

ผลของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้ง  
*Staphylococcus aureus* ที่พบในขนมลูกชุบ

EFFECTS OF MANGO PEEL EXTRACT ON INHIBITION OF  
*Staphylococcus aureus* IN LUUGHUP



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2552

KMITL-2009-AI-M-054-49

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้ง  
*Staphylococcus aureus* ที่พบในขนมลูกชุบ

EFFECTS OF MANGO PEEL EXTRACT ON INHIBITION OF  
*Staphylococcus aureus* IN LUUGCHUP



เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน.....105049  
วันเดือนปี.....12 พ.ศ. 2552

b.....12165027  
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขภาพอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2552

KMITL-2009-AI-M-054-43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**EFFECTS OF MANGO PEEL EXTRACT ON INHIBITION OF**

*Staphylococcus aureus* IN LUUGCHUP



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT**

**OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF**

**MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION**

**FACULTY OF AGRO - INDUSTRY**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**2009**

**KMITL-2009-AI-M-054-43**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2009**

**FACULTY OF AGRO - INDUSTRY**


**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ในขนมลูกชุบ  
Effect of Mango Peel Extract on Inhibition of *Staphylococcus aureus* in Luugchup

ชื่อนักศึกษา นางสาวหนึ่งฤทัย ศรีทองทิม  
รหัสประจำตัว 48068775  
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชา สาขาวิชาอาหาร  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม	
ดร.ระจิตร สุพานิช	
รศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 15 พฤษภาคม 2552 เวลา 10.00 น. เป็นต้นไป  
สถานที่สอบ ณ ห้องสัมมนา D 213 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว

(รศ.ดร.ระติพร หนร้อนกิจ)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 21 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้ง <i>Staphylococcus aureus</i> ที่พบในขนมลูกชุบ
นักศึกษา	นางสาวหนึ่งฤทัย ศรีทองทิม
รหัสประจำตัว	48068775
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2552
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์

### บทคัดย่อ

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างขนมลูกชุบที่วางจำหน่ายในห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล จำนวน 10 ร้าน เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* และดูการเจริญของเชื้อดังกล่าวในระหว่างรอจำหน่าย โดยเก็บที่อุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิตู้เย็น 5-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 ชั่วโมง พบว่า ทุกตัวอย่างพบเชื้อ *Staph. aureus* และเป็น *Staph. aureus* ที่ให้ผลเอนไซม์โคเอกกูเลส positive ถึง 5 ตัวอย่าง โดยอุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* โดยจะพบว่าที่เวลาเริ่มต้นจะมีเชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ 2.07 ถึง 3.46 log CFU/g ที่อุณหภูมิห้อง การเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* จะน้อยในช่วงการเก็บในระยะแรกๆ แต่เมื่อผ่านไปครบ 40 ชั่วโมง เชื้อจะมีการเจริญมากถึง 7.41 log CFU/g ในขณะที่การเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นการเจริญของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย โดยที่ปริมาณของเชื้อ *Staph. aureus* เท่ากับ 4.65 log CFU/g หลังจากเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 40 ชั่วโมง ในการศึกษาเบื้องต้นโดยนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมาใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ที่ตรวจพบ โดยใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 12.5, 25, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบด้วยวิธี disc sensitive test พบว่าที่ทุกระดับความเข้มข้นมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเอนไซม์โคเอกกูเลส positive *Staph. aureus* ได้ โดยขนาดของวงใสรอบแผ่นกระดาษซับกลมเรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปหามากคือ 1.5, 1.6, 1.7, 2.0, 2.2 และ 2.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มาผสมในตัวอย่างขนมลูกชุบที่เดิมเชื้อ *Staph. aureus* ในระดับ  $10^2$  และ  $10^4$  CFU/g เทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติม *Staph. aureus* และเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Staph. aureus* ที่เดิมในขนมลูกชุบทั้ง 2 ระดับลงในระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของ

ขนมลูกชุบที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบด้านลักษณะ  
ปรากฏ และด้านสี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยผู้ทดสอบ  
ชอบขนมลูกชุบที่ไม่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมากกว่าขนมลูกชุบที่เติมสารสกัดจาก  
เปลือกมะม่วงแก้ว เนื่องจากเมื่อเติมสารสกัดลงในเนื้อขนมลูกชุบจะทำให้เนื้อขนมมีสีที่คล้ำขึ้น  
ส่วนคะแนนความชอบด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบรวมนั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่  
ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงให้เห็นว่าการเติมสารสกัดในปริมาณดังกล่าวยังไม่ส่งผล  
ทางด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบรวมต่อเนื้อขนมลูกชุบ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Thesis** Effects of Mango Peel Extract on Inhibition of *Staphylococcus aureus* in Luugchup

**Student** Miss Nungruthai Srithongtim

**Student ID.** 48068775

**Degree** Master of Science

**Program** Food Sanitation

**Year** 2009

**Thesis Advisor** Assoc.Prof.Dr. Adisorn Swetwivathana.

### ABSTRACT

Ten samples of Luugchup sold in ten retailers' shop in Bangkok and some provinces around Bangkok were determined for *Staphylococcus aureus* contamination and the growth of this microorganism during keeping at room temperature (30° C) and in refrigerator (5-10° C) for 40 h. The results revealed that *Staph. aureus* could be detected from all samples and 5 samples were belonged to coagulase positive *Staph. aureus*. An average initial load of *Staph. aureus* contaminated in this product was 2.07-3.46 log CFU/g. Keeping the product at room temperature for 20 h exhibited the rapid growth of *Staph. aureus* upto 7.41 log CFU/g, while keeping the product in refrigerator at the same period showed a small number in the growth of *Staph. aureus* (4.65 log CFU/g). The preliminary study for the effect of using mango peel extract (MPE) at different concentrations (12.5, 25, 50, 100, 150 and 200 mg/ml) on some selected of contaminated coagulase positive *Staph. aureus* from Luugchup revealed that the higher concentration of MPE exerted higher inhibitory effect on coagulase positive *Staph. aureus* than the lower concentrations of MPE. Hence, these data generated the use of low temperature and MPE as food preservative for prolonging the keeping quality and safety of Luugchup. The application of 12.5 mg/g of MPE in Luugchup production revealed to exert inhibitory effect on both contaminated levels of coagulase positive *Staph. aureus* ( $10^2$  and  $10^4$  cfu/g) in the products. It was found that, during keeping the product at room temperature, use of 12.5 mg/g of MPE in the production of Luugchup could eradicate the contaminated coagulase positive *Staph. aureus* at  $10^2$  and  $10^4$  cfu/g within 12 and 24 h, respectively. When samples of Luugchup with and without 12.5 mg/g of MPE were produced and organoleptically tested by 30 panelists, it was revealed that only appearance and colour of Luugchup with MPE showed statistically significant difference (95%) less

preferable than Luugchup without MPE. But there were no statistically significant difference in odour, taste and acceptance between both samples of Luugchup with and without MPE.



