลกุลในลักษณะโซ่สั้นและยาวส่งผลให้โพลิเอทิลีนที่ผลิตได้ มีความหนาแน่นแตกต่างกัน ดังนี้

2.5.1.1.1 โพลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene, LDPE) ความหนาแน่น 0.910 – 0.925 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เป็นพลาสติกที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย มีชื่อสามัญคือถุงเย็น มักใช้ทำถุงฟิล์มหดและฟิล์มยืด เนื่องจากยืดตัวได้ดี ทนต่อการทิ่มทะลุและฉีกขาด อีกทั้งสามารถใช้ความร้อนเชื่อมติดได้ดี ต่อมามีการคิดค้นการผลิตโพลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำที่ทนความชื้นได้มากขึ้น คือโพลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (linear low density polyethylene)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

122969

หรือ LLDPE ซึ่งนิยมใช้กันมาก เนื่องจากมีคุณสมบัติที่โดดเด่นกว่า LDPE แต่มีจุดอ่อนคือพลาสติกมีความขุ่นกว่า LDPE โดยทั่วไป จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงนิยมผสมเม็ดพลาสติกทั้ง 2 ประเภทคือ LDPE และ LLDPE เข้าด้วยกัน ในอัตราส่วน 50:50

2.5.1.1.2 โพลิเอทิลีนความหนาแน่นปานกลาง (Medium density polyethylene, MDPE) ความหนาแน่น 0.926 – 0.940 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เป็นพลาสติดที่มีความหนาแน่นปานกลาง นิยมนำมาผลิตเป็นอุปกรณ์พลาสติกต่างๆ เช่น ตะกร้า กะละมัง ด้ามแปรงสีฟัน เป็นต้น

2.5.1.1.3 โพลิเอทิลีนความหนาแน่นสูง (High density polyethylene, HDPE) ความหนาแน่น 0.941 – 0.965 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เนื่องจากเป็นพลาสติกที่มีความหนาแน่นสูง ทำให้ HDPE มีความเหนียวมากเป็นพิเศษ แต่ไม่สามารถป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดีนัก นิยมนำมาผลิตเป็นขวดพลาสติก และขึ้นรูปเป็นฟิล์มและถาดบรรจุอาหารที่ไม่ต้องการความใสมากนัก

2.5.1.2 โพลิโพรพิลีน (Polypropylene, PP)

เป็นพลาสติกที่ซึมผ่านไอน้ำได้เล็กน้อย แข็งกว่าโพลิเอทิลีน ทนต่อสารที่มีไขมันและความร้อนได้สูง คุณสมบัติเด่นของ PP คือมีความใสและป้องกันความชื้นได้ดี และมีจุดหลอมเหลวสูงทำให้สามารถใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารสำหรับบรรจุอาหารขณะร้อนได้ แต่มีข้อด้อยคือเชื่อมติดได้ยาก เนื่องจากช่วงอุณหภูมิในการหลอมละลายสั้น นิยมผลิตเป็นแผ่นพลาสติก ถุงพลาสติกบรรจุอาหารที่ทนความร้อนหรือถุงร้อน หลอดดูดพลาสติก เป็นต้น

2.5.1.3 โพลิสไตรีน (Polystyrene, PS)

มีลักษณะโปร่งใส เปราะ ทนต่อกรดและด่างได้ดี ไอน้ำและอากาศซึมผ่านได้พอสมควร นิยมนำมาผลิตชิ้นส่วนอุปกรณ์ไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ เครื่องใช้สำนักงาน เป็นต้น

2.5.1.4 โพลิโพรไวนิลคลอไรด์ (Polyvinylchloride, PVC)

ไอน้ำและอากาศซึมผ่านได้พอสมควร ทนต่อสารที่มีไขมันสูงได้ดี มีลักษณะใส นิยมนำมาผลิตขวดบรรจุน้ำมันและไขมันสำหรับปรุงอาหาร ขวดบรรจุเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ เบียร์ ใช้ทำแผ่นพลาสติกห่อเนยแข็ง ทำแผ่นลามิเนตชั้นในของถุงพลาสติก เป็นต้น

2.5.2 บรรจุภัณฑ์พลาสติกสำหรับผักและผลไม้

ผักและผลไม้จะมีคุณภาพดีและเก็บได้นานถ้าเก็บเกี่ยวเมื่อมีความแก่อ่อนที่เหมาะสม แต่เมื่อเก็บเกี่ยวแล้วผักและผลไม้ยังมีการหายใจอยู่ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการสูญเสียน้ำหนัก การสุก และการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ต้องการ เพื่อให้ผักและผลไม้มีคุณภาพตามที่ผู้บริโภคต้องการ ดังนั้นภายหลังการเก็บเกี่ยวจึงต้องทำการลดความร้อนของผักและผลไม้ลง ลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ติดมา ควบคุมการหายใจเพื่อเร่งหรือชะลอการสุก ทำการเก็บรักษาอย่างถูกต้องตามชนิดของผักผลไม้ และเก็บที่อุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้ให้นานขึ้น (Jarimopas และคณะ, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาเหตุของการสูญเสียภายหลังการเก็บเกี่ยวอาจเกิดจากการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่ไม่ถูกต้อง การเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมจะช่วยลดปัญหาได้ เช่น การใช้พลาสติกที่ช่วยลดการคายน้ำหรือการหายใจ จะช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตผลทางการเกษตรได้นานขึ้น ปัจจุบันนิยมใช้ถุงโพลิเอทิลีนที่มีความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (LLDPE) ในการบรรจุผักและผลไม้ ซึ่งพลาสติกในกลุ่มนี้ช่วยชะลอการสูญเสียน้ำจากการหายใจและการคายน้ำ เนื่องจากยอมให้ก๊าซซึมผ่านได้ดี ทำให้มีก๊าซออกซิเจนซึมผ่านเข้ามาเพียงพอให้พืชหายใจ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่พืชคายออกมาก็สามารถซึมผ่านออกไปได้ง่าย อาจทำการเจาะรูฟิล์มหรือถุงพลาสติกเพื่อช่วยถ่ายเทอากาศและลดการสะสมของความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างการหายใจ (Jarimopas และคณะ, 2008) โดยจันทร์สุดา จริยวัฒนวิจิตร (2552) ได้ทำการศึกษาการเก็บรักษาผลไม้สดพร้อมบริโภค 3 ชนิด คือ มะละกอสุก ฝรั่ง และแคนตาลูป บรรจุในถาดโฟมหุ้มด้วยฟิล์มพลาสติกใส LLDPE เปรียบเทียบกับฟิล์มพลาสติกใส PVC เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 10 20 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่ามะละกอสุกพร้อมบริโภคสามารถเก็บรักษาได้ เป็นเวลา 5 วัน ส่วนฝรั่งและแคนตาลูปพร้อมบริโภคสามารถเก็บรักษาได้ เป็นเวลา 16 และ 10 วัน เท่ากัน ทั้งในถาดโฟมหุ้มด้วยฟิล์มพลาสติกใส LLDPE และฟิล์มพลาสติกใส PVC ในขณะที่ผลการทดสอบด้านประสาทสัมผัสระหว่างการเก็บรักษา พบว่ามีกลิ่นแปลกปลอมและรสชาติแปลกปลอมเพิ่มขึ้น โดยผู้ทดสอบชิมให้คะแนนการยอมรับรวมสำหรับผลไม้สดพร้อมบริโภคที่บรรจุในถาดโฟมหุ้มด้วยฟิล์มพลาสติกใส LLDPE มากกว่าการใช้ถาดโฟมหุ้มด้วยพลาสติกใส PVC

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.6.1 ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อและสารชีวภาพต่อการยับยั้งเชื้อซัลโมเนลลาในผักและผลไม้

มนทกานติ์ บุญยการ (2545) ได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนข้ามของ *S.* Typhimurium จากเขียงระหว่างการเตรียมผักสลัด 4 ชนิด ได้แก่ แตงกวาหั่นแว่น มะเขือเทศหั่นแว่น กะหล่ำปลีหั่นฝอย และแครอทหั่นฝอย ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2 ระดับ คือ ปริมาณสูง (10^8 – 10^9 CFU/g) และปริมาณต่ำ (10^3 - 10^4 CFU/g) ผลการทดลองพบการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Typhimurium บนผักสลัด 7.64 – 8.67 log CFU/g และ 2.38 – 2.95 log CFU/g เมื่อล้างผักสลัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 25 50 100 และ 200 พีพีเอ็ม (ppm) และสารละลายโซเดียมคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 25 50 และ 100 พีพีเอ็ม ปรับค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายฆ่าเชื้อเป็น 4 ด้วยกรดแอซีติก พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการล้างผักที่ปนเปื้อนด้วย *S.* Typhimurium ในปริมาณสูงคือ สารละลายโซเดียมคลอไรท์ 50 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 30 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อปนเปื้อนบนผิวแตงกวาหั่นแว่นและแครอทหั่นฝอยได้ 3.3 – 3.7 log CFU/g ที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 15 และ 30 นาที ลดจำนวนเชื้อปนเปื้อนบนผิวกะหล่ำปลีหั่นฝอยและมะเขือเทศหั่นแว่นได้ 2.7 – 3.0 log CFU/g ส่วนการล้างผักด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 200 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 30 นาที ลดจำนวน *S.* Typhimurium ได้ 1.6 – 3.3 log

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CFU/g แต่ส่งผลให้เนื้อสัมผัสของมะเขือเทศหั่นแว่นนิ่มและแครอทหั่นฝอย มีสีซีด ส่วนการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรท์ 25 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 15 นาที สามารถทำลาย *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนมะเขือเทศหั่นแว่น กะหล่ำปลีและแครอทหั่นฝอยที่ปนเปื้อนเชื้อในปริมาณต่ำได้สมบูรณ์ (100%) และที่เวลา 30 นาที สามารถทำลายเชื้อปนเปื้อนบนแตงกวาหั่นแว่นได้สมบูรณ์ ขณะที่การใช้สารละลาย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 25 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 30 นาที ทำลายเชื้อบนแตงกวาหั่นแว่นและกะหล่ำปลีหั่นฝอยได้สมบูรณ์ และเมื่อใช้ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 15 นาที ล้างมะเขือเทศหั่นแว่นและแครอทหั่นฝอย สามารถทำลาย *S.* Typhimurium ได้สมบูรณ์

วชิราภรณ์ เทียมพันธ์ (2545) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ ได้แก่ โซเดียมไบคาร์บอเนต ลอเร็ล (Lorel) ด่างทับทิม น้ำส้มสายชูกลั่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ โซเดียมคลอไรท์ น้ำยาล้างผักตรา Fit และ Tsunami 100 ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่างๆ กัน ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Typhimurium และ *E. coli* โดยถ่ายเชื้อลงบนผักกาดหอม ปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 log CFU/ml พบว่าเมื่อล้างผักกาดหอมด้วยผลิตภัณฑ์ล้างผักและผลไม้ที่จำหน่ายทั่วไป ได้แก่ น้ำยาล้างผักตรา Fit และ Tsunami 100 สามารถทำลาย *E. coli* บนผักกาดหอมได้ 2 log CFU/ml แต่ทำลายเซลล์ *S.* Typhimurium ได้ประมาณ 1 log CFU/ml ขณะที่สารที่นิยมใช้ในครัวเรือน ได้แก่ น้ำส้มสายชูกลั่น 1% และด่างทับทิม 0.25% มีประสิทธิภาพดีในการทำลายแบคทีเรียทั้งสองชนิด แต่มีผลทำให้ใบเหี่ยว ขอบใบและรอยตัดมีสีน้ำตาล จากนั้นได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อการเจริญและการรอดชีวิตของเชื้อ *E. coli* และ *S.* Typhimurium พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือรอดจากการล้างผักสามารถเพิ่มจำนวนขึ้นได้เมื่อเก็บรักษาในตู้เย็น นอกจากนี้พบว่าผักกาดหอมที่เก็บในตู้เย็นสามารถเก็บได้นานขึ้นคือประมาณ 1 สัปดาห์ ขณะที่ผักกาดหอมที่เก็บที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและผักเสียภายใน 1 วัน

นวรัตน์ รัตนดิลก ณ ภูเก็ต (2552) รายงานว่าน้ำหมักชีวภาพกล้วยน้ำว้าเข้มข้น 100% ซึ่งมีองค์ประกอบคือ ปริมาณกรดทั้งหมด 1.36% ปริมาณกรดแลกติก 5.56 ± 0.20 กรัมต่อลิตร (g/l) ปริมาณกรดแอซีติก 1.60 ± 0.06 กรัมต่อลิตร และมีค่าความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 3.50 สามารถลดเชื้อ *S.* Typhimurium ATCC 13311 ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 7 log CFU/ml ในหลอดทดลอง ลงได้ถึง 99.999-100.00% ในระยะเวลาการสัมผัส 5 นาที ส่วนการลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ATCC 13311 ที่ทำการปนเปื้อนบนผัก 4 ชนิด ได้แก่ ผักบุ้ง ผักชี ผักสะระแหน่ ผักกาดหอม พบว่าผักที่มีการปนเปื้อนของเชื้อปริมาณสูง (4.85 – 6.34 log CFU/g) การแช่ผักในน้ำหมักชีวภาพกล้วยน้ำว้าเข้มข้น 50% สามารถลดเชื้อลงได้ 84.37 – 99.95% ในระยะเวลาสัมผัสนาน 20 นาที และผักที่มีการปนเปื้อนเชื้อปริมาณต่ำ (1.3 – 2.2 log CFU/g) พบว่าสามารถลดเชื้อได้ 100% ในระยะเวลาสัมผัสนาน 30 นาที