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร. อติสร เสวตวิวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม ดร. อพิชชา จินดาประเสริฐ และดร.ระจิตร สุวพาณิชย์ ผู้ซึ่งให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนขอกราบขอพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ให้เกียรติมาเป็นกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้ความรู้ คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ ผู้เขียนขอกราบขอพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ภายใต้โครงการสร้างกำลังคนเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมระดับปริญญาโท (สกว.- สสว.) ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ คุณชงยุทธ เนียมกสิพงษ์ ผู้ประกอบการที่ให้ข้อมูลในการทำขนมลูกชุบในการวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยทดลอง

ขอขอบ คุณ น้องนักศึกษาสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดี

ขอกราบขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ภักษณะ ขยันและเพียรๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้มาตลอด

ท้ายสุดนี้ ผู้เขียนหวังว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้คงเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจ

หนึ่งฤทัย ศรีทองทิม

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ขนมลูกหุบ.....	4
2.2 สมบัติของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> และการก่อโรค.....	6
2.3 มะม่วง (Mango).....	13
2.4 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds).....	18
2.5 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์.....	21
2.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์.....	22
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะม่วง.....	26
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง.....	28
3.1 วัสดุอุปกรณ์.....	28
3.2 วิธีดำเนินการทดลอง.....	30
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	33
4.1 ผลการตรวจเชื้อ <i>Staph. aureus</i> เริ่มต้นของตัวอย่างขนมลูกหุบ.....	33

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents) ในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว.....	37
4.3 ศึกษาปริมาณสารสกัดที่ได้จากเปลือกมะม่วงแก้วต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ <i>Staph. aureus</i> ที่แยกได้จากตัวอย่างขนมลูกชุบในข้อ 4.1.....	37
4.4 ผลของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของขนมลูกชุบที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว .....	42
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	44
5.1 สรุปผลการทดลอง .....	44
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	45
บรรณานุกรม.....	46
ภาคผนวก	
ก. ส่วนผสม และวิธีการผลิตลูกชุบ.....	52
ข. การตรวจหาเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ในขนมลูกชุบ .....	54
ค. วิธีการสกัดสาร โพลีฟีนอลจากเปลือกมะม่วงแก้ว.....	57
ง. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic contents).....	59
จ. แบบประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส.....	61
ประวัติผู้เขียน.....	67

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ระหว่างปี ค.ศ. 1973 – 1987 ในสหรัฐฯ .....	10
2.2 แหล่งอาหารที่เป็นสื่อทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษระหว่างปี ค.ศ. 1973 – 1987 ในสหรัฐฯ.....	10
2.3 สรุปปัจจัยที่เกิดสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษขึ้นระหว่างปี ค.ศ. 1973 – 1987 ในสหรัฐฯ.....	11
2.4 คุณค่าทางโภชนาการของมะม่วง.....	14
2.5 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมะม่วงสุก.....	17
2.6 ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่พบในเปลือกมะม่วงสุก พันธุ์ทอมมี่แอตกินส์ (Tommy Atkins) .....	17
2.7 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลที่พบในพืช.....	19
4.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์โคเอลกูเลสของ <i>Staph. aureus</i> ที่แยกได้จากตัวอย่างลูกชุป จากร้านค้าต่างๆ .....	37
4.2 ปริมาณสารประกอบฟอสฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว ในระยะเวลาช่วงต่างๆ .....	38
4.3 ขนาดของวงใสรอบกระดาษซึบกลมที่เกิดขึ้นในการทดสอบสมบัติการด้านการเจริญ ของ <i>Staph. aureus</i> โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วภายหลังการบ่ม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	39
4.4 การเจริญของเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ในตัวอย่างขนมลูกชุปที่อุณหภูมิห้องซึ่งเก็บรักษา ที่ระยะเวลาที่แตกต่างกัน.....	40
4.5 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบการยอมรับของขนมลูกชุปที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว.....	42
จ1 สเกลฮีโดรอนิกที่ใช้ในการทดสอบการยอมรับของวิธีทดสอบฮีโดรอนิก.....	62
จ2 The distribution of t – value .....	66

# สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ขนนมลูกชุป.....	4
2.2 เชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i> .....	6
2.3 โครงสร้างทางเคมีของสาร โพลีฟีนอลและสารประกอบอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในเปลือกลำต้น ของมะม่วง.....	16
2.4 โครงสร้างทางเคมีของกรดฟีนอลิก (phenolic acids) .....	20
2.5 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ .....	20
2.6 วิธีทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และความเข้มข้น ต่ำสุดในการทำลายเชื้อ (MBC).....	24
4.1 ปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ของขนนมลูกชุปจากท้องตลาดในเขตทางด้านเหนือของ กรุงเทพฯ ที่เวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน.....	34
4.2 ปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ของขนนมลูกชุปจากท้องตลาดในเขตทางด้านตะวันออกของ กรุงเทพฯ ที่เวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน.....	35
4.3 ปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ของขนนมลูกชุปจากท้องตลาดในเขตศูนย์กลางของกรุงเทพฯ ที่เวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน.....	35
4.4 ลักษณะวงใสรอบกระดาษซับกลมที่เกิดขึ้นเนื่องจากฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อ <i>Staph. aureus</i> โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว.....	39
4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> ในขนนมลูกชุปที่ผสมเชื้อและสารสกัด กับระยะเวลาในการเก็บที่อุณหภูมิห้อง.....	41
4.6 เนื้อขนนมลูกชุป (ก) เนื้อขนนมลูกชุปที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว (ข) เนื้อขนนมลูกชุปที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว.....	43
ก1 กระบวนการผลิตขนนมลูกชุป.....	52
ก2 ขั้นตอนการเตรียมวุ้น.....	53
ข1 แสดงลักษณะ creamy zone รอบ โค โคลีนินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BP agar ที่สงสัยว่าเป็น <i>Staph. aureus</i> .....	55
ข2 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์ของ <i>Staph. aureus</i> (ก) ลักษณะ negative ของการสร้าง เอนไซม์โคเอกกูเลสของเชื้อ <i>Staph. aureus</i> (ข) ลักษณะ positive ของการสร้างเอนไซม์ โคเอกกูเลสของเชื้อ <i>Staph. aureus</i> .....	56
ค1 ขั้นตอนการสกัดสาร โพลีฟีนอลจากเปลือกมะม่วงแก้ว.....	58

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

ง1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด....60



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และสงวนอ้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มา