ตรีอุบล แก้วหย่อง และบวรศักดิ์ ลีลานนท์ (2553) ทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในโหระพาสดที่ไม่ผ่านการล้าง พบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total aerobic bacteria) 5.86 log CFU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อโคลิฟอร์ม 4.53 log CFU/g, *Staph. aureus* 1.73 log CFU/g, *Listeria monocytogenes* 2.86 log CFU/g และเชื้อซัลโมเนลลา 5.26 log CFU/g แต่ตรวจไม่พบ *E. coli* O157:H7 และได้ศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อร่วมกับสารลดแรงตึงผิวในการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและ *S.* Typhimurium พบว่าสารละลายคลอรีนอิสระ (free available chlorine, FAC) เข้มข้น 200 พีพีเอ็ม ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวทวีน 80 (Tween 80) เข้มข้น 0.1% สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดได้มีประสิทธิภาพสูงสุด แต่ปริมาณเชื้อที่ลดจำนวนลงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายกรดเปอร์อะซิติก (peracetic acid) 60 พีพีเอ็ม ร่วมกับสารทวีน 80 เข้มข้น 0.1%

สาธิตา รุ่งอรุโณทัย (2554) ได้ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ในมะเขือเทศเชอรี่ โดยการใช้กรดเปอร์อะซิติกเข้มข้น 20 40 และ 60 พีพีเอ็ม และสารละลาย KILLBACT-SU เข้มข้น 25 50 และ 75% พบว่าเมื่อล้างมะเขือเทศที่ปนเปื้อนเชื้อ *S.* Stanley ที่ระดับ 5.42 log CFU/g ด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติกเข้มข้น 40 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 1 5 10 และ 15 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ 1.23 – 2.01 log CFU/g และเมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 60 พีพีเอ็ม ล้างมะเขือเทศเป็นเวลา 15 นาที ไม่พบปริมาณเชื้อ *S.* Stanley เหลือรอด

วราภรณ์ แก้วเที่ยง (2554) ได้ทำการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลา ในผักสด 7 ชนิด ได้แก่ ผักชี 3 ตัวอย่าง ผักชีฝรั่ง 5 ตัวอย่าง คื่นช่าย 3 ตัวอย่าง ใบสะระแหน่ 3 ตัวอย่าง โหระพา 3 ตัวอย่าง ผักกาดหอม 3 ตัวอย่าง ผักกาดขาว 2 ตัวอย่าง กะหล่ำปลี 3 ตัวอย่าง จำนวนทั้งสิ้น 25 ตัวอย่าง พบว่ามีเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนผักสด 2 ตัวอย่าง (8%) ได้แก่ ผักชีฝรั่ง 1 ตัวอย่าง (4%) และใบสะระแหน่ 1 ตัวอย่าง (4%) โดยเซโรวาร์ที่พบในผักชีฝรั่ง คือ *S.* Schwarzengrund และเซโรวาร์ที่พบในใบสะระแหน่ได้แก่ *S.* VI 45:a:e,n,z_{15} (O:45) จากนั้นได้ศึกษาการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และและสารละลาย KILLBACT-SU® ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ที่ปนเปื้อนในผักชีฝรั่ง ปริมาณ 10^6 log CFU/g พบว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที มีปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund ลดลง 3.46 log CFU/g ในขณะที่สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 5 และ 10 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อปนเปื้อนบนผิวผักชีฝรั่งได้ 2.56 2.42 1.38 log CFU/g ตามลำดับ และเมื่อใช้ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้อย่างสมบูรณ์ (100%) และเมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น และลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลาย KILLBACT-SU® พบว่าผู้ทำการทดสอบให้การยอมรับในด้านสีและลักษณะปรากฏอยู่ในเกณฑ์ดี

Karapinar และ Sengun (2007) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำคั้นจากผลองุ่นพื้นบ้าน (koruk) ของประเทศตุรกี ต่อการลดลงของเชื้อ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนพาสลีย์และแตงกวาที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับ 10^6 CFU/ml พบว่าเมื่อแช่ผักในน้ำคั้นจากผลองุ่นพื้นบ้าน เป็นเวลา 15 30 และ 60 นาที ส่งผลให้ปริมาณเชื้อลดลง 2.0-3.5 log CFU/g ขึ้นอยู่กับตัวอย่างผักที่ทดสอบ

Tornuk และคณะ (2011) รายงานการใช้น้ำมันหอมระเหยผสมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) เพื่อใช้ล้างแอปเปิ้ลและแครอทตัดแต่งที่ปนเปื้อนเชื้อ *S.* Typhimurium ปริมาณ 5.81 log CFU/g โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากไธม์ ขมิ้นคำ โรสแมรี่ และใบกระวาน พบว่าเมื่อล้างแอปเปิ้ลสไลด์ เป็นเวลา 20 นาที ตรวจพบปริมาณเชื้อ *S.* Typhimurium เหลือรอด 4.81 5.04 5.09 และ 5.15 log CFU/g ตามลำดับ และเมื่อล้างแครอทสไลด์ที่ปนเปื้อนเชื้อเป็นเวลา 20 นาที พบว่า มีปริมาณเชื้อ *S.* Typhimurium เหลือรอด 4.82 5.61 5.64 และ 5.68 log CFU/g พบว่าการล้างแอปเปิ้ลและแครอทตัดแต่งด้วยน้ำผสมน้ำมันหอมระเหยจากไธม์มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ *S.* Typhimurium ได้ดีที่สุด

Neal และคณะ (2012) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อเปรียบเทียบกับการล้างผักด้วยน้ำประปา โดยทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *S.* Agona ที่เหลือรอดบนใบผักโขมที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 7 log CFU/g พบว่า กรดเปอร์ออกซีอะซีติก ลดปริมาณเชื้อลงได้ 0.8 log CFU/g ในขณะที่เมื่อล้างใบผักโขมที่ปนเปื้อนเชื้อด้วยน้ำปรับอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ผสมกรดแลคติก 2% สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Agona ลงได้ 2.3 log CFU/g โดยปริมาณเชื้อที่ลดลงนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับการล้างใบผักโขมที่ปนเปื้อนเชื้อด้วยน้ำประปา ซึ่งปริมาณเชื้อลดลง 0.7 log CFU/g

Chen และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาการใช้ไคโตซาน ไคโตซานผสมกับสารอัลลิลไอโซไธโอไซยาเนต (allyl isothiocyanate, AIT) ไคโตซานผสมกับสาร AIT และสารไนซิน ในการเคลือบผิวแคนตาลูปสด ที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อซัลโมเนลลาผสม 3 สายพันธุ์ คือ *S.* Panama *S.* Poona และ *S.* Stanley พบว่าเมื่อใช้ไคโตซานผสมกับสาร AIT ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นจาก 10 เป็น 60 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อซัลโมเนลลาเพิ่มขึ้น โดยไคโตซานผสมกับสาร AIT เข้มข้น 60 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร สามารถลดปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาได้มากกว่า 5 log CFU/cm^2 นอกจากนี้ยังพบว่า แคนตาลูปสดที่เคลือบผิวด้วยไคโตซานผสมกับสาร AIT เข้มข้น 60 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการเก็บเป็นเวลา 14 วัน ไม่พบปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาเพิ่มจำนวนขึ้น อีกทั้งยังช่วยยับยั้งการเจริญของยีสต์และราตั้งแต่การเก็บรักษาวันแรกจนถึงวันที่ 14 ด้วย

2.6.2 ประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่นในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ภัทราพรรณ จรูญรัตนสกุล (2553) ได้ประยุกต์ใช้น้ำส้มสายชูหมักเพื่อลดการเสื่อมเสียของผลสตรอเบอร์รี่สดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* โดยทำการเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นสตรอเบอร์รี่ โดยใช้อัตราส่วนสตรอเบอร์รี่ 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ในน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4% เพื่อลดผลกระทบของกลิ่นน้ำส้มสายชู พบว่าเมื่อนำมาสเปรย์บนผิวสตรอเบอร์รี่และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน สามารถลดการเสื่อมเสียของสตรอเบอร์รี่ลงได้ประมาณ 20% เมื่อเปรียบเทียบกับสตรอเบอร์รี่ที่ไม่ได้สเปรย์ (ชุดควบคุม) และจากการรมไอน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้น 10% เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *B. cinerea* ที่ปลูกถ่ายบนผิวสตรอเบอร์รี่ พบว่าการรมไอเป็นเวลา 20 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด โดยเชื้อราจะเริ่มแสดงการเสื่อมเสียในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา รองลงมาคือการสเปรย์ด้วยน้ำส้มสายชูหมักกลิ่นสตรอเบอร์รี่ซึ่งจะเริ่มแสดงการเสื่อมเสียในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา ส่วนสตรอเบอร์รี่ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจะไม่สามารถลดการเจริญของเชื้อรา *B. cinerea* ได้

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และพิทยา เหล่าสมบัติ (2553) ทำการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในมะเขือเทศสด พันธุ์ราชินี พันธุ์ท้อ และพันธุ์สีดา รวม 90 ตัวอย่าง พบว่ามะเขือเทศจากห้างสรรพสินค้า 10 แห่ง ตลาดสด 10 แห่ง และตลาดนัด 10 แห่ง (แห่งละ 30 ตัวอย่าง) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่าข้อกำหนดของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (พ.ศ. 2536) ว่าด้วยเกณฑ์จุลินทรีย์ผักพร้อมบริโภค (>6 log CFU/g) จำนวน 14 ตัวอย่าง (46.66%) 15 ตัวอย่าง (50.00%) และ 15 ตัวอย่าง (50.00%) ตามลำดับ และตรวจพบเชื้อ *S.* Stanley ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศพันธุ์สีดา ที่เก็บจากตลาดสด 1 ตัวอย่าง (1.11%) และการล้างมะเขือเทศทั้ง 3 พันธุ์ด้วยน้ำกลั่นปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่น 5% ที่ระดับความเป็นกรดด่างและระยะเวลาต่างกัน พบว่าน้ำกลั่นที่ระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3 4 และ 5 สามารถทำลาย *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศที่มีปริมาณการปนเปื้อนเริ่มต้น 2.73 log CFU/g ได้ทั้งหมด ภายในเวลา 2 8 และ 10 นาที ตามลำดับ และพบว่าการล้างมะเขือเทศที่มีปริมาณการปนเปื้อนเริ่มต้นสูงที่ระดับ 6.16 log CFU/g ด้วยน้ำกลั่นปรับความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 3 4 และ 5 นาที เป็นเวลา 10 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อได้ 6.01 log CFU/g (97.66%) 5.35 log CFU/g (87.85%) และ 2.16 log CFU/g (36.16%) ตามลำดับ โดยไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางด้านสี และเนื้อสัมผัสของมะเขือเทศทั้ง 3 พันธุ์

Wu และคณะ (2000) ได้ศึกษาการใช้น้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกมากกว่าหรือเท่ากับ 2.6% ในการล้างพาสลีย์ที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อ *Shigella sonnei* ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^5 log CFU/g เป็นเวลา 10 นาที พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อได้มากกว่า 3.3 log CFU/g แต่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผักทางด้านสีและมีกลิ่นฉุนของกรดแอซีติก แต่เมื่อลดความเข้มข้นของกรดแอซีติกลงคือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2.6% พบว่าสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ 3.3 log CFU/g และผักไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีและไม่มีกลิ่นของกรดแอซีติก

Sengun และ Karapinar (2004) รายงานว่าน้ำเลมอน น้ำส้มสายชูหมักจากองุ่น และสารผสมระหว่างน้ำเลมอนและน้ำส้มสายชูในอัตราส่วน 1:1 มีประสิทธิภาพในการช่วยลดจำนวน *S.* Typhimurium บนแครอทที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^6 CFU/g การทดลองทำการแช่แครอทที่ปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อในน้ำเลมอนและน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 0 15 30 และ 60 นาที พบว่าน้ำเลมอนสามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ลงอยู่ในช่วง 0.79 – 3.95 log CFU/g และน้ำส้มสายชูสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ 1.57 – 3.58 log CFU/g ตามลำดับ และการใช้สารผสมระหว่างน้ำเลมอนและน้ำส้มสายชูในอัตราส่วน 1:1 สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ลงจนไม่สามารถนับจำนวนได้ ภายหลังจากแช่แครอทเป็นเวลา 30 นาที

Chang และ Fang (2007) ได้ศึกษาการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S.* Typhimurium บนผักกาดแก้ว โดยทำการถ่ายเชื้อลงในผัก ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^6 CFU/g และนำมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน (สภาวะ 1) และเก็บที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (สภาวะ 2) ผลการทดสอบพบว่าผักกาดแก้วที่เก็บในสภาวะ 1 มีปริมาณเชื้อลดลงประมาณ 1 log CFU/g แต่ผักกาดแก้วที่เก็บไว้ในสภาวะ 2 เป็นเวลา 3 วัน มีจำนวนเชื้อเพิ่มสูงขึ้น 3 log CFU/g จากนั้นได้ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูที่ความเข้มข้น 5% (ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.0) ในการล้างผักที่ปนเปื้อนเชื้อ *E.coli* O157:H7 ประมาณ 10^7 CFU/g เป็นเวลา 5 นาที พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อลงได้ประมาณ 3 log CFU/g

Homthong และ Karatpong (2009) ได้ทำการศึกษาผลของน้ำส้มสายชูกลั่นความเข้มข้น 2 และ 5 % กรดซิตริกความเข้มข้น 2 และ 5% และโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1 และ 2% ต่อการลดลงของเชื้อ *S.* Typhimurium บนใบสะระแหน่ ที่เวลา 0 15 และ 30 นาที โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 5 log CFU/g พบว่าชนิดของสารและเวลาที่ใช้ในการทดสอบ สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และพบว่าการใช้น้ำส้มสายชูความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 1 5 และ 30 นาที และกรดซิตริก ความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 30 นาที สามารถลด *S.* Typhimurium ได้สูงสุด อยู่ในช่วง 4.16 – 4.76 log CFU/g ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และพบว่าการใช้น้ำส้มสายชูความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 30 นาที ทำให้ใบสะระแหน่เกิดสีน้ำตาลเล็กน้อย ส่วนน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2% และโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 และ 2% สามารถลดปริมาณ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนผักได้ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัย

โหระพา (*Ocimum basilicum* Linn.) ได้จากตลาดหัวตะเข้ กรุงเทพมหานคร บรรจุในถุงพลาสติกขนาด 5 กิโลกรัม เก็บที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลาไม่เกิน 3 ชั่วโมง ก่อนนำมาทดลอง

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

3.2.1	หม้อนึ่งความดันไอ	HA-240 MN	Hirayama	Japan
3.2.2	เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	AB 104	Mettler Toledo	Switzerland
3.2.3	เครื่องตีป่นอาหาร	400P	UIL	U.S.A
3.2.4	เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง	CG841	Schott Gerate	Germany
3.2.5	เครื่องผสมสารละลาย	G-560 E	Scientific	U.S.A.
3.2.6	ตู้เขี่ยเชื้อ	BS24 9BP	Bio Safety	U.K.
3.2.7	ตู้บ่มเพาะเชื้อ	B30	Memmert	Germany
3.2.8	ตู้อบลมร้อน	UL50	Memmert	Germany
3.2.9	ถุงพลาสติกปลอดเชื้อสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างทางจุลชีววิทยา		TK Lab Expert	ประเทศไทย
3.2.10	ถุงพลาสติกชนิดโพลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (LLDPE) สำหรับบรรจุผัก-ผลไม้	Aro	ที.เอส.ที.แพ็ค	ประเทศไทย
3.2.11	ตะแกรงสแตนเลสสตีล ขนาด 14 x 20 นิ้ว			
3.2.12	ขวดสเปรย์พร้อมหัวฉีด ขนาด 100 มิลลิลิตร		นิปปอนแพ็ค	ประเทศไทย
3.2.13	ขวดปรับปริมาตร			
3.2.14	จานเพาะเชื้อ			
3.2.15	เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่จำเป็น			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1	Deoxycholate hydrogen sulfide lactose (DHL) agar	Merck	Germany
3.3.2	Lysine indole motility (LIM) medium	Difco	U.S.A.
3.3.3	Peptone from meat	Merck	Germany
3.3.4	Plate count agar (PCA)	Merck	Germany
3.3.5	Salmosyst tablet	Merck	Germany
3.3.6	Triple sugar iron (TSI) agar	Merck	Germany
3.3.7	Tryptic soy agar (TSA)	Merck Germany และ	Difco U.S.A.
3.3.8	Tryptic soy broth (TSB)	Merck Germany และ	Difco U.S.A.
3.3.9	Xylose lysine desoxycholate (XLD) agar	Merck	Germany

3.4 สารเคมี

3.4.1	น้ำส้มสายชูกลั่นเข้มข้น 5% ตราภูเขาทอง	ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร ประเทศไทย
3.4.2	ฟีนอล์ฟทาลีน	Rankem U.S.A.
3.4.3	โซเดียมไฮดรอกไซด์	LobaChem U.S.A.
3.4.4	แอลกอฮอล์ 95%	เอ.ที.เอส. ประเทศไทย
3.4.5	สารละลายโคแวค (KOVAC's indole reagent)	Merck Germany
3.4.6	สารฆ่าเชื้อเดทตอล	เรกคิทท์ เบนคีเซอร์ ประเทศไทย

3.5 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อบริสุทธิ์ *Salmonella* Ratchaburi ได้รับความอนุเคราะห์จากรศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 การเตรียมเชื้อ *S.* Ratchaburi

3.6.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ *S.* Ratchaburi

นำเชื้อ *S.* Ratchaburi จากข้อ 3.5 จำนวน 1 ลูป มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 10 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการแยกเชื้อให้เป็นโคโลนีเดี่ยวบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเอียง TSA slant บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ (stock culture) และถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเอียง TSA ใหม่ทุกเดือนระหว่างการทดลอง

3.6.1.2 การเตรียมสารละลายเชื้อ *S.* Ratchaburi

ทำการเตรียมสารละลายเชื้อ *S.* Ratchaburi ตามวิธีการของวชิราภรณ์ เทียมพันธ์ (2545) โดยถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเอียง TSA จากข้อ 3.6.1.1 จำนวน 1 ลูป มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อในทำนองเดียวกันติดต่อกันเป็นเวลา 2 วัน ในวันที่สามทำการปิเปตเชื้อ 1 มิลลิลิตรลงใน TSB 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง ปิเปต TSB ที่มีเซลล์เชื้อซัลโมเนลลาปริมาณเริ่มต้น 10^7-10^8 CFU/ml มาทำการเจือจางโดยใช้สารละลายเปปโตน 0.1% จนได้ปริมาณของเชื้อที่เหมาะสมก่อนนำไปทดลอง ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อเริ่มต้นด้วยวิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.6.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกระดับต่างๆ

คำนวณหาปริมาตรน้ำส้มสายชูกลั่นที่ต้องการ จากน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกเริ่มต้น 5% (ตราภูเขาทอง, ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร) จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ตามตารางที่ ข-1 และ ข-2 (ภาคผนวก ข) เพื่อปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร นำสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกระดับต่างๆ มาตรวจวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) และตรวจวัดปริมาณกรด แอซีติกด้วยวิธีไตเตรทตามวิธีการของ AOAC (2002) (ภาคผนวก ข)

3.6.3 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการเจริญของเชื้อ *S.* Ratchaburi ในหลอดทดลอง

3.6.3.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi

เตรียมเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^7 CFU/ml จากข้อ 3.6.1.2 ปิเปตสารละลายเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.25 0.50 0.75 1.00 และ 2.00% ตามลำดับ เพื่อปรับให้มีปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาเริ่มต้นที่ระดับ 10^6 CFU/ml เขย่าส่วนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 5 10 และ 15 นาที ตามลำดับ เมื่อครบกำหนดเวลาในแต่ละหลอดทดลอง ทำการตรวจเชื้อซัลโมเนลลาที่เหลือรอดเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อโดยปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ ตรวจสอบการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเชื้อโดยเทคนิค pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (วชิราภรณ์ เทียมพันธ์, 2545) นับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี รายงานผลเป็น log CFU/ml ทำการตรวจยืนยันเชื้อซัลโมเนลลาอีกครั้งหนึ่งด้วยวิธี spot assay โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จากนั้นกดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจำเพาะ XLD (Swetwiwathana และคณะ, 2009) (ภาคผนวก ค) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูลักษณะเฉพาะของโคโลนีเชื้อซัลโมเนลลาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ซึ่งมีลักษณะใสและมีจุดสีดำตรงกลาง (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และพิทยา เหล่าสมบัติ, 2553) สำหรับหลอดทดลองที่ไม่พบการเจริญของเชื้อซัลโมเนลลา ทำการตรวจสอบยืนยันการรอดชีวิตของเชื้อซัลโมเนลลาโดยดูดตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำผลการทดลองที่ได้ มาคัดเลือกช่วงความเข้มข้นของสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำลายเชื้อ *S.* Ratchaburi เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

การศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ในหลอดทดลอง ทำการวางแผนการทดลองแบบ 6x4 แฟคทอเรียล ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีปัจจัยคือความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่นและระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ และมีปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดเป็นตัวแปรตามในการศึกษา ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อหนึ่งระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่น วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS (statistical package for social science) ชุดทดลองเพื่อการศึกษาวิจัย และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.6.3.2 ประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับสูงและต่ำ

เตรียมเชื้อ *S.* Ratchaburi จากข้อ 3.6.1.2 ปิเปตสารละลายเชื้อ 1 มิลลิลิตร ให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 2 ระดับ คือระดับสูง มีปริมาณเซลล์ 10^6 CFU/ml และระดับต่ำ มีปริมาณเซลล์ 10^2 CFU/ml ตามลำดับ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกในช่วงที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.3.1 โดยปรับระดับความเข้มข้นกรดแอซีติกเพิ่มขึ้นและลดลงระดับละ 0.1% กำหนดให้มีความเข้มข้นของกรด 10 ระดับ ครอบคลุมความเข้มข้นของกรดในช่วงที่คัดเลือกไว้ เขย่าส่วนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.3.1 เมื่อครบกำหนดเวลาในแต่ละหลอดทดลอง ทำการตรวจเชื้อซัลโมเนลลาที่เหลือรอด โดยปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ ตรวจสอบการเจริญของเชื้อโดยเทคนิค pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (วชิราภรณ์ เทียมพันธ์, 2545) นับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี รายงานผลเป็น log CFU/ml รายงานผลเป็น log CFU/ml ทำการตรวจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยืนยันเชื้อซัลโมเนลลาอีกครั้งหนึ่งด้วยวิธี spot assay โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จากนั้นกดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจำเพาะ XLD (Swetwiwathana และคณะ, 2009) (ภาคผนวก ค) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบยืนยันการรอดชีวิตของเชื้อซัลโมเนลลา โดยดูดตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับต่ำและสูงในหลอดทดลอง ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) โดยมีปัจจัยคือ ความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่นในการฆ่าเชื้อ และมีปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดเป็นตัวแปรตามในการศึกษา ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อหนึ่งระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่น วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.6.4 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา

3.6.4.1 การเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีกรดแอซีติกความเข้มข้นต่างๆ

คำนวณหาปริมาตรน้ำส้มสายชูกลั่นที่ต้องการ จากน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกเริ่มต้น 5% (ตราภูเขาทอง, ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร) และปรับความเข้มข้นของกรดในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ตามตาราง ข-3 (ภาคผนวก ข) จากนั้นนำสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีกรดแอซีติกความเข้มข้นต่างๆมาตรวจวัดความเป็นกรด-ด่าง และตรวจวัดปริมาณกรดแอซีติกด้วยวิธีไตเตรทตามวิธีการของ AOAC (2002) (ภาคผนวก ข)

3.6.4.2 การเตรียมตัวอย่างโหระพา

นำโหระพาที่ซื้อได้มาจากตลาดสด มาคัดเลือกโหระพาที่มีลำต้นสูงประมาณ 20-25 เซนติเมตร และใบโหระพามีขนาดใกล้เคียงกัน ความยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักโหระพา 500 กรัม จำนวน 3 ครั้ง โดยการเทน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ไหลผ่านโหระพาจากลำต้นจนถึงปลายยอด เพื่อล้างฝุ่นละอองและสิ่งสกปรกออก สะเด็ดน้ำให้แห้งบนตะแกรงสแตนเลสสตีล ขนาด 14 x 20 นิ้ว ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำการผึ่งโหระพาให้แห้งในตู้เขี่ยเชื้อ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ทำการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อซัลเนลลาที่ปนเปื้อนจากธรรมชาติในโหระพา โดยนำตัวอย่างโหระพาที่ซื้อมาจากตลาดสด โหระพาที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และน้ำกลั่นที่ล้างโหระพา มาตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยเทคนิค pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตามวิธีการในข้อ 3.6.4.5 รวมทั้งทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาที่อาจปนเปื้อนจากธรรมชาติในโหระพาก่อนนำไปใช้ในการทดลอง ตามวิธีของอรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ (2545) (ภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.4.3 การถ่ายเชื้อซัลโมเนลลาลงบนโหระพา

เตรียมสารละลายเชื้อ *S.* Ratchaburi จากข้อ 3.6.3 ให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^8 CFU/ml ตามวิธีการข้อ 3.6.1.2 มาปรับความเข้มข้นด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% จนได้ปริมาณเชื้อที่ต้องการเพื่อสร้างการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Ratchaburi บนโหระพาที่มีการปนเปื้อนเชื้อ 10^6 CFU/g (การปนเปื้อนของเชื้อระดับสูง) และ 10^2 CFU/g (การปนเปื้อนของเชื้อระดับต่ำ) นำสารละลายเชื้อบรรจุใส่ขวดสเปรย์พร้อมหัวฉีด ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วโดยการนำขวดสเปรย์พร้อมหัวฉีด แช่ในสารฆ่าเชื้อเดทตอลที่ผสมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ อัตราส่วนเดทตอล : น้ำ เท่ากับ 1 : 5 เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างสารฆ่าเชื้อออกจากขวดสเปร์ย์พร้อมหัวฉีดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาบรรจุและฉีดพ่นสารละลายเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาตร 13-15 มิลลิลิตร ลงบนตัวอย่างโหระพาที่ตรวจไม่พบเชื้อซัลโมเนลลา จากข้อ 3.6.4.2 ปริมาณ 100 กรัม ที่บรรจุอยู่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ ขนาด 10 x 15 นิ้ว จำนวน 15 ครั้ง ให้ทั่วทั้งตัวอย่าง โดยให้หัวฉีดห่างจากปากถุงพลาสติก ประมาณ 10-15 เซนติเมตร (ดัดแปลงจากมนทกานติ์ บุญยการ, 2545) ผึ่งโหระพาที่ถ่ายเชื้อแล้วบนตะแกรงสแตนเลสสตีล ขนาด 14 x 20 นิ้ว ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในตู้เขี่ยเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 40 นาที จนผักแห้งสนิท ตรวจสอบปริมาณ *S.* Ratchaburi เริ่มต้นในโหระพาโดยเทคนิค pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสุ่มตรวจยืนยันเชื้อซัลโมเนลลาอีกครั้งหนึ่งด้วยวิธี spot assay โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จากนั้นกดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจำเพาะ XLD (Swetwiwathana และคณะ, 2009) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.6.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา

นำโหระพาที่ปนเปื้อนเชื้อ *S.* Ratchaburi จากข้อ 3.6.4.3 ปริมาณ 100 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ ขนาด 10 x 15 นิ้ว ทำการล้างโหระพาโดยการแช่ในสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นที่เตรียมได้จากข้อ 3.6.4.1 โดยเตรียมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีกรดแอซีติกความเข้มข้นที่เหมาะสมที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.3 ให้อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักโหระพาต่อปริมาตรของสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น เท่ากับ 1:12 (กรัม/มิลลิลิตร) (ดัดแปลงจาก Chang และ Fang, 2007) เขย่าถุงตัวอย่างเบาๆ เป็นเวลา 1 นาที วางถุงพลาสติกทิ้งไว้ให้ตัวอย่างโหระหาสัมผัสกับสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น ตามระยะเวลาที่เหมาะสมที่คัดเลือกจากข้อ 3.6.3 เปรียบเทียบกับโหระพาที่ผ่านการล้างน้ำกลั่นปลอดเชื้อแทนน้ำส้มสายชูกลั่น (ชุดควบคุม) นำโหระพามาล้างกรดที่ติดอยู่ออกด้วยการจุ่มในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ผึ่งให้แห้งบนตะแกรงสแตนเลสสตีล ขนาด 14 x 20 นิ้ว ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เป็นเวลา 40 นาที ตรวจปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอดในตัวอย่างโหระพาทุกขั้นตอนในการล้าง และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นและน้ำกลั่นที่ใช้ล้าง มาทำตรวจปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอด ตามวิธีการข้อ 3.6.4.5