ลูกชุบเป็นขนมไทยที่มีผู้นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากความหลากหลายสีสันที่สดใสน่าซื้อ โดยเฉพาะการปั้นเป็นรูปผลไม้ต่างๆ เช่น ส้ม ฝรั่ง เบอร์รี่ ลูกท้อ มะม่วง ฯลฯ มักจะเป็นขนมที่มีไว้สำหรับรับแขกบ้านแขกเมือง หรือคนสำคัญ เพราะเป็นขนมที่มีหน้าตาสวยงาม ภูมิใจให้รู้สึกอยากรับประทาน ซึ่งในปัจจุบันเป็นที่นิยมบริโภคจากนักท่องเที่ยวเป็นอันดับหนึ่งของสินค้าประเภทขนมสด จากการศึกษาพฤติกรรมของผู้บริโภคในร้านค้าสวัสดิ์ณ อาคารขาออกผู้โดยสารต่างประเทศ ท่าอากาศยานกรุงเทพฯ ระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2547 พบว่าขนมลูกชุบมียอดขายเฉลี่ยต่อเดือนประมาณ 150,000 – 250,000 บาท คิดเป็นร้อยละ 40 ของการจำหน่ายสินค้าในกลุ่มขนมสด (กัญญาถักยงษ์ และคณะ, 2548) อย่างไรก็ตามขนมลูกชุบยังมีข้อจำกัดในการจำหน่าย คือ มีอายุการเก็บรักษาเพียง 1-2 วัน เนื่องจากขนมลูกชุบมีสภาวะที่เหมาะสมในด้านการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เป็นกลาง ค่า  $a_w$  (water activity) ระหว่าง 0.97 – 0.99 กระบวนการผลิตจะต้องใช้มีดปั้นเป็นรูปต่างๆ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าขนมลูกชุบมีลักษณะที่เอื้อต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเมื่อผู้บริโภครับประทานเอาทอกซินที่เชื้อ *Staph. aureus* ผลิตขึ้นจะทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการของโรคอาหารเป็นพิษ (food intoxication) ซึ่งอาการที่พบ ได้แก่ อาเจียน ท้องร่วง ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย เป็นต้น (Varnam and Evans, 1991) ดังนั้นการที่จะผลิตขนมลูกชุบเก็บไว้จำหน่ายจึงเป็นปัญหาสำคัญของผู้ประกอบการ การที่จะพัฒนาขนมลูกชุบให้ปราศจากวัตถุดิบเสียจำเป็นต้องใช้กระบวนการถนอมอาหารอื่นๆ นอกจากการผ่านความร้อนเป็นหลัก แต่ก็ไม่เพียงพอในการยับยั้งการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ ในอดีตมีการใช้สารเคมีสังเคราะห์หลายชนิดในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งในปัจจุบันพบว่าผู้บริโภคในหลายประเทศทั้งในทวีปยุโรปและอเมริกา รวมถึงเอเชีย เริ่มมีการต่อต้านการบริโภคอาหารที่มีสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้เพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังนั้นปัจจุบันจึงให้ความสำคัญในการใช้สารชีวภาพซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ ได้แก่ สารสกัดจากสมุนไพรชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาสารสกัดจากพืชผักและผลไม้บางชนิด เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ โดยองค์ประกอบที่สำคัญชนิดหนึ่งของพืชที่มีผลยับยั้งแบคทีเรีย ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก นกขลัช (2549) ได้ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีโอกาสปนเปื้อนในโยเกิร์ต พบว่าเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงดิบ 4 พันธุ์ คือ มะม่วงแก้ว มะม่วงน้ำดอกไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มะม่วงเขียวเสวย และมะม่วงฟ้าลั่น มาศึกษาสมบัติการด้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ (*E. coli*, *S. anatum*, *Staph. aureus*, *L. innocua*) และแบคทีเรียแลคติก 2 สายพันธุ์ (*Lb. plantarum*, *P. pentosaceus*) ด้วยวิธีการให้สารที่ทดสอบแพร่ในอาหารวุ้น (agar disc diffusion method) พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะม่วงทั้ง 4 พันธุ์ ให้ผลการยับยั้ง *Staph. aureus* เพียงสายพันธุ์เดียว โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วให้ผลการยับยั้งดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์อื่นๆ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่มีผลต่อเชื้อ *Staph. aureus* ในขนมลูกชุบ

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ของขนมลูกชุบที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด จำนวน 10 ร้านค้า ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล โดยเปรียบเทียบอุณหภูมิการจำหน่ายระหว่างอุณหภูมิห้องกับอุณหภูมิตู้เย็น

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสกัดที่ได้จากเปลือกมะม่วงแก้ว ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus* ในขนมลูกชุบ

1.2.3 เพื่อศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมลูกชุบที่มีการเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น และอัตราการเจริญของเชื้อในขนมลูกชุบในท้องตลาด จำนวน 10 ร้านค้า ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล โดยแบ่งเขตออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. เขตทางด้านเหนือของกรุงเทพฯ คือ

ร้านที่ 1 ตลาดทำนน้ำปากเกร็ด นนทบุรี

ร้านที่ 2 ศูนย์การค้าฟิวเจอร์พาร์ค รังสิต ปทุมธานี

ร้านที่ 3 ตลาดสะพานใหม่ กรุงเทพฯ

ร้านที่ 4 ตลาดหลักสี่ กรุงเทพฯ

ร้านที่ 5 ตลาดดอนเมือง กรุงเทพฯ

2. เขตทางด้านตะวันออกของกรุงเทพฯ คือ

ร้านที่ 6 ศูนย์การค้าซีคอนสแควร์ ถ.ศรีนครินทร์ กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้านที่ 7 สนามบินสุวรรณภูมิ เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ

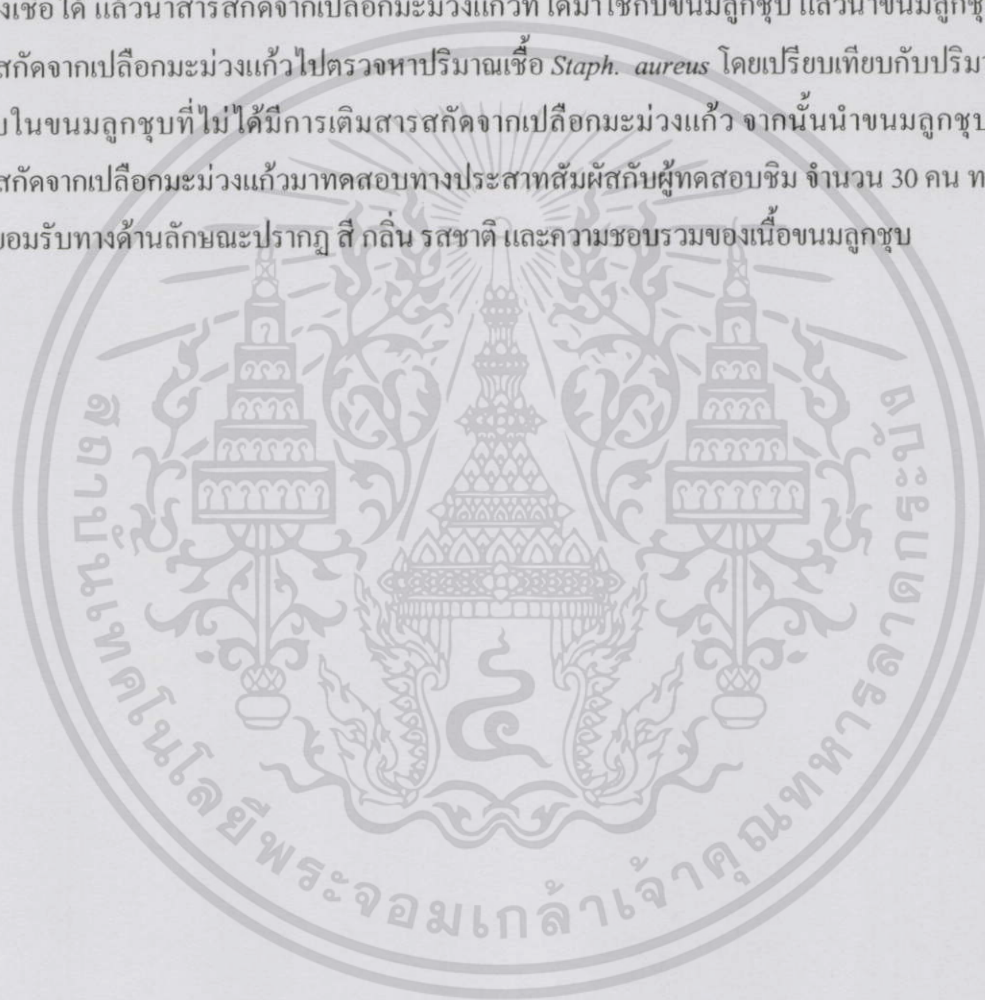
ร้านที่ 8 ศูนย์การค้าเดอะมอลล์บางกะปิ กรุงเทพฯ

### 3. เขตศูนย์กลางของกรุงเทพฯ

ร้านที่ 9 ร้านสุพัตรา ศูนย์การค้าสยามพารากอน กรุงเทพฯ

ร้านที่ 10 ร้าน S & P ศูนย์การค้าสยามพารากอน กรุงเทพฯ

จากนั้นศึกษาวิธีการสกัดสารจากเปลือกมะม่วงแก้ว และทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วว่าในระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ แล้วนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ได้มาใช้กับขนมลูกชุบ แล้วนำขนมลูกชุบที่ใส่สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วไปตรวจหาปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* โดยเปรียบเทียบปริมาณเชื้อที่พบในขนมลูกชุบที่ไม่ได้มีการเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว จากนั้นนำขนมลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมาทดสอบทางประสาทสัมผัสกับผู้ทดสอบชิม จำนวน 30 คน ทดสอบการยอมรับทางด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบรวมของเนื้อขนมลูกชุบ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ขนมลูกชุบ

ขนมลูกชุบ เป็นขนมไทยที่เลียนแบบธรรมชาติ อาศัยฝีมือในการปั้น ส่วนใหญ่ จะปั้นเป็นผลไม้ พืชผัก เช่น มะม่วงสุก มังคุด พริกชี้ฟ้า ชมพูแก่เข้มแหม่ม มะขม ฯลฯ มักจะเป็นขนมที่มีไว้สำหรับรับแขกบ้านแขกเมือง หรือ คนสำคัญ เพราะเป็นขนมที่มีหน้าตาสวยงาม จูงใจให้รู้สึกอยากรับประทานขนมที่มีสีสวยงาม ปั้นแต่งอย่างวิจิตรบรรจง ที่ได้ชื่อว่าลูกชุบ ก็เพราะวิธีการทำให้ขนมมีส่วนเหมือนผักผลไม้ ก็ต้องชุบวุ้นเพื่อให้เกิดความเงาคล้ายผิวของพืชผลไม้นั้น ๆ ดังภาพที่ 2.1 (นิรนาม, ม.ป.ป.)



ภาพที่ 2.1 ขนมลูกชุบ

ที่มา : หนูรี (2551)

#### 2.1.1 ส่วนผสมของขนมลูกชุบ (โหระพาคอตคอม, 2552)

ถั่วเขียวนึ่งสุกบดละเอียด 1 กิโลกรัม น้ำตาลทราย 2 ½ ถ้วยตวง หัวกะทิ 1 ถ้วยตวง  
สีผสมอาหารสีต่างๆ วุ้นผง 1 ½ ช้อนโต๊ะ น้ำ 2 ½ ถ้วยตวง

#### 2.1.2 วิธีทำขนมลูกชุบ (โหระพาคอตคอม, 2552)

- 1) ผสมถั่วบด น้ำตาลทราย กะทิ เข้าด้วยกัน ยกขึ้นตั้งไฟ
- 2) กวนด้วยไฟอ่อนๆ จนล่อนจับกัน ไม่ติดกระทะ
- 3) พักถั่วกวนไว้ให้เย็น นำมาปั้นเป็นรูปผลไม้ต่างๆตามต้องการ เสียบไม้ไว้
- 4) ใช้พู่กันจุ่มสีระบายลงบนขนมที่ปั้น โดยระบายเลียนแบบของจริง ทิ้งไว้ให้แห้งจึง

นำไปชุบวุ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) ผสมวุ้นกับน้ำยักขึ้นตั้งไฟให้ละลาย เคี้ยววุ้นจนขึ้น

6) เอาขนมลูกชุบที่ปั้นแล้วเสียบไม้ ชุบวุ้นครั้งเดียวให้ทั่ว ทิ้งไว้จนแห้งแล้วชุบอีกครั้ง ทำเช่นนี้ประมาณ 3-4 ครั้ง จะชุบแต่ละครั้งต้องให้เย็น วุ้นแข็งตัวก่อนทุกครั้ง

7) เมื่อวุ้นแข็งจึงเอาไม้เสียบออก ตกแต่งด้วยก้านและใบให้สวยงาม

ปัจจุบันคนไทยหันมานิยมใช้ขนมไทยเป็นของขวัญของฝากในเทศกาลต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นวันขึ้นปีใหม่ไทยหรือสากล วันคล้ายวันเกิด วันขึ้นบ้านใหม่ วันเกษียณอายุราชการ ฯลฯ ผู้ประกอบการส่วนใหญ่มีรายได้ในการจำหน่ายลูกชุบค่อนข้างสูงในแต่ละวัน ดังเช่นจากรายงานการศึกษาพฤติกรรมของผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายในร้านค้าต้นแบบ “ร้านสวัสดิ์” ณ อาคารชาออก ผู้โดยสารต่างประเทศ ท่าอากาศยานกรุงเทพระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2547 พบว่า ขนมลูกชุบมียอดจำหน่ายเฉลี่ยต่อเดือนประมาณ 150,000-250,000 บาท คิดเป็นร้อยละ 40 ของการจำหน่ายสินค้าในกลุ่มของสด (กัญญาลักษณ์ และคณะ, 2548)