การทดสอบประสิทธิภาพน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design, RCBD) โดยมีปัจจัยคือสภาวะในการล้างโหระพา และมีปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาเหลือรอดเป็นตัวแปรตามในการศึกษา ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.6.4.5 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อ *S.* Ratchaburi

นำตัวอย่างโหระพา สารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นและน้ำกลั่นที่ใช้ล้างโหระพา จากข้อ 3.6.4.2 -3.6.4.4 มาทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) และเชื้อ *S.* Ratchaburi ดังนี้

1) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจากโหระพา

ตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยเทคนิคตีป่น โดยนำตัวอย่างโหระพา จำนวน 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างทางจุลชีววิทยา (stomacher bag) เติมสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาณ 225 มิลลิลิตร ตีป่นด้วยความเร็วปานกลางเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นปีเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยเทคนิค pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี รายงานผลเป็น log CFU/g

2) การวิเคราะห์ปริมาณ *S.* Ratchaburi **จากโหระพา**

ตรวจนับปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดในโหระพา ด้วยเทคนิคตีป่นจากข้อ 3.6.4.5 (1) และเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการตรวจนับปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาโดยเทคนิค pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการตรวจยืนยันเชื้อซัลโมเนลลาอีกครั้งหนึ่งด้วยวิธี spot assay โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จากนั้นกดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจำเพาะ XLD บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยวิธี spot assay บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ดูลักษณะเฉพาะของโคโลนีเชื้อ *S.* Ratchaburi สายพันธุ์ที่ทำการศึกษา

3) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *S.* **Ratchaburi ในสารละลายที่ใช้ล้างโหระพา**

นำสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น และน้ำกลั่นที่ใช้ล้างโหระพา มาทำการเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการตรวจนับปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA โดยเทคนิค pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และทำการตรวจยืนยันเชื้อซัลโมเนลลาอีกครั้งหนึ่ง ด้วยวิธี spot assay โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จากนั้นกดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจำเพาะ XLD บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยวิธี spot assay บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ดูลักษณะเฉพาะของโคโลนีเชื้อ *S.* Ratchaburi สายพันธุ์ที่ทำการศึกษา

3.6.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของโหระพาหลังผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่น ในระหว่างการเก็บรักษา

นำโหระพาที่ปนเปื้อนเชื้อ *S.* Ratchaburi แล้วผ่านการล้างด้วยสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นจากข้อ 3.6.4.4 เปรียบเทียบกับโหระพาที่ผ่านการล้างน้ำกลั่นปลอดเชื้อแทนน้ำส้มสายชูกลั่น (ชุดควบคุม) บรรจุโหระพาลงในถุงพลาสติกชนิดโพลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น (LLDPE) สำหรับบรรจุผัก-ผลไม้ ขนาด 10x15 นิ้ว เจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 10 รูต่อถุง (ดัดแปลงจากวิธีการของนวรัตน์ รัตนดิลก ณ ภูเก็ต, 2552) เก็บรักษาโหระพาที่อุณหภูมิ 4±1 และ 31±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน สุ่มตัวอย่างโหระพาที่เวลา 0 1 และ 3 วัน มาตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพของของโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นในด้านต่างๆ คือ สี (ใบ) ความสด (ใบ) ลักษณะปรากฏ (คุณภาพโดยรวม) ความชอบโดยรวม (ดัดแปลงจากวิธีการของจุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล และผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์, 2553) ใช้การสังเกตด้วยสายตาโดยใช้ผู้ทดสอบ (panel) ทั่วไปที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน โดยกำหนดคะแนนคุณภาพ 5 ระดับ (5-point hedonic scale) เปรียบเทียบกับโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) โดยคะแนนระดับ 1 ชอบน้อยที่สุด ไปจนถึงคะแนนระดับ 5 ชอบมากที่สุด ตามวิธีการในภาคผนวก ง

การศึกษาคุณภาพของโหระพาหลังผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่น ในระหว่างการเก็บรักษา ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (RCBD) โดยมีปัจจัยคือ อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาและมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เหลือรอดและคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสเป็นตัวแปรตามในการศึกษา ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นการเจริญของเชื้อ *S.* Ratchaburi ในหลอดทดลอง

4.1.1 ผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi

การศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการลดจำนวนเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 6.19 log CFU/ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy broth (TSB) ที่มีการเติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 5 ระดับ คือ 0.25 0.50 0.75 1.00 และ 2.00% โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.31 3.11 2.92 2.81 และ 2.43 ตามลำดับ และระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อซัลโมเนลลา 1 5 10 และ 15 นาที ตามลำดับ การตรวจปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาเหลือรอดเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีการเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.11 ผลการทดลองดังตารางที่ 4.1

เมื่อใช้น้ำส้มสายชูกลั่นที่มีกรดแอซีติกเข้มข้นที่ระดับเดียวกัน ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้น ตรวจพบปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดลดลง โดยเมื่อทดสอบด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.25 ระยะเวลาสัมผัส 1-15 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 1.05-2.38 log CFU/ml เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อในตัวอย่างชุดควบคุม ($p \leq 0.05$) และที่ความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.50 และ 0.75% พบปริมาณเชื้อลดลง 1.40-2.57 log CFU/ml และ 2.01-3.37 log CFU/ml ตามลำดับ เมื่อใช้น้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.00% ระยะเวลาสัมผัส 1 5 และ 10 นาที พบปริมาณเชื้อลดลง 2.20-3.44 log CFU/ml แต่ที่ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที มีการลดลงของเชื้อ โดยตรวจไม่พบโคโลนีของเชื้อเหลือรอดในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนที่ความเข้มข้นของกรดแอซีติก 2.00% ระยะเวลาสัมผัส 1 นาที พบปริมาณเชื้อลดลง 3.48 log CFU/ml และที่ระยะเวลาสัมผัส 5 นาที เป็นต้นไป ตรวจไม่พบโคโลนีของเชื้อเหลือรอดในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถทำลายเชื้อ *S.* Ratchaburi ได้อย่างสมบูรณ์ ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นทุกระดับของกรดแอซีติก ระยะเวลาสัมผัสเชื้อเพิ่มขึ้นจาก 10 เป็น 15 นาที ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอด ภายหลังการสัมผัสกับอาหาร TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติก 0.25 0.50 0.75 1.00 และ 2.00% บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 5 10 และ 15 นาที โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.19±0.24 log CFU/ml

TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติก (%)	ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณเชื้อรอดชีวิต (log CFU/ml) ระยะเวลาสัมผัส (นาที)			
		1	5	10	15
ชุดควบคุม	6.11±0.00	5.39 ± 0.10^{Aa}	5.39 ± 0.10^{Aa}	5.39 ± 0.10^{Aa}	5.39 ± 0.10^{Aa}
0.25	3.31±0.10	4.34 ± 0.28^{Ab}	4.16 ± 0.67^{Ab}	4.03 ± 0.11^{Ab}	3.01 ± 0.19^{Bb}
0.50	3.11±0.00	3.96 ± 0.33^{Ac}	3.58 ± 0.05^{ABc}	3.18 ± 0.24^{Bc}	2.79 ± 0.33^{Cc}
0.75	2.92±0.10	3.38 ± 0.18^{Acd}	3.14 ± 0.16^{Ac}	2.97 ± 0.10^{Bd}	1.92 ± 0.00^{Cd}
1.00	2.81±0.00	3.19 ± 0.24^{Ad}	2.28 ± 0.21^{Bd}	1.95 ± 0.15^{Ce}	0.00 ± 0.00^{De}
2.00	2.43±0.10	1.91 ± 0.11^{Ae}	0.00 ± 0.006^{Be}	0.00 ± 0.00^{Bf}	0.00 ± 0.00^{Be}

หมายเหตุ ตัวอักษร A-D ที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตัวอักษร a-f ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ขณะเดียวกันเมื่อใช้ระยะเวลาสัมผัสกับน้ำส้มสายชูกลั่นเท่ากัน ความเข้มข้นของกรดแอซีติกในน้ำส้มสายชูกลั่นเพิ่มขึ้น ตรวจพบปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยที่ระยะเวลาสัมผัส 1 นาที ตรวจพบเชื้อเหลือรอดที่ทุกระดับความเข้มข้นของกรดแอซิติก เมื่อใช้ระยะเวลาสัมผัส 5 และ 10 นาที ที่ความเข้มข้นของกรดแอซีติกเพิ่มขึ้นเป็น 2.0% ตรวจไม่พบโคโลนีของเชื้อเหลือรอดในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนการใช้ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที พบว่าเมื่อใช้น้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.00 และ 2.00% ตรวจไม่พบเชื้อเหลือรอดในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ พบว่าซึ่งตรวจพบปริมาณเชื้อเหลือรอดลดลง 0.80 log CFU/ml ที่ทุกช่วงเวลาในการสัมผัส

กรดแอซีติกเป็นกรดอินทรีย์หรือกรดอ่อน ซึ่งเป็นกรดที่แตกตัวได้ไม่หมดหรือแตกตัวได้น้อย และผลการทำลายเชื้อขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์กรดที่ไม่แตกตัว เมื่อปริมาณกรดเพิ่มขึ้นเปอร์เซ็นต์กรดที่ไม่แตกตัวสูงขึ้น ซึ่งกรดแอซีติกที่ไม่แตกตัวนี้เป็นปัจจัยหลักในการทำลายเซลล์เชื้อซัลโมเนลลา ดังนั้นเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของกรดสูงขึ้นทำให้มีปริมาณกรดที่ไม่แตกตัวเพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้สูงขึ้น (Savard และคณะ, 2002)

จากผลการศึกษาพบว่า น้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.00% ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที และความเข้มข้นของกรดแอซีติก 2.00% ระยะเวลาสัมผัสตั้งแต่ 5 นาที เป็นต้นไป สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 6.19 log CFU/ml ได้ สอดคล้องกับรายงานของ สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา และคณะ (2006) กล่าวว่าเชื้อ *S.* Enteritidis ถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นของกรด 2.0% และการศึกษาของจิราวรรณ ยี่สิบแสน (2552) ได้ทดสอบผลของน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้นกรดในช่วง 1-3% ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Enteritidis ในหลอดทดลอง พบว่าเชื้อ *S.* Enteritidis ลดจำนวนลงในอาหาร TSB ที่มีความเข้มข้นกรด 2 % และใช้เวลาสัมผัสกรด 5 นาที ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นกรดแอซีติกในช่วง 1.00- 2.00% ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที มาใช้ในศึกษาหาระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่นอย่างละเอียดในการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ระดับสูง ที่มีปริมาณเชื้อ 10^6 CFU/ml นอกจากนี้ได้ทำการคัดเลือกน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นกรดแอซีติกในช่วง 0.00- 1.00% ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที มาใช้ในศึกษาหาระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่นอย่างละเอียดในหลอดทดลองในการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ระดับต่ำ ที่มีปริมาณเชื้อ 10^2 CFU/ml ต่อไป

4.1.2 ประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับสูงและต่ำ

ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีการเติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.00 1.10 1.20 1.30 1.40 1.50 1.60 1.70 1.80 1.90 และ 2.00% เพื่อหาความเข้มข้นของกรดแอซีติกที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.18 log CFU/ml (ปริมาณเซลล์ระดับสูง) จนตรวจไม่พบ ที่ระยะเวลาสัมผัสเชื้อ 10 นาที ปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาเหลือรอดและผลการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ดังตารางที่ 4.2 พบว่าที่ทุกระดับความเข้มข้นของกรดแอซีติก ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ลดลง 3.80 log CFU/ml ในสภาพที่มีการเติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.00% คิดเป็นผลการยับยั้งเชื้อ 61.49% และเชื้อลดลง 4.52-5.28 log CFU/ml คิดเป็นผลการยับยั้งเชื้อ 73.14-85.44% ที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกในช่วง 1.10-1.40% นอกจากนี้พบว่าน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50% ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดและการยับยั้งการเจริญของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติกในช่วง 1.00-2.00% บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 นาที โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.18±0.47 log CFU/ml

TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติก (%)	ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอด	การยับยั้งการเจริญของเชื้อ (%)
ชุดควบคุม	6.07±0.00	5.15±0.36^{a}	16.67
1.00	2.83±0.01	2.38±0.14^{b}	61.49
1.10	2.80±0.01	1.66±0.53^{bc}	73.14
1.20	2.81±0.01	1.56±0.71^{bc}	74.76
1.30	2.79±0.01	1.26±0.28^{c}	79.61
1.40	2.78±0.00	0.90±0.06^{d}	85.44
1.50	2.77±0.01	0.00±0.00^{e}	100.00
1.60	2.74±0.01	0.00±0.00^{e}	100.00
1.70	2.73±0.01	0.00±0.00^{e}	100.00
1.80	2.72±0.00	0.00±0.00^{e}	100.00
1.90	2.70±0.00	0.00±0.00^{e}	100.00
2.00	2.68±0.01	0.00±0.00^{e}	100.00

หมายเหตุ ตัวอักษร a-e ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลของความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีการเติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.10 0.20 0.30 0.40 0.50 0.60 0.70 0.80 0.90 และ 1.00% เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2.13 log CFU/ml (ปริมาณเซลล์ระดับต่ำ) ระยะเวลาในการสัมผัส 10 นาที ดังตารางที่ 4.3 พบว่าปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ลดลง 0.47-1.20 log CFU/ml ในสภาพที่มีการเติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.10-0.30% คิดเป็นผลการยับยั้งเชื้อ 22.07-56.34% และเมื่อใช้น้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.40% ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอดและการยับยั้งการเจริญของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติกในช่วง 0.10-1.00% บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 นาที โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 2.13±0.44 log CFU/ml

TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซิติก (%)	ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi เหลือรอด	การยับยั้งการเจริญของเชื้อ (%)
ชุดควบคุม	6.08±0.00	1.85±0.44[a]	13.15
0.10	3.32±0.01	1.66±0.05[a]	22.07
0.20	3.18±0.00	1.30±0.22[ab]	38.97
0.30	3.13±0.01	0.93±0.11[b]	56.34
0.40	3.14±0.00	0.00±0.00[c]	100.00
0.50	3.10±0.01	0.00±0.00[c]	100.00
0.60	2.95±0.01	0.00±0.00[c]	100.00
0.70	2.93±0.01	0.00±0.00[c]	100.00
0.80	2.89±0.00	0.00±0.00[c]	100.00
0.90	2.85±0.01	0.00±0.00[c]	100.00
1.00	2.83±0.01	0.00±0.00[c]	100.00

หมายเหตุ ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ในหลอดทดลอง พบว่าเมื่อน้ำส้มสายชูกลั่นมีความเข้มข้นของกรดแอซีติกเพิ่มขึ้น ความสามารถในการยับยั้งการจริญของเชื้อมากขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับ Tsujihata และคณะ (1998) พบว่าการยับยั้งเชื้อ *S.* Typhimurium ไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อเริ่มต้น แต่ขึ้นอยู่กับสภาวะความรุนแรง (ความเข้มข้น) ของกรดที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อนั้น โดยเมื่อใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นสามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Typhimurium ได้มากขึ้น เช่นเดียวกับกับ Savard และคณะ (2002) ที่กล่าวว่ากรดแอซีติกเป็นกรดอินทรีย์หรือกรดอ่อน ซึ่งเป็นกรดที่แตกตัวได้ไม่หมดหรือแตกตัวได้น้อย และผลการทำลายเชื้อขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์กรดที่ไม่แตกตัว เมื่อปริมาณกรดเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์กรดที่ไม่แตกตัวสูงขึ้น ซึ่งกรดแอซีติกที่ไม่แตกตัวนี้เป็นปัจจัยหลักในการทำลายเซลล์เชื้อชัลโมเนลลา ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นของกรดสูงขึ้นทำให้มีปริมาณกรดที่ไม่แตกตัวเพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อได้สูงขึ้น นอกจากนี้ Bell และ Kyriakides (2002) รายงานว่าประสิทธิภาพการทำลายเซลล์จุลินทรีย์นอกจากขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์การไม่แตกตัวของกรดอินทรีย์แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมด้วย โดยกรดอินทรีย์จะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นเมื่อค่าความเป็นกรดด่างต่ำลงและอุณหภูมิสูงขึ้น เพราะจะส่งผลให้ปริมาณการแตกตัวของกรดต่ำลง ประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อสูงขึ้น

จากผลการศึกษาได้ทำการคัดเลือกน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50% และ 0.40% ระยะเวลา 10 นาที ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับสูงและระดับต่ำได้อย่างสมบูรณ์ เป็นความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา

ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และตรวจเชื้อซัลโมเนลลาในโหระพาที่ใช้ในการทดลอง พบว่าโหระพามีการปนปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดตั้งต้น 6.38 log CFU/g และตรวจไม่พบเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อนจากธรรมชาติในตัวอย่าง เมื่อทำการล้างสิ่งปกปรกออกด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อไหลผ่าน ปริมาณเชื้อทั้งหมดลดลงเล็กน้อย (0.27 log CFU/g) เมื่อปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อเริ่มต้น

4.2.1 ประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนของเชื้อในระดับสูงบนโหระพา

ผลการศึกษาการล้างโหระพาต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50% ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที พบว่าหลังจากนำโหระพาที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาณ 6.06 log CFU/g (การปนปื้อนเชื้อระดับสูง) มาทำการล้าง จากตารางที่ 4.4 พบว่าปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ลดลง 5.32 log CFU/g โดยตรวจพบปริมาณเชื้อเหลือรอด 0.74 log CFU/g และเมื่อทำการล้างกรดที่ติดออกมาด้วยการจุ่มในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ตรวจไม่พบเชื้อ *S.* Ratchaburi ในโหระพา ขณะที่การล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อแทนน้ำส้มสายชูกลั่น (ชุดควบคุม) ไม่สามารถลดการปนปื้อนของเชื้อ *S.* Ratchaburi ลงได้ โดยมีปริมาณเชื้อที่เหลือรอด 3.31 log CFU/g

การตรวจสอบผลของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 2.21 log CFU/g โดยมีปริมาณเชื้อที่เหลือรอด 4.01 log CFU/g และเมื่อทำการล้างกรดที่ติดออกมาด้วยการจุ่มในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ตรวจพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 0.87 log CFU/g โดยมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอด 3.14 log CFU/g

นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อ *S.* Ratchaburi ในน้ำส้มสายชูกลั่นและน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ใช้ในการล้างโหระพา มีปริมาณเชื้อ 1.91 และ 1.51 log CFU/g ในชุดทดสอบ และ 1.72 และ 1.45 CFU/g ในชุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ควบคุม แสดงว่าน้ำส้มสายชูกลั่นและน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ใช้ในขั้นตอนการล้าง สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ลงได้ จากการชะเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนออกจากโหระพา ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Homthong และ Karatpong (2009) รายงานว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูกลั่นจาก 2% เป็น 5% ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนใบสะระแหน่ปริมาณ 4.83 log CFU/g ได้เพิ่มขึ้น จาก 52.38 เป็น 87.58% แต่แตกต่างจากการล้างใบสะระแหน่ด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ลดปริมาณเชื้อ *S.* Typhimurium ได้เช่นกัน โดยลดเชื้อได้เพียง 12.83%

ตารางที่ 4.4 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เหลือรอดในโหระพาในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50% ระยะเวลา 10 นาที ที่มีปริมาณ *S.* Ratchaburi ในระดับสูง

ตัวอย่างโหระพา	ปริมาณเชื้อรอดชีวิต (log CFU/g)			
	ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม)		ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50%	
	S. Ratchaburi	จุลินทรีย์ทั้งหมด	*S.* Ratchaburi	จุลินทรีย์ทั้งหมด
- ก่อนการล้าง	6.06	6.22	6.06	6.22
- หลังการล้างสารละลายทดสอบ	5.10	5.21	0.74	4.01
- หลังการล้างทุกขั้นตอน	3.31	3.40	0.00	3.14

4.2.2 ประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนของเชื้อในระดับต่ำบนโหระพา

ผลการศึกษาการล้างโหระพาต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.40% ระยะเวลาสัมผัส 10 นาที พบว่าหลังจากนำโหระพาที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาณ 2.91 log CFU/g (การปนปื้อนเชื้อระดับต่ำ) มาทำการล้าง จากตารางที่ 4.5 พบว่าปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ลดลง 2.31 log CFU/g โดยเชื้อที่เหลือรอด 0.60 log CFU/g และเมื่อทำการล้างกรดที่ติดออกมาด้วยการจุ่มในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ตรวจไม่พบเชื้อ *S.* Ratchaburi ในโหระพา ขณะที่การล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อแทนน้ำส้มสายชูกลั่น (ชุดควบคุม) ไม่สามารถลดการปนปื้อนของเชื้อ *S.* Ratchaburi ลงได้ โดยเชื้อที่เหลือรอด 1.21 log CFU/g

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในโหระพา พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 2.03 log CFU/g โดยมีปริมาณเชื้อที่เหลือรอด 4.19 log CFU/g และเมื่อทำการล้างกรดที่ติดออกมาด้วยการจุ่มใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ตรวจพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง 0.55 log CFU/g โดยตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอด 3.61 log CFU/g

นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อ *S.* Ratchaburi ในน้ำส้มสายชูกลั่นและน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ใช้ในการล้างโหระพา มีปริมาณเชื้อ 1.49 และ 1.88 log CFU/g ในชุดทดสอบ และ 1.66 และ 1.32 CFU/g ในชุดควบคุม เช่นเดียวกับการล้างโหระพาที่ปนเปื้อนของเชื้อในระดับสูง แสดงว่าน้ำส้มสายชูกลั่นและน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ใช้ในขั้นตอนการล้าง สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ลงได้จากการชะเชื้อที่ปนเปื้อนออกจากโหระพา

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่เหลือรอดในโหระพาในขั้นตอนการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.40% ระยะเวลา 10 นาที ที่มีปริมาณ *S.* Ratchaburi ในระดับต่ำ

ตัวอย่างโหระพา	ปริมาณเชื้อรอดชีวิต (log CFU/g)			
	ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม)		ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.40%	
	S. Ratchaburi	จุลินทรีย์ทั้งหมด	*S.* Ratchaburi	จุลินทรีย์ทั้งหมด
- ก่อนการล้าง	2.91	6.22	2.91	6.22
- หลังการล้างสารละลายทดสอบ	2.28	4.46	0.60	4.19
- หลังการล้างทุกขั้นตอน	1.12	3.35	0.00	3.61

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการล้างโหระพาที่ปนเปื้อนเชื้อ *S.* Ratchaburi แสดงให้เห็นว่าสภาวะที่ใช้ในการทดลองล้างโหระพาที่ปนเปื้อนของเชื้อในระดับสูงด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50% และล้างโหระพาที่ปนเปื้อนของเชื้อในระดับต่ำด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.40% สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้ และลดปริมาณ *S.* Ratchaburi ลงได้อย่างสมบูรณ์ในโหระพา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวชิราภรณ์ เทียมพันธ์ (2545) พบว่าเมื่อทำการล้างผักกาดหอมด้วย น้ำส้มสายชูกลั่น 1% มีประสิทธิภาพดีในการทำลายเชื้อ *S.* Typhimurium และ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนผักกาดหอม ปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^4 log CFU/ml ได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของโหระพาหลังผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นในระหว่างการเก็บรักษา

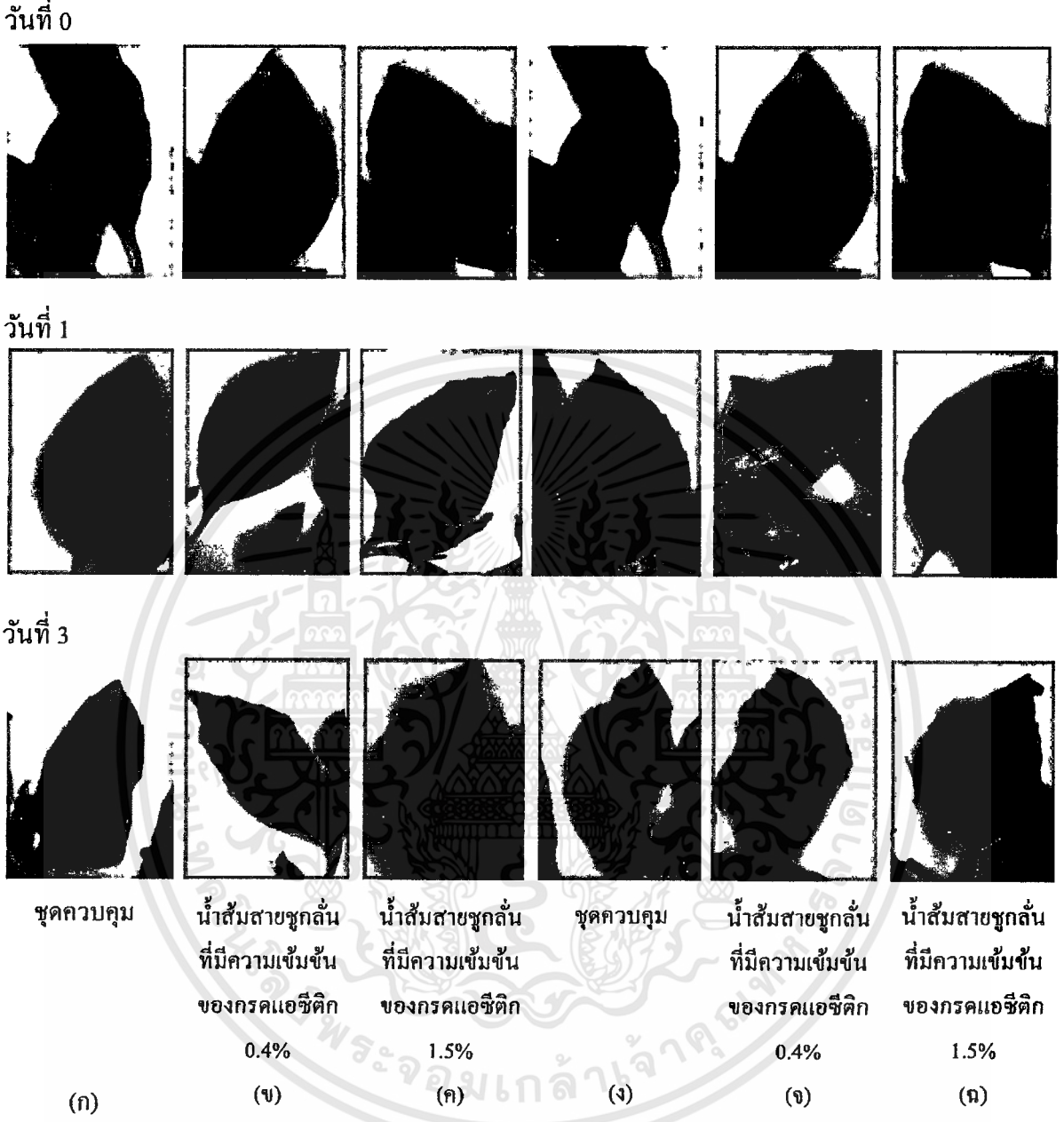
ทำการประเมินคุณภาพทางกายภาพของโหระพาระหว่างการเก็บรักษา โดยเตรียมตัวอย่างโหระพาที่มีการปนเปื้อนเชื้อระดับสูงและระดับต่ำ จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) บรรจุลงในถุงพลาสติกชนิด LLDPE เจาะรู สำหรับบรรจุ ผัก-ผลไม้ ขนาด 10 x 15 นิ้ว เก็บที่อุณหภูมิ 4±1 และ 31±1 องศาเซลเซียส ทำการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส ระยะเวลา 0 1 และ 3 วันของการเก็บรักษา โดยใช้ผู้ประเมินคุณภาพ จำนวน 30 คน เปรียบเทียบกับโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ(ชุดควบคุม) ดังตารางที่ 4.6 และการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของโหระพาภายหลังการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่น ดังภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.6 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.4 และ 1.5% เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น 4±1 และอุณหภูมิห้อง 31±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