กัญญาลักษณ์ และคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาการประยุกต์ใช้หลักการของ Hurdle concept เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาขนมลูกชุบ โดยการใช้การลดค่าน้ำอิสระ ( $a_w$ ) pH ของผิววุ้น และการเก็บรักษาภายใต้สภาพแวดล้อมที่ปราศจากออกซิเจนร่วมกับอุณหภูมิ  $10^{\circ}\text{C}$  พบว่า การใช้โซเดียมซิเตรทร้อยละ 0.5 และซอร์บิทอลร้อยละ 7 สามารถลดค่า pH และค่า  $a_w$  ในผิววุ้นได้เท่ากับ 4.62 และ 0.86 ตามลำดับ การเก็บรักษาภายใต้บรรยากาศที่ดัดแปลงที่ประกอบด้วยก๊าซคาร์บอน ไดออกไซด์และก๊าซออกซิเจนร้อยละ 80 และ 5 ตามลำดับ พบว่า สามารถยืดอายุการเก็บรักษาขนมลูกชุบจาก 9 วัน (ชุดควบคุม) เป็น 13 วัน อายุการเก็บรักษาของขนมลูกชุบที่ผ่านการดัดแปลงสูตรของผิววุ้น พบว่า มีผลให้อายุการเก็บในสภาพบรรยากาศที่ดัดแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ( $p < 0.05$ )

ชนินฐา (2550) ได้ทำการศึกษาการใช้กลีเซอริน กัมอะราบิก และโซเดียมซิเตรทในการยืดอายุการเก็บรักษาขนมลูกชุบ พบว่า อัตราส่วนของกลีเซอรินต่อกัมอะราบิกที่เหมาะสมในการผลิตขนมลูกชุบคือ 22:2 (กรัม) โดยขนมลูกชุบมีปริมาณความชื้นและค่า  $a_w$  เท่ากับร้อยละ 37.02 และ 0.89 ตามลำดับ ได้รับความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี เนื้อสัมผัส รสขม และความชอบรวม เท่ากับ 6.60, 6.68, 6.75, 5.70 และ 6.83 คะแนน ตามลำดับ และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน 4 วัน (นับจากวันผลิต) สำหรับปริมาณโซเดียมซิเตรทที่เหมาะสมในการเติมในวุ้นที่ใช้ชุบ คือ ร้อยละ 0.5 โดยขนมลูกชุบมีค่า pH เท่ากับ 7.36 และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน 3 วัน (นับจากวันผลิต) ขนมลูกชุบที่ผลิตได้มีคุณภาพทางเคมี และประสาทสัมผัสใกล้เคียงกับขนมลูกชุบที่วางจำหน่ายในท้องตลาด โดยมีปริมาณ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า เท่ากับร้อยละ 48.73, 8.07, 7.47, 4.88 และ 1.08 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 สมบัติของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และการก่อโรค

เชื้อ *Staph. aureus* เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมบวก รูปกลม (cocci) ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ (non – motile) จับกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (ภาพที่ 2.2) บางครั้งพบอยู่เป็นคู่ๆ หรือ จับกันเป็นสายสั้นๆ (Eley, 1992) สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศ เจริญในช่วงอุณหภูมิ 6.7 – 48 องศาเซลเซียส (Adam and Moss, 1995) โดยอุณหภูมิเหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 35-37 องศาเซลเซียส แบคทีเรียชนิดนี้มีสมบัติทนเกลือได้ดี บางชนิดทนได้มากถึงร้อยละ 15 จึงสามารถทนต่อสภาพ  $a_w$  ต่ำ นอกจากนี้ยังมีสมบัติทนต่อความร้อนได้ดี



ภาพที่ 2.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : Electron Micrograph of *Staphylococcus aureus* (2007)

เชื้อ *Staph. aureus* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ เชลล์มีความทนทานมาก และสามารถอยู่รอดในสภาวะแห้งแล้งได้นาน แหล่งของเชื้อ *Staph. aureus* จึงพบทั่วไปในอากาศ ผุน น้ำ น้ำเสีย น้มนม และอาหาร ตลอดจนอุปกรณ์ที่ใช้ในการประกอบอาหารที่ทำความสะอาดไม่ดีพอ เชื้อ *Staph. aureus* บางสายพันธุ์เมื่อเจริญในอาหารจะสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (staphylococcal enterotoxin; SE) ซึ่งสารพิษนี้จะทนความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส ได้นาน 1 ชั่วโมง (Lee et al., 1975) สารพิษชนิดนี้เป็นโพลีเปปไทด์สายเดี่ยว (single polypeptides) ชนิดนิวทรัลโปรตีน (neutral protein) มีสมบัติทำให้พลาสมาของเลือดแข็งตัวได้

*Staph. aureus* ส่วนใหญ่พบในอาหารที่มีมันและเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ และอาหารที่ผ่านการสัมผัสและเคลื่อนย้ายด้วยมือมนุษย์ รวมทั้งอาหารที่ไม่ได้ทำให้สุกก่อนบริโภค (สุมณฑา, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของเชื้อ *Staph. aureus* (สุมณฑา, 2545)

### 2.2.1.1 ความต้องการอาหารในการเจริญเติบโตและผลิตภัณฑ์เอนโทโรทอกซิน

เชื้อ *Staph. aureus* เหมือนกับแบคทีเรียแกรมบวกอื่นๆ คือต้องการอาหารที่มีสารประกอบอินทรีย์บางชนิดเป็นการเฉพาะ เช่น ต้องการกรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจน ต้องการวิตามินบีจากไรโอามีนและกรดนิโคตินิก ในสภาวะไร้อากาศแบคทีเรียต้องการยูเรซิล (uracil) ด้วย