วันที่เก็บ	ความเข้มข้นของกรดแอซีติก (%)	ผลการประเมิน (คะแนน)							
		อุณหภูมิ 5±1 องศาเซลเซียส				อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส			
		สี (ใบ)	ความสด (ใบ)	ลักษณะปรากฏ (คุณภาพโดยรวม)	ความชอบโดยรวม	สี (ใบ)	ความสด (ใบ)	ลักษณะปรากฏ (คุณภาพโดยรวม)	ความชอบโดยรวม
0	ชุดควบคุม	4.80^{a}	4.77^{a}	4.90^{a}	4.73^{a}	4.80^{a}	4.77^{a}	4.90^{a}	4.73^{a}
	0.4	4.77^{a}	4.60^{a}	4.70^{a}	4.73^{a}	4.77^{a}	4.60^{a}	4.70^{a}	4.73^{a}
	1.5	4.70^{a}	4.73^{a}	4.79^{a}	4.63^{a}	4.70^{a}	4.73^{a}	4.79^{a}	4.63^{a}
1	ชุดควบคุม	4.53^{a}	4.20^{a}	4.23^{a}	4.37^{a}	3.00^{ab}	3.20^{ab}	3.23^{ab}	3.42^{a}
	0.4	4.47^{a}	4.27^{a}	4.13^{a}	4.23^{a}	3.73^{a}	3.20^{ab}	3.00^{a}	3.03^{ab}
	1.5	4.23^{a}	4.20^{a}	4.12^{a}	4.07^{a}	3.20^{a}	3.03^{ab}	2.93^{b}	2.97^{b}
3	ชุดควบคุม	2.42^{b}	2.37^{b}	2.26^{a}	2.37^{b}	1.72^{c}	1.81^{c}	1.64^{c}	1.56^{c}
	0.4	2.21^{b}	2.27^{b}	2.12^{b}	2.16^{b}	1.61^{c}	1.68^{c}	1.44^{c}	1.36^{c}
	1.5	2.16^{b}	2.11^{b}	2.07^{b}	2.07^{b}	1.68^{c}	1.39^{c}	1.41^{c}	1.29^{c}

หมายเหตุ ตัวอักษร a-c ที่แตกต่างกันในแนวนอน หมายถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ลักษณะการเปลี่ยนคุณลักษณะทางกายภาพของโหระพาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น (4±1 องศาเซลเซียส) (ก) ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ข) ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.4% (ค) ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.5% และโหระพาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลเซียส) (ง) ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (จ) ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.4% (ฉ) ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.5% โดยเก็บรักษาเป็นเวลา 0 1 และ 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษา พบว่าผู้ประเมินให้การยอมรับโหระพาในทุกๆด้าน ได้แก่ สี (ใบ) ความสด (ใบ) ลักษณะปรากฏ (คุณภาพโดยรวม) และการยอมรับโดยรวมของโหระพา ภายหลังการล้าง (วันที่ 0) ด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.5 และ 0.4% ไม่แตกต่างจากโหระพาที่ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดชื้อ (ชุดควบคุม) ($p>0.05$) โดยโหระพายังคงสภาพสมบูรณ์ ใบสีเขียวเข้ม ไม่มีรอยช้ำและรอยดำ

เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส พบว่าผู้ประเมินให้การยอมรับโหระพาที่ล้างด้วยสารทดสอบไม่ต่างจากการใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ($p>0.05$) เช่นกัน แต่พบว่าผู้ประเมินให้การยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ (คุณภาพโดยรวม) และการยอมรับโดยรวม ของโหระพาที่ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.5% และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 31±1 องศาเซลเซียส ต่ำกว่าโหระพาที่ล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.4% และน้ำกลั่นปลอดเชื้อโดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบ 2.93 และ 2.97 ตามลำดับ โดยโหระพาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เริ่มเกิดรอยสีน้ำตาลเป็นแถบกระจายทั่วใบ ส่วนโหระพาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 31±1 องศาเซลเซียส เริ่มเกิดรอยสีน้ำตาลเป็นแถบกระจายทั่วใบและใบเหี่ยวมากขึ้นอย่างชัดเจน และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน พบว่าผู้ประเมินให้คะแนนการยอมรับโดยรวมโหระพาที่ล้างด้วยสารทดสอบไม่แตกต่างจากการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และผู้ประเมินให้คะแนนการยอมรับโหระพาที่เก็บที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส สูงกว่าโหระพาที่เก็บที่อุณหภูมิ 31±1 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยโหระพาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส ใบโหระพาเหี่ยว เกิดรอยช้ำและใบเปลี่ยนเป็นสีดำ ขณะที่โหระพาที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 31±1 องศาเซลเซียส ใบโหระพาเหี่ยวมากและใบเปลี่ยนเป็นสีดำคล้ำอย่างชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ในหลอดทดลอง พบว่าระดับความเข้มข้นของกรดแอซีติกในน้ำส้มสายชูกลั่นมีอิทธิพลร่วมกับระยะเวลาในการสัมผัสเชื้อ ซึ่งส่งผลต่อการลดลงของเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ทำการทดสอบ เมื่อใช้น้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกมากขึ้นและใช้ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้น ตรวจพบปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาเหลือรอดน้อยลง โดยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.25% ระยะเวลาสัมผัส 1-15 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 1.05-2.38 log CFU/ml และน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.50 และ 0.75% ระยะเวลาสัมผัส 1-15 นาที พบปริมาณเชื้อลดลง 1.40-2.57 log CFU/ml และ 2.01-3.37 log CFU/ml ตามลำดับ การใช้น้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.00% ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที และความเข้มข้นของกรดแอซีติก 2.00% ระยะเวลาสัมผัสตั้งแต่ 5 นาที เป็นต้นไป สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 6.19 log CFU/ml ได้อย่างสมบูรณ์ และการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.00 – 2.00% ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับสูง (ปริมาณ 6.18 log CFU/g) และความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.10 – 1.00% ในการยับยั้งเชื้อระดับต่ำ (ปริมาณ 2.13 log CFU/g) ระยะเวลา 10 นาที พบว่าน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50 และ 0.40% มีประสิทธิภาพทำลายเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่มีปริมาณเชื้อระดับสูงและต่ำได้อย่างสมบูรณ์ คือตรวจไม่พบการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงคัดเลือกน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นกรดแอซีติกดังกล่าว มาใช้ในการล้างโหระพาที่ปนเปื้อนเชื้อ *S.* Ratchaburi ระดับสูงและระดับต่ำ

การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพา พบว่าการปนปื้อนของเชื้อในระดับสูง (ปริมาณ 6.06 log CFU/g) บนโหระพา เมื่อทำการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50% ระยะเวลา 10 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Ratchaburi ลงได้อย่างสมบรูณ์ แต่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอด 3.14 log CFU/g และที่การปนปื้อนของเชื้อในระดับต่ำ (ปริมาณ 2.91 log CFU/g) สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Ratchaburi ลงได้อย่างสมบรูณ์ แต่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเหลือรอด 3.61 log CFU/g

การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางกายภาพของโหระพาภายหลังการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก 1.50 และ 0.40% เปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (ชุดควบคุม) พบว่าการล้างผักด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นไม่มีผลในเรื่องคุณภาพของโหระพาภายหลังการล้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลซียส และอุณหภูมิห้อง (31±1 องศาเซลซียส) เป็นเวลา 3 วัน พบว่าผู้ประเมินให้การยอมรับคุณภาพของโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติก ใกล้เคียงกับชุดควบคุม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และยังช่วยในเรื่องความปลอดภัยจากการบริโภคเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่อาจติดมาได้อีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นข้อมูลเบื้องต้นในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Ratchaburi ที่ปนเปื้อนบนโหระพาด้วยสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น ให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค แต่เนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาตามธรรมชาติมีปริมาณเชื้อแตกต่างกัน จึงควรมีการศึกษาปริมาณการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาที่ระดับอื่นๆเพิ่มเติม และควรศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในผักผลไม้ชนิดอื่นๆ เพื่อเป็นแนวทางความปลอดภัยในด้านสุขาภิบาลอาหารมากขึ้น

5.2.2 ในการศึกษาคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของโหระพาในระหว่างการเก็บรักษา ถึงแม้ว่าน้ำส้มสายชูกลั่นจะสามารถลดจำนวนเชื้อซัลโมเนลลาที่ปนเปื้อนบนโหระพาได้ดี แต่ความเข้มข้นของกรดแอซีติกในระดับสูง ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางกายภาพของโหระพาในระหว่างการเก็บรักษา จึงควรมีการศึกษาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาล้างผักที่เหมาะสมเพิ่มเติม เพื่อลดผลกระทบต่อคุณภาพทางกายภาพของผักภายหลังการล้าง และระหว่างการเก็บรักษาเพื่อการยอมรับของผู้บริโภคต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรชกร แก้วทองคำ. 2548. โครงการศึกษาการขยายตลาดสินค้าเกษตรและอาหารไทยในสหภาพยุโรป : มุมมองทางด้านเทคนิค สำนักงานที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศ ประจำสหภาพยุโรป. เข้าถึงได้จาก http://www.thaieurope.net. (27 ธันวาคม 2553).

กระทรวงสาธารณสุข. 2543. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู ประกาศ 19 กันยายน 2543. กรุงเทพฯ: กระทรวงสาธารณสุข.

คณะผู้แทนไทยประจำประชาคมยุโรป. 2553. กรองยุโรปเพื่อไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

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

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล และผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์. 2553. การลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ อี.โคไล และซาลโมเนลลาในฝบกะเพรา. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41(3/1)(พิเศษ): 401-404.

จันทร์สุดา จริยวัฒนวิจิตร. 2552. คุณภาพและอายุการเก็บรักษาของมะละกอสุก ฝรั่ง และแคนตาลูปพร้อมบริโภค. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 34(4-6): 61-63.

ชุติมา ศิริชุมแสง. 2554. สถานการณ์พืชส่งออก EU ในปัจจุบัน. วารสารกรมส่งเสริมการส่งออก 34(2): 98-99.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2534. จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรมอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ.

ตรีอุบล แก้วหย่อง และบวรศักดิ์ ลีลานนท์. 2553. ผลของสารฆ่าเชื้อและสารลดแรงตึงผิวในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดั้งเดิมและ *Salmonella* Typhimurium ในโหระพาระหว่างปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยว. Postharvest Newsletter. 9(3): 1-3.

ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์ และนิดดา หงษ์วิวัฒน์. 2548. ประโยชน์และคุณค่า ผัก 333 ชนิด. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ เอช.เอ็น.กรุ๊ป, กรุงเทพฯ.

นวรัตน์ รัตนดิลก ณ ภูเก็ต. 2552. ผลของน้ำหมักชีวภาพในการลดจำนวน *Salmonella* ในผักสด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

บุญศรี จงเสรีจิตต์. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์, นครปฐม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปิยาณี จันทปัญญาศิลป์. 2542. ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนร่วมกับกรดอินทรีย์ในการลด *E. coli* ในผักสด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ภัทราพรรณ จรูญรัตนสกุล. 2553. การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผิวของสตรอเบอร์รี่สดด้วยน้ำส้มสายชูหมัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

มนทกานติ์ บุญยการ. 2545. การลดการปนเปื้อนข้ามของ *Salmonella* Typhimurium ระหว่างการเตรียมผักสลัดโดยสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ระพีพรรณ ใจภักดี. 2545. ผักใบ - Green Vegetables. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แสงแดดเพื่อนเด็ก, กรุงเทพฯ.

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

วราภรณ์ แก้วเที่ยง. 2554. ผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์กับสารละลายคิลแบคเอสยูต่อเชื้อ *Salmonella* Schwarzengrund ในผักชีฝรั่ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา วราวุฒิ ครูส่ง อดิศร เสวตวิวัฒน์ อัสนี วิจิตระกะ และสุเมธ ตันตระเธียร. 2549. การยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อไก่สดโดยใช้น้ำส้มสายชู. การประชุมวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 8 นวัตกรรมทางอาหาร, ไบเทค บางนา กรุงเทพฯ. 15-16 มิถุนายน 2549.

สาธิตา รุ่งอรุโณทัย. 2554. ผลของ KILL BACT-SU และกรดเปอร์อะซิติก ต่อเชื้อ *Salmonella* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

สินีนาถ จริยโชติเลิศ. 2550. บรรจุภัณฑ์ : ภาชนะบรรจุอาหาร. เข้าถึงได้จาก http://ag-ebook.lib. ku. ac.th/ebboks/2011-002-0186/index.html (25 มกราคม 2555).

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. ตำราจุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนงานสารสนเทศและเผยแพร่วิชาการ. 2554. การส่งออกผัก-ผลไม้สดไป EU. เข้าถึงได้จาก thaieurope.net/content/blogsection/17/176/ (12 มีนคม 2554).

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2527. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำส้มสายชู ประกาศ 15 มีนาคม 2527. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ.