### 2.2.1.2 ช่วงอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญเติบโต

แม้ว่าเชื้อ *Staph. aureus* จะเป็นแบคทีเรียจำพวกมีโซฟิลล์ แต่ปรากฏว่าบางสายพันธุ์ของ *Staph. aureus* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำที่ 6.7 องศาเซลเซียส (Angelotti et al., 1961) ต่อมา Smith และคณะ (1983) พบว่า *Staph. aureus* 3 สายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในคัสตาร์ดซึ่งเจริญที่อุณหภูมิ 45.5 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการบ่มเพาะเชื้อน้อยลงเมื่อทำการบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิสูงขึ้นเล็กน้อย คือที่อุณหภูมิ 46.7 – 48.9 องศาเซลเซียส กล่าวโดยทั่วไปช่วงอุณหภูมิที่ *Staph. aureus* เจริญอยู่ระหว่าง 7 – 47.8 องศาเซลเซียส และช่วงอุณหภูมิที่สร้างเอนโทโรทอกซินอยู่ระหว่าง 10 – 46 องศาเซลเซียส แต่เหมาะสมที่สุด คือ 40 – 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะปกติ แต่ถ้ามีปัจจัยร่วมอื่นๆ อุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดที่ *Staph. aureus* จะเจริญและสร้างเอนโทโรทอกซินอาจเปลี่ยนไปได้

### 2.2.1.3 อิทธิพลของปัจจัยร่วมที่เสริมฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus*

#### 1) ผลของเกลือแอกกับสารเคมี

แม้ว่า *Staph. aureus* จะเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเกลือแอก แต่ในอาหารที่มีเกลือแอกร้อยละ 7 – 10 *Staph. aureus* ก็เจริญได้เช่นกัน และบางสายพันธุ์สามารถเจริญได้แม้ว่าจะมีเกลือแอกสูงถึงร้อยละ 20 ความเข้มข้นสูงสุดของเกลือแอกที่ *Staph. aureus* จะเจริญได้ขึ้นอยู่กับอิทธิพลของพารามิเตอร์อื่นๆ ร่วมด้วย เช่น อุณหภูมิ pH  $a_w$  และความต่างศักย์ของประจุหรืออิเล็กตรอน (Eh)

*Staph. aureus* ทนต่อสารเคมีบางชนิด เช่น tellurite, mercuric chloride, neomycin, polymyxin และ sodium azide ทำให้มีการนำสารประกอบเหล่านี้มาใช้เป็นสารยับยั้งเพื่อเลือกเฉพาะ *Staph. aureus* ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท selective media แต่ *Staph. aureus* ไม่ทนต่อสารอะคริฟลาวิน (acriflavine) ซึ่งแตกต่างจากเชื้อ Staphylococci อื่นๆ สมบัตินี้จึงนำมาใช้แยก *Staph. aureus* ออกจากเชื้อ Staphylococci อื่นๆ ในอาหารที่มีสารบอเรท *Staph. aureus* ถูกยับยั้ง ส่วน *Staph. epidermidis* ทนต่อสารบอเรท และในอาหารที่มีนิโอมัยซิน *Staph. saprophyticus* ทนได้ จึงเจริญได้ในขณะที่ *Staph. aureus* และ *Staph. epidermidis* ไม่เจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2) ผลของ pH, $a_w$ และพารามิเตอร์อื่นๆ

*Staph. aureus* สามารถเจริญได้ในช่วง pH กว้างตั้งแต่ 4.0 – 9.8 แต่ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 6 – 7 ถ้ามีพารามิเตอร์อื่นๆที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตร่วมด้วย ค่า pH ต่ำสุดที่ *Staph. aureus* จะเจริญได้ขึ้นอยู่กับระดับความเหมาะสมของพารามิเตอร์เหล่านั้น ตัวอย่างเช่น การทำมายองเนสแบบพื้นบ้าน โดยมี pH เริ่มต้นที่ 5.15 ทำการเพาะเชื้อ *Staph. aureus* ที่  $10^7$  cfu/g และ pH สุดท้ายไม่ลดลงมาต่ำกว่า 4.7 ปรากฏว่า *Staph. aureus* สร้างเอนเทอโรทอกซินชนิดบี ในระดับ 158 นาโนกรัม/100 g กล่าวโดยทั่วไป สภาวะของการเกิดเอนเทอโรทอกซินบีไวต่อ pH มากกว่าสภาวะที่เกิดเอนเทอโรทอกซินเอ ดังนั้นในอาหารที่มีบัฟเฟอร์ที่เป็นกลางจึงมีโอกาสพบเอนเทอโรทอกซินบีมากกว่าในอาหารที่ไม่มีบัฟเฟอร์หรือมีบัฟเฟอร์ที่เป็นกรด (Metzger et al., 1973)

ส่วน  $a_w$  เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียที่ไม่ชอบเค็มอื่นๆ ปรากฏว่า เชื้อ *Staph. aureus* สามารถเจริญได้ในอาหารที่มี  $a_w$  ต่ำกว่า ตามปกติค่า  $a_w$  ต่ำสุดของเชื้อ *Staph. aureus* อยู่ที่ 0.86

## 3) เกลือแกงกับ pH

เมื่อทำการเพาะเลี้ยง *Staph. aureus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อโปรตีนไฮโดรไลเซต บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 8 วัน มีการเจริญและเกิดเอนเทอโรทอกซินซี ขึ้นในอาหารที่มี pH ระหว่าง 4.00 – 9.83 ที่ไม่มีเกลือแกง แต่ถ้าเติมเกลือแกงร้อยละ 4 ช่วง pH ที่แบคทีเรียจะเจริญได้แคบลงมาเป็น 4.4 – 9.43 และถ้าเติมเกลือแกงร้อยละ 10 *Staph. aureus* จะสร้างเอนเทอโรทอกซินซี เมื่อ pH สูงกว่า 5.45 ในกรณีที่เพิ่มปริมาณเกลือแกงเป็นร้อยละ 12 *Staph. aureus* จะไม่สร้างเอนเทอโรทอกซิน (Genigeorgis et al., 1971)

## 4) pH, $a_w$ และอุณหภูมิ

*Staph. aureus* สายพันธุ์ผสมไม่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์เหลวคือ Brain Heart Infusion (BHI) ที่เติมเกลือแกงและซูโครสเป็นสารลด  $a_w$  (humectant) ไม่ว่าในสภาวะที่มี pH 4.3 มี  $a_w$  0.85 หรือที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และไม่เจริญในสภาวะที่มีปัจจัยร่วมคือ pH < 5.5 อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส และ  $a_w$  0.90 หรือ 0.93 และปัจจัยร่วมที่มี pH < 4.9 อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส และ  $a_w$  ที่ 0.96 (Notermans and Heuvelman, 1983)

## 5) $\text{NaNO}_2$ , Eh, pH และอุณหภูมิ

*Staph. aureus* สายพันธุ์ S-6 เจริญและสร้างเอนเทอโรทอกซินบี ในแฮมบ่มในสภาวะไร้อากาศที่มีเกลือแกงสูงจนถึงร้อยละ 9.2 แต่ไม่เจริญในสภาวะที่มี pH ต่ำกว่า 5.3 ที่ 30 องศาเซลเซียส หรือสภาวะที่มี pH ต่ำกว่า 5.58 ที่ 10 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ *Staph. aureus* สายพันธุ์นี้สร้างเอนเทอโรทอกซินบี ได้เร็วกว่าในสภาวะที่ไม่มีอากาศ และเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของกรดไนตริก ( $\text{HNO}_2$ ) เพิ่มขึ้น ความสามารถในการสร้างเอนเทอโรทอกซินบี จะลดลง (Genigeorgis *et al.*, 1969)

### 2.2.2 ชนิดเอนเทอโรทอกซินที่ *Staph. aureus* สร้างในอาหาร

การเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staph. aureus* เป็นผลมาจากเอนเทอโรทอกซินหรือสารพิษที่ *Staph. aureus* ผลิตขึ้นและขับออกมาภายนอกเซลล์ สารพิษนี้ทนความร้อน ในค.ศ. 1998 มีรายงานว่าแบคทีเรียจำพวก Staphylococci สร้างเอนเทอโรทอกซิน 10 ชนิด โดย 3 ชนิดเพิ่งค้นพบเมื่อไม่นานมานี้ (เอนเทอโรทอกซินจี, เอนเทอโรทอกซินอี และเอนเทอโรทอกซินไอ) ในกรณีที่เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษขึ้น ส่วนมากจะแยกได้เอนเทอโรทอกซินเอ (สุมณฑา และคณะ, 2522; Sperber, 1977)

ชนิดเอนเทอโรทอกซินในอาหารจากแหล่งต่างๆ มักจะแตกต่างกัน เช่น ในสหรัฐฯ พบว่ากว่าร้อยละ 50 ของเอนเทอโรทอกซินที่แยกได้จากคนเป็นชนิด A เพียงอย่างเดียว หรือ ชนิด A ร่วมกับเอนเทอโรทอกซินชนิดอื่น แต่ในประเทศศรีลังกากลับพบว่า *Staph. aureus* ที่แยกได้จากคนเป็นชนิด A เพียงร้อยละ 7.8 เท่านั้น ในขณะที่พบชนิด B มากกว่าชนิดอื่นๆ ซึ่งแตกต่างจากรายงานผลการศึกษาที่เคยมีมาก่อนหน้านี้ (Palasuntheram and Beauchamp, 1982) *Staph. aureus* สายพันธุ์ที่แยกได้จากอาหารให้อุณหภูมิเอนเทอโรทอกซินที่ต่างกัน ผลการสำรวจอาหารพร้อมบริโภครวมจากไนจีเรียแยกได้ *Staph. aureus* ชนิดที่สร้างสารพิษจำนวน 248 สายพันธุ์ ร้อยละ 44 สร้างเอนเทอโรทอกซินชนิดดี (Adesiyun, 1984) จากการศึกษา *Staph. aureus* ที่ให้เอนไซม์โคเอกกูเลสจำนวน 449 ตัวอย่างที่แยกได้จากอาหารต่างๆ ของไนจีเรียเป็นสปีชีส์ที่ให้สารพิษชนิด A, B, D และ C คิดเป็นร้อยละ 57, 15, 6 และ 5 ตามลำดับ (Sokari and Anozie, 1990)

### 2.2.3 อาการของผู้ป่วย

อาการของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staph. aureus* มักเกิดขึ้นประมาณ 4 ชั่วโมงหลังบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป แม้ว่าโดยทั่วไปมีรายงานการเกิดโรคจะเน้นที่การเกิดอาการภายใน 1-6 ชั่วโมงก็ตาม อาการของผู้ป่วย คือ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องอย่างรุนแรง ท้องเสีย เหงื่อแตก ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย และบางครั้งมีไข้ด้วย ตามปกติอาการจะทรงอยู่ราว 24 - 48 ชั่วโมง อัตราการตายต่ำมาก การบำบัดรักษาที่ดีที่สุดสำหรับคนปกติคือให้นอนพัก และให้บริโภคน้ำสะอาดผสมเกลือแร่ เหตุที่อาการของโรคเกิดจากเอนเทอโรทอกซินที่แบคทีเรียสร้างขึ้นและขับออกมาในอาหาร จึงอาจไม่ตรวจพบ *Staph. aureus* ในอุจจาระผู้ป่วย การพิสูจน์เพื่อหาสาเหตุของโรคที่เชื่อถือได้มากที่สุด คือ การนำอาหารที่เหลือและอุจจาระของผู้ป่วยไปตรวจหาเอนเทอโรทอกซิน ปริมาณเอนเทอโรทอกซินต่ำสุดที่จะก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษอยู่ที่ 20 นาโนกรัม (Evenson *et al.*, 1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2.4 อาหารที่เป็นสื่อ

โรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staph. aureus* อาจเกิดในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะอาหารที่ผ่านการสัมผัสด้วยมือแล้วไม่ผ่านความร้อนอีก ตารางที่ 2.1 แสดงถึงอัตราการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staph. aureus* ที่เกิดระหว่าง ค.ศ. 1973 – 1987 ในสหรัฐฯ และตารางที่ 2.2 แสดงแหล่งอาหารที่เป็นสื่อการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ

ตารางที่ 2.1 การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Staph. aureus* ระหว่างปี ค.ศ. 1973 – 1987 ในสหรัฐฯ

ปี ค.ศ.	จำนวนครั้งที่ระบาด	จำนวนผู้ป่วย	% ของผู้ป่วยทั้งหมด
1973 – 1987	367	17,248	14.0
1983	14	1,257	15.9
1984	11	1,153	14.1
1985	14	421	1.8
1986	7	250	4.3
1987	1	100	1.0

ที่มา : Bean and Griffin (1990) ; Bean และคณะ (1990)

ตารางที่ 2.2 แหล่งอาหารที่เป็นสื่อทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษระหว่างปี ค.ศ. 1973 – 1987 ในสหรัฐฯ

แหล่งอาหาร	จำนวนครั้งที่ระบาด
เนื้อสุกร	98
ขนมปัง	26
เนื้อวัว	22
ไก่จวง	20
เนื้อไก่	14
ไข่	9

ที่มา : Bean and Griffin (1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.5 แหล่งที่พบตามธรรมชาติและการป้องกัน

ตามปกติแบคทีเรียจะพวก Staphylococci เจริญแข่งขันกับแบคทีเรียอื่นๆ ได้ไม่คืนัก โดยเฉพาะในสภาวะที่มีแบคทีเรียให้กรดแลคติกอยู่เป็นจำนวนมาก การเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ต้องการกรดอะมิโนและวิตามินหลายชนิด ดังนั้นบ่อยครั้งจึงพบแบคทีเรียนี้ตามร่างกายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมทั้งมนุษย์ วิธีป้องกันไม่ให้เชื้อ *Staph. aureus* ที่อาจปนเปื้อนมากับอาหารเจริญได้ คือ เก็บรักษาอาหารไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4.4 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส จนกว่าจะถึงเวลาบริโภค ระหว่างปี ค.ศ. 1861 – 1972 *Staph. aureus* ทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษขึ้นมากกว่า 700 ครั้ง จากการประมวลหาสาเหตุ รวบรวมได้ 16 สาเหตุ ทั้งนี้ 5 สาเหตุสำคัญแสดงดังตารางที่ 2.3 (Bryan, 1988)