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และปรีชา จึงสมานุกูล. 2538. ซาลโมเนลลา และลิสทีเรียในผักสด. วารสารอาหาร. 25(3): 185-189.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และพิทยา เหล่าสมบัติ. 2553. การศึกษาการปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษและประสิทธิภาพน้ำส้มสายชู 5% (W/V) ในการลดการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาบนผิวมะเขือเทศ. วารสารอาหารและยา. 17(1): 52-60.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และชัยวัฒน์ พูลศรีกาญจน์. 2545. การสำรวจเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในอุจจาระของพนักงานในโรงงานผลิตอาหารแช่แข็ง. การประชุมวิชาการครั้งที่ 4, ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่, 2-3 ธันวาคม พ.ศ. 2545.

Albright S.N., Kendella. P.A., Avensa. J.S, and Sofosb. J.N. 2003. Pretreatment effect on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated beef jerky. Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technology. 36: 381–389.

Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., and Debevere. J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology. 21: 33-42.

Bangtrakulnonth, A., Pornruangwong, S., Warachit, P, and Swetwiwathana, A. 1999. Incidence of new *Salmonella* serovar (*S.* ratchaburi) in Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicia and Public Health. (4): 776-778.

Bell, C., and Kyriakades. A. 2002. *Salmonella* : A Practical Approch to the Organism and Its Control in Foods. Blackwell Science. 32: 330-336.

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

Beuchat, L.R., Nail, B.V., and Adler, B.B. 1998. Efficacy of Spray Application of Chlorinated Water in Killing Pathogenic Bacteria on Raw Apples, Tomatoes and Lettuce. Journal of Food Protection. 61: 1305-1311.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Breidt, J. F., Thayes. J., and Mcfeeters, R.F. 2007. Determination of 5-log reduction times for food pathogens in acidified cucumbers during storage at 10 and 25 °C. Journal of Food Protection. 70(11) : 2638–2641.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2008. Investigation of Outbreak of Infections Caused by *Salmonella* Agona. Available: http://www.cdc.gov/salmonella/agona/ (accessed December 22, 2010).

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2010. Investigation of a multistate outbreak of human *Salmonella* infections linked to alfalfa sprouts. Available: http://www.cdc.gov/ salmonella/i4512i-/index.html. (accessed January 27, 2011)

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

Chen, W., Jin, T.Z., Gurtler, J.B., Geveke, D.J, and Fan, X. 2012. Inactivation of *Salmonella* on whole cantaloupe by application of an antimicrobial coating containing chitosan and allyl isothiocyanate. International Journal of Food Microbiology. 155: 165–170.

D'Aoust, J.Y. 1991. Pathogenicity of foodborne Salmonella. International Journal of Food Microbiology. 12: 17-40.

D'Aoust, J.Y. 1997. *Salmonella* species. Food Microbiology : Fundamental and Frontiers. ASM Press, Washington D.C.

Golden, D.A., Rhodehamel, E. J. and Kautter, D.A. 1993. Growth of *Salmonella* spp. in cantaloupe, watermelon and honeydew melons. Journal of Food Protection. 56(3): 194-196.

Heaton, J.C., and Jones, K. 2008. Microbial contamination of fruit and vegetables and the behavior of enteropathogens in the phyllosphere. Journal of Applied Microbiology. 104: 613-626.

Homthong, S., and Karatpong, N. 2009. Effects of vinegar, citric acid and sodium bicarbonate on reduction of *Salmonella* Typhimurium on peppermint. Burapha Science Journal. 4(1) : 18-25.

Hussain. A.I., Anwar. F., Sherazi. S.T, and Przybylski, R. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry. 108: 986-995.

International Journal Food Microbial. 71(2-3): 197-210.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jarimopas, B., Rachanukroa, D., Singh, S.P. and Sothornvit, R. 2008. Post-harvest damage and performance comparison of sweet tamarind packaging. Journal of Food Engineering. 88: 193-201.

Karapinar, M., and Sengun, I.Y. 2007. Antimicrobial effect of koruk (unripe grape-Vitis vinifera) juice against *Salmonella* Typhimurium on salad vegetables. Food Control. 18: 702-706.

Keeratipibul, S., Phewpan, A, and Lursinsap, C. 2011. Prediction of coliforms and *Escherichia coli* on tomato fruits and lettuce leaves after sanitizing by using Artifitial Neural Networks. LWT – Food Science and Technology. 44: 130-138.

Mani-Lópe, E., García., H.S, and López-Malo, A. 2012. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. Food Research International. 45: 713–721.

Meldurm. J., Parmenter. K., Kozak. D., Trau. M., Geering. A, and Battersby. B. 2009. Epidemiological and biological studies of the exotic plant pathogen Fusarium wilt of banana caused by Fusarium oxysporum f. sp. Cubense. Food Research International. 31: 512–517.

Miller. M.F., Harris, D., Brashears, M.M., Garmyn, A.J, and Brooks, J.C. 2012. Microbiological and organoleptic characteristics of beef trim and ground beef treated with acetic acid, lactic acid, acidified sodium chlorite, or sterile water in a simulated commercial processing environment to reduce *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella*. Meat Science. 42: 171–179.

Neal, J. A., Marquez-Gonzalez, M., Cabrera-Diaz., E., Lisa, M.L, O'Bryan, C.M., Crandall. P.G., Ricke, S.C, and Castillo, A. 2012. Comparison of multiple chemical sanitizers for reducing *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on spinach (*Spinacia oleracea*) leaves. Food Research International. 45: 1013–1022.

Park. C.M., Hung. Y.C., Doyle. M.P., Ezeike, G.O, and Kim, C. Pathogen reduction and quality of lettuce treated with electrolyzed oxidizing and acidified chlorinated water. Journal of Food Science. 66: 1368-1372.

Patel, J., and Sharma, M. 2010. Differences in attachment of *Salmonella* Enterica serovars to cabbage and lettuce leaves. International Journal of Food Microbiology. 139: 41-47.

Paull, D.J. 2007. Identity of the downy mildew pathogens of basil, coleus, and sage with implications for quarantine measures. Mycological Research. 113 (5): 532–540.

Peleg, M. 2002. Microbial survival curves D the reality of at shoulders and absolute thermal death Times. Food Research International. 33: 531-538.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Peleg, M. 2002. Modeling and simulation of microbial surviving during treatments with a dissipating lethal chemical agent. Food Research International. 35: 327-336.

Sakanaka, S., and Ishihara, Y. 2008. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegars in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates. Food Chemistry. 107: 739-744.

Savard, T., Beaulieu, C., Gardner, N, and Champagne, C.P. 2002. Characterization of spoilage yeasts isolated from fermented vegetables and inhibition by lactic, acetic and propionic acids. Journal of Food Microbiology. 19: 363-373.

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

Swetwiwathana, A., Zendo, T., Nakayama, J, and Sonomoto, K. 2009. Identification of Nisin Z producing *Lactococcus lactis* N12 associated with traditional Thai fermented rice noodle (Kanom Jien). Asian Journal of Food and Agro-Industry. 2(02): 116-125.

The Association of Official Analytical of Chemist (AOAC). 2002. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemist 15th ed. Vol II. The Association of Official Analytical of Chemist, Inc. USA.

Tornuk, F., Cankurt, H., Ozturk, I., Sagdic, O., Bayram., O, and Yetim, H. 2011. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium on fresh cut carrots and apples. International Journal of Food Microbiology. 148: 30–35.

Ukuku, D.O., Pilizota, V, and Sapers, G.M. 2004. Effect of hot water and hydrogen peroxide treatments on survival of *Salmonella* and microbial quality of whole and fresh-cut cantaloupe. Journal of Food Protection. 67(3): 432-437.

U.S. Food and Drug Administration (FDA). 2010. Outbreaks Associated with Fresh and Fresh-Cut Produce. Incidence, Growth, and Survival of Pathogens in Fresh and Fresh-Cut Produce. Available: http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/ Safe PracticesforFoodProcesses/ucm091265. htm (accessed February 14, 2011).

U.S. Food and Drug Administration (FDA). 2009. GRAS. Available: http://www.fda.gov/ Food/ GRAS/ucm08756. htm (accessed February 21, 2012).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wu, C., and Lu, Y. 2012. Reductions of *Salmonella* enterica on chicken breast by thymol, acetic acid, sodium dodecyl sulfate or hydrogen peroxide combinations as compared to chlorine wash. International Journal of Food Microbiology. 152: 31–34.

Wu, F.M., Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Wells, J.G., Mintz, E.D. and Swaminathan, B. 2000. Fate of *Shigella sonnei* on parsley and methods of disinfection. Journal of Food Protection. 63: 568-572.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรและการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรและการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก-1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Deoxycholate hydrogen sulfide lactose (DHL) agar (Merck, Germany)

Peptone from casein	10.0	กรัม
Peptone from meat	10.0	กรัม
Meat extract	3.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Sucrose	10.0	กรัม
L-cysteinium chloride	0.2	กรัม
Sodium citrate	1.0	กรัม
Sodium deoxycholate	1.5	กรัม
Sodium thiosulfate	2.0	กรัม
Ammonium iron (III) citrate	1.0	กรัม
Neutral red	0.03	มิลลิลิตร
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 63.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน อาหารเลี้ยงเชื้ออาจตกตะกอน ไม่มีผลต่อการทำงาน ห้ามนำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Lysine indole motility (LIM) medium (Difco, U.S.A.)

Peptone	10.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
L-Lysine hydrochloride	10.0	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม
Agar	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 16.52 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้ส่วนผสมเข้ากันดี แบ่งใส่หลอดขนาด 13x100 มิลลิเมตร หลอดละ 4 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก-3 สารละลาย Peptone 0.1% (Merck, Germany)

Peptone from meat	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายสาร 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ส่วนผสมเข้ากันดี แบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละ 9 มิลลิลิตร หรือขวดสารละลายเจือจาง 225 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก-4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) (Merck, Germany)

Casein enzymic hydrolysate (tryptone)	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 24.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-5 อาหารเลี้ยงเชื้อ Triple sugar iron (TSI) agar (Merck, Germany)

Beef extract	3.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Peptone	15.0	กรัม
Proteose peptone	5.0	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Sucrose	10.0	กรัม
Ferrous sulfate	0.2	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Sodium thiosulfate	0.3	กรัม
Phenol red	12.0	มิลลิลิตร
Agar	12.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 76.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้ส่วนผสมเข้ากันดี แบ่งใส่หลอดขนาด 13x100 มิลลิเมตร หลอดละ 3.5 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก-6 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) (Merck, Germany)

Casein peptone	1.5	กรัม
Soymeal peptone	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 40 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก-7 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB) (Merck, Germany)

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

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 30 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก-8 อาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) Agar (Merck, Germany)

Yeast extract	3.0	กรัม
L-Lysine	5.0	กรัม
Xylose	3.65	กรัม
Lactose	7.5	กรัม
Sucrose	7.5	กรัม
Sodium desoxycholate	2.5	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.8	กรัม
Sodium thiosulfate	6.8	กรัม
Sodium Chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Phenol red	0.08	กรัม
น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 55 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน อาหารเลี้ยงเชื้ออาจตกตะกอน ไม่มีผลต่อการทำงาน ห้ามนำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี
และการเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การตรวจวิเคราะห์ทางเคมีและการเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น

ข-1 การตรวจวัดปริมาณกรดแอซีติกด้วยวิธีการไตเตรท ตามวิธีการ Tritration method ของ AOAC (2002)

การเตรียมสารเคมี

1. น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ (น้ำกลั่นต้มเดือด 20 นาที พักให้เย็น)
2. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มัล

เตรียมได้จากละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม เติมน้ำในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดแก้วสีชา

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล

อบ Acid potassium phthalate ($KHC_8H_4O_4$) 2 ชั่วโมง ที่ 120 องศาเซลเซียส แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นชั่งสาร 0.3 กรัม ใส่ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์จนครบ 100 มิลลิลิตร เมื่อสารละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน จึงเติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 เปอร์เซ็นต์ (ชั่งสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร) จำนวน 3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล ความเข้มข้นมาตรฐาน และคำนวณหาความเข้มข้นมาตรฐานได้จากสูตร

$$N = \frac{\text{ปริมาณ } KHC_8H_4O_4 \text{ (กรัม) x1000}}{\text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร) x 204.229}}$$

ตรวจวัดปริมาณกรดแอซีติกในสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่น โดยการนำตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 % จำนวน 2 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งถึงจุดยุติ โดยสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนๆ คำนวณหาปริมาณกรดแอซีติกได้จากสูตร

$$\%\text{Acidity} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH x ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไตเตรท (มิลลิลิตร) x มวลโมเลกุลของกรด(60.05) x 100}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร) x 1000}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-2 การเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกระดับต่างๆ ในหลอดทดลอง

คำนวณหาปริมาตรน้ำส้มสายชูกลั่นที่ต้องการ จากน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกเริ่มต้น 5 % (ตราภูเขาทอง, ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร) สามารถเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นได้ตามตัวอย่างการคำนวณ ดังนี้

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ C_1 คือ ความเข้มข้นสารตั้งต้น (เปอร์เซ็นต์)

C_2 คือ ความเข้มข้นสารสุดท้าย (เปอร์เซ็นต์)

V_1 คือ ปริมาตรสารตั้งต้น (มิลลิลิตร)

V_2 คือ ปริมาตรสุดท้าย (มิลลิลิตร)

ความเข้มข้นของสารที่ต้องการ 0.25 % จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$(5\%)(V_1) = (0.25\%)(10 \text{ มิลลิลิตร})$

$V_1 = 0.5$ มิลลิลิตร

ดังนั้น สำหรับความเข้มข้นของสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นที่ต้องการ 0.25 % เตรียมได้จากน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกเริ่มต้น 5 % จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปลอดเชื้อ ตามตารางที่ ข-1 และ ข-2 เพื่อปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร

ข-3 การเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกระดับต่างๆ สำหรับล้างโหระพาที่ปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา

คำนวณหาปริมาตรน้ำส้มสายชูกลั่นที่ต้องการ จากน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกเริ่มต้น 5 % (ตราภูเขาทอง, ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร) สามารถเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นได้ตามตัวอย่างการคำนวณจากข้อ ข-1 และปรับความเข้มข้นของกรดในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ตามตารางที่ ข-3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-1 รายละเอียดส่วนผสมที่ใช้เตรียม TSB ที่มีน้ำส้มสายชูกลั่นที่ความเข้มข้นของกรดแอซีติก 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 2.00% ในหลอดทดลอง

ความเข้มข้น (%)	สารละลายเชื้อซัลโมเนลลา (มิลลิลิตร)	น้ำส้มสายชูกลั่น (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่นปลอดเชื้อ (มิลลิลิตร)	อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (มิลลิลิตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)
0 (ชุดควบคุม)	1.0	-	9.0	-	10.0
0.25	1.0	0.5	-	8.5	10.0
0.50	1.0	1.0	-	8.0	10.0
0.75	1.0	1.5	-	7.5	10.0
1.00	1.0	2.0	-	7.0	10.0
2.00	1.0	4.0	-	5.0	10.0

ตาราง ข-2 รายละเอียดส่วนผสมที่ใช้เตรียม TSB ที่มีน้ำส้มสายชูกลั่นที่ความเข้มข้นของกรดแอซีติกระดับต่างๆ ในหลอดทดลอง

ความเข้มข้น (%)	สารละลายเชื้อซัลโมเนลลา (มิลลิลิตร)	น้ำส้มสายชูกลั่น (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่นปลอดเชื้อ (มิลลิลิตร)	อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (มิลลิลิตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)
0 (ชุดควบคุม)	1.0	-	9.0	-	10.0
0.1	1.0	0.2	-	8.8	10.0
0.2	1.0	0.4	-	8.6	10.0
0.3	1.0	0.6	-	8.4	10.0
0.4	1.0	0.8	-	8.2	10.0
0.5	1.0	1.0	-	8.0	10.0
0.6	1.0	1.2	-	7.8	10.0
0.7	1.0	1.4	-	7.6	10.0
0.8	1.0	1.6	-	7.4	10.0
0.9	1.0	1.8	-	7.2	10.0
1.0	1.0	2.0	-	7.0	10.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-2 รายละเอียดส่วนผสมที่ใช้เตรียม TSB ที่มีน้ำส้มสายชูกลั่นที่ความเข้มข้นของกรดแอซีติกระดับต่างๆในหลอดทดลอง (ต่อ)

ความเข้มข้น (%)	สารละลายเชื้อซัลโมเนลลา (มิลลิลิตร)	น้ำส้มสายชูกลั่น (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่นปลอดเชื้อ (มิลลิลิตร)	อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (มิลลิลิตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)
1.1	1.0	2.2	-	6.8	10.0
1.3	1.0	2.6	-	6.4	10.0
1.4	1.0	2.8	-	6.2	10.0
1.5	1.0	3.0	-	6.0	10.0
1.6	1.0	3.2	-	5.8	10.0
1.7	1.0	3.4	-	5.6	10.0
1.8	1.0	3.6	-	5.4	10.0
1.9	1.0	3.8	-	5.2	10.0
2.0	1.0	4.0	-	5.0	10.0

ตาราง ข-3 รายละเอียดส่วนผสมที่ใช้เตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นที่มีความเข้มข้นของกรดแอซีติกระดับต่างๆ สำหรับล้างโหระพาที่ปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา

ความเข้มข้น (%)	น้ำส้มสายชูกลั่น (มิลลิลิตร)	เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อในขวดปรับปริมาตร (มิลลิลิตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)
0 (ชุดควบคุม)	-	1000	1000
0.4	80	920	1000
1.5	300	700	1000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การตรวจวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

ค-1 วิธีการตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาที่อาจปนเปื้อนจากธรรมชาติในโหระพา

นำโหระพาและน้ำล้างโหระพา มาตรวจสอบวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลา (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ, 2545) ที่อาจปนเปื้อนจากธรรมชาติ (normal flora) เพื่อทำให้ตัวอย่างโหระพาปลอดเชื้อก่อนนำไปทำการทดลอง ตามแผนผังแสดงวิธีการ ดังนี้

นำตัวอย่างโหระพา 25 กรัม บรรจุลงในถุงปลอดเชื้อ เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ปริมาณ 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้ส่วนผสมเข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

ปีเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองปลอดเชื้อและเติม Salmosyst tablet จำนวน 1 เม็ด เขย่าส่วนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย บ่มที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

เขี่ยเชื้อจากหลอดตัวอย่างเชื้อ จำนวน 1 ลูป ขีด (streak) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD และ DHL บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

เขี่ยโคโลนีที่มีลักษณะกลม ขอบเรียบ ใส มีหรือไม่มีจุดสีดำตรงกลางของการเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสงสัยว่าเป็นเชื้อซัลโมเนลลาจากอาหารแข็ง XLD และ DHL อย่างละ 5 โคโลนี

↓

แทง (stab) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อและขีด (streak) ลงบนผิวหน้าอาหาร ลงในหลอดอาหารเอียง TSI

แทง (stab) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM

↘ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ↙

↓

หยดสารสารละลายโคแวค (KOVAC's indole reagent) ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM และตรวจสอบผลเชื้อซัลโมเนลลา ตามตาราง ค-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-1 ตารางเทียบผลการตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลา

TSI				LIM		
slant	butt	H_2S	gas	lysine	indole	motile
K	A	+/-	+/-	+	-	+/-

ตรวจสอบจากอาหารเลี้ยงเชื้อ TSI

K = alkaline ปลายหลอด (slant) ของ TSI จะมีสีแดงหรือสีชมพูบานเย็น

A = acid ก้นหลอด (butt) ของ TSI จะมีสีเหลือง

H_2S + = ในหลอด TSI จะเกิดตะกอนสีดำของก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งเชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่จะต้องให้ผล +

H_2S - = ไม่เกิดตะกอนสีดำในหลอด TSI เนื่องจากไม่เกิดการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์

gas + = มีฟองอากาศดันวุ้นของ TSI เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่สามารถหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วได้กรดและก๊าซเพียงเล็กน้อย

gas - = ไม่พบฟองอากาศในหลอด TSI (มีบางเซโรวาร์ให้ผล -)

ตรวจสอบจากอาหารเลี้ยงเชื้อ LIM

lysine + = หลอดอาหารจะมีสีม่วงทั้งหลอด เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลามีเอนไซม์ lysine decarboxylase ไปย่อย lysine ส่งผลให้อาหารเลี้ยงเชื้อ lysine มีความเป็นด่างมากขึ้น มีผลทำให้ bromcresol purple ซึ่งใช้เป็นอินดิเคเตอร์ ในอาหารดังกล่าวและมีสีม่วง ซึ่งมี pH เป็นกลาง เปลี่ยนเป็นมีสีม่วงมากขึ้น ซึ่งเชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่จะมีเอนไซม์ตัวนี้

lysine - = หลอดอาหารจะมีสีเหลือง เนื่องจากเชื้อที่ทำการทดสอบไม่มีเอนไซม์ lysine decarboxylase แต่มีเอนไซม์ lysine deaminase ซึ่งจะไปย่อย lysine ทำให้ pH ของอาหารต่ำลง มีผลทำให้ bromcresol purple เปลี่ยนเป็นสีเหลือง

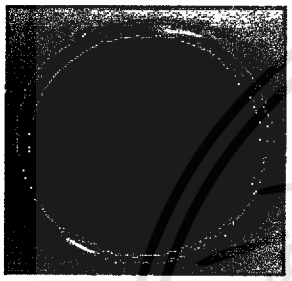
indole + = จะมีสีแดงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากหยดน้ำยาโคแวค

indole - = ไม่เกิดสีแดงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังหยดน้ำยาโคแวค ซึ่งเชื้อซัลโมเนลลาจะไม่มีเอนไซม์ tryptophanase จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับน้ำยาโคแวค

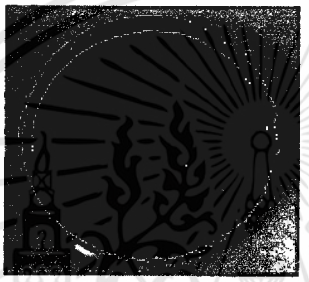
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

motile + = หลอดอาหาร LIM จะขุ่นทั้งหลอด เนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลาส่วนใหญ่จะมีแฟรกเจลลา ใช้ในการเคลื่อนที่ ดังนั้นเมื่อทำการ stab เชื้อลงในอาหาร LIM แล้วบ่มเพาะเชื้อ โดยเชื้อซัลโมเนลลาที่เจริญจะเคลื่อนที่ออกจากรอย stab ไปทุกทิศทุกทาง

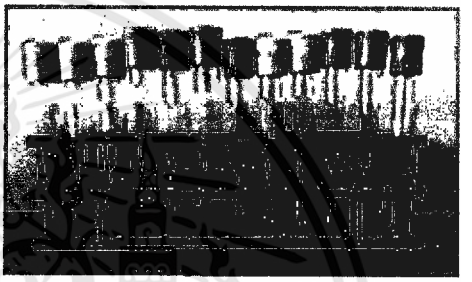
motile - = หลอดอาหาร LIM จะมีรอยเชื้อเจริญเฉพาะบริเวณรอย stab เท่านั้น ส่วนอาหารรอบรอย stab จะใส เพราะเชื้อไม่มีแฟรกเจลลาในการเคลื่อนที่



อาหารเลี้ยงเชื้อ DHL



อาหารเลี้ยงเชื้อ XLD



อาหารเลี้ยงเชื้อ TSI และ LIM (ไม่พบเชื้อซัลโมเนลลา)

ภาพที่ ค-1 การตรวจวิเคราะห์เชื้อซัลโมเนลลาด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ DHL, XLD, TSI และ LIM

ค-2 วิธีการตรวจยืนยันเชื้อซัลโมเนลลา ด้วยวิธี spot assay (Swetwiwathana และคณะ, 2009)

เขี่ยโคโลนีเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (ปราศจากเชื้อ)

↓

กดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจำเพาะ XLD

↓

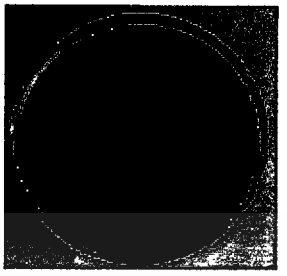
บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

ตรวจสอบลักษณะเฉพาะของโคโลนีเชื้อซัลโมเนลลาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD มีลักษณะใสและมีจุดสีดำตรงกลาง (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และพิทยา เหล่าสมบัติ, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อ
TSA



spot assay ลงบน
อาหารเลี้ยงเชื้อ XLD

ภาพที่ ค-2 ผลการตรวจยืนยันเชื้อซัลโมเนลลาด้วยวิธีการ spot assay

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

ง-1 การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโหระพา

ตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพของโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายน้ำส้มสายชูกลั่นในด้านต่างๆ คือ สี (ใบ) ความสด (ใบ) ลักษณะปรากฏ (คุณภาพโดยรวม) ความชอบโดยรวม (ดัดแปลงจากวิธีการของจุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล และผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์, 2553) ใช้การสังเกตด้วยสายตาโดยใช้ผู้ทดสอบ (panel) ทั่วไปที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 โดยกำหนดคะแนนคุณภาพ 5 ระดับ (5-point hedonic scale) เปรียบเทียบกับโหระพาที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อซึ่งเป็นชุดควบคุม โดยคะแนนระดับ 1 ไม่ชอบมากที่สุด ไปจนถึงคะแนนระดับ 5 ชอบมากที่สุด

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์ .....โหระพา.....

ชื่อผู้ทดสอบ..... **วันที่**.....

เพศ .....หญิง .....ชาย

อายุ .....ปี

คำแนะนำ : กรุณาให้คะแนนโหระพาตามความชอบตามรหัสตัวอย่าง ในแต่ละปัจจัยคุณภาพ ดังนี้

5 = ชอบมากที่สุด

4 = ชอบมาก

3 = เฉยๆ

2 = ไม่ชอบ

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รหัสตัวอย่าง / ปัจจัยคุณภาพ						
สี (ใบ)						
ความสด (ใบ)						
ลักษณะปรากฏ (คุณภาพโดยรวม)						
ความชอบโดยรวม						

ข้อแนะนำ.....

.....

.....

ขอบคุณที่ให้ความร่วมมือในการตอบแบบสอบถามค่ะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวแก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง
วัน เดือน ปีเกิด	29 สิงหาคม 2523
ที่อยู่	2 ซอยจรัญสนิทวงศ์ 50 ถ.จรัญสนิทวงศ์ แขวงบางยี่ขัน เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700
ประวัติการศึกษา	2545 วท.บ. (อุตสาหกรรมเกษตร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2550 - ปัจจุบัน ศึกษาต่อในสาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงาน	
พ.ศ. 2545 – 2548	บริษัท ยูไนเต็ด ฟู้ดส์ จำกัด (มหาชน) ตำแหน่งเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพการผลิตผลิตภัณฑ์กัมมี่-เจลลี่ และห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา
พ.ศ. 2548 – 2553	บริษัท เพิร์ล โลจิสติกส์ จำกัด ตำแหน่ง Business Development Operating Staff
พ.ศ. 2554 – ปัจจุบัน	บริษัท ออมโนวา เคคคอร์เรทีฟ โปรดักส์ (ประเทศไทย) จำกัด ตำแหน่ง Senior Logistics Staff
ผลงานวิจัย	แก้วกาญจน์ จันทนยิ่งยง อพัชชา จินดาประเสริฐ วราวุฒิ ครูส่ง อดิศร เสวตวิวัฒน์ และกิตติชัย บรรจง. 2554. ผลของน้ำส้มสายชูกลั่นต่อการลดลงของ *Salmonella* Bangkok, *S.* Ratchaburi และ *S.* Lamphun ในหลอดทดลอง. งานประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 9 ในระหว่างวันที่ 30 มิถุนายน – 1 กรกฎาคม 2554 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต, ปทุมธานี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้