ตารางที่ 2.3 สรุปปัจจัยที่เกิดสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษขึ้นระหว่างปี ค.ศ. 1973 – 1987 ในสหรัฐฯ

สาเหตุ	จำนวนครั้งที่ระบาด
เก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม	98
สุขวิทยาส่วนบุคคลไม่เหมาะสม	71
การปนเปื้อนจากภาชนะ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใส่อาหาร	43
ปรุงอาหารสุกไม่เหมาะสม	22
วัตถุดิบมาจากแหล่งผลิตไม่ปลอดภัย	12
อื่นๆ	24

ที่มา : Bean and Griffin (1990)

สุมนทนา และคณะ (2523 ก) ได้สำรวจการแพร่กระจายของเชื้อ *Staph. aureus* ชนิดที่ให้เอนไซม์โคเอกกูเลส จำนวน 286 ตัวอย่าง พบอัตราการปนเปื้อนร้อยละ 23.4 ปริมาณของเชื้อที่พบอยู่ระหว่าง  $10^2 - 10^6$  cfu/g และในขนมไทยที่ทำขายและวางขายตามตลาด พบอัตราการปนเปื้อนของ *Staph. aureus* ร้อยละ 60 แต่ปริมาณที่พบค่อนข้างต่ำ อยู่ระหว่าง  $10^2 - 10^4$  cfu/g (สุมนทนา และคณะ, 2523 ข)

พรณชรินทร์ และ สุพรรณณี (2543) ได้ทำการตรวจหา *Staph. aureus* ในขนมไทย โดยการสุ่มตัวอย่างขนมจากห้างสรรพสินค้าและ ตามตลาดในเขตต่างๆ ของกรุงเทพฯ และปริมณฑล ในช่วงเดือนสิงหาคม ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2543 จากตัวอย่างขนมไทยจำนวน 100 ตัวอย่าง พบว่าตรวจพบ *Staph. aureus* ในตัวอย่างทั้งหมด โดยส่วนใหญ่ตรวจเชื้ออยู่ในช่วงระหว่าง  $1.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^3$  โคโลนีต่อกรัม และจากการศึกษายังพบว่าขนมไทยที่มีมะพร้าวคั่วหรือโรย

หน้าจะตรวจพบเชื้อ *Staph. aureus* มากกว่าขนมไทยที่ไม่มีมะพร้าวคลุก โดยคิดเป็นร้อยละ 88.20 และ 63.64 ตามลำดับ

การเจริญของ *Staph. aureus* ในอาหารอาจจะทำให้เกิดอาการเป็นพิษได้ เนื่องจาก *Staph. aureus* หลายสายพันธุ์สามารถสร้างเอนเทอโรทอกซิน การตรวจหา *Staph. aureus* จึงมีความหมายเพื่อ

- 1) เป็นการยืนยันว่า อาหารเป็นพิษเนื่องจาก *Staph. aureus*
- 2) ใช้ในการวิเคราะห์ว่า อาหาร และวัตถุดิบนี้มีศักยภาพที่จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษอย่างไร
- 3) แสดงว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ จากการสัมผัสของคนกับอาหารที่ได้ผ่านกระบวนการผลิตมาแล้ว หรือการที่อาหาร ได้สัมผัสกับพื้นผิวที่ไม่สะอาด

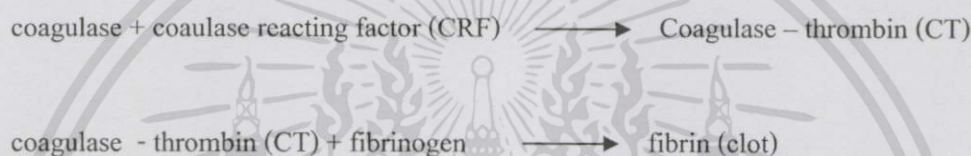
ปกติแล้ว *Staph. aureus* จะถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน และ sanitizing agent ดังนั้นการมี *Staph. aureus* หรือพิษของมันในผลิตภัณฑ์อาหารหรืออุปกรณ์ซึ่งใช้ในการประกอบอาหารจะแสดงถึงความไม่ถูกสุขลักษณะในการประกอบอาหาร วิธีการที่นำมาตรวจและประมาณจำนวน *Staph. aureus* ขึ้นอยู่กับอาหารที่นำมาตรวจ อาหารที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ เนื่องจากเอนเทอโรทอกซินของ *Staph. aureus* ในตัวอย่างอาหารจะพบปริมาณของ *Staph. aureus* จำนวนมาก การตรวจไม่จำเป็นต้องใช้การตรวจที่มีความไว วิธีที่จะต้องมีควมไวจะใช้กับตัวอย่างอาหารที่ต้องการตรวจเพื่อตรวจสอบสุขลักษณะของอาหาร หรือดูว่ามีการปนเปื้อนหลังกระบวนการผลิตหรือไม่ ตัวอย่างอาหารที่มีปริมาณ *Staph. aureus* น้อยและโดยปกติแล้ว *Staph. aureus* จะไม่ใช่จุลินทรีย์ที่เจริญอยู่เชื้อเดียวในอาหาร จะพบจุลินทรีย์อื่นด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้จะต้องประกอบด้วย selective agent เพื่อให้ *Staph. aureus* สามารถเจริญได้และยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นจึงต้องนำมาใช้

*Staph. aureus* ทนความเค็มได้ดี สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือร้อยละ 10 การเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการจึงนิยมเค็มเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และ *Staph. aureus* สามารถสร้างเอนไซม์ไลติกเนส ฆ่าย่อยเลซิทินในไข่แดง ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนขุ่น (creamy zone) จึงมีการเติมไข่แดงลงในอาหารที่ใช้เลี้ยง เพื่อความสะดวกในการแยกเชื้อนี้

ทดสอบการสร้างโคแอกกูเลสเป็นลักษณะสำคัญที่จะแยกเชื้อ *Staph. aureus* ออกจาก *Staphylococcus* spp. อื่นๆ เพราะ *Staph. aureus* ส่วนมากจะสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลสที่ทำให้พลาสมาของคนหรือกระด้างแข็งตัวได้

โคแอกกูเลสมีคุณสมบัติ ดังนี้ (นันทนา, 2537)

- 1) ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส ได้นาน 30 นาที และสามารถกรองได้
- 2) เป็นสารตั้งต้น ของทรอมบิน มีสมบัติไม่ทนความร้อน (thermolabile) คือถูกทำลายโดยความร้อน
- 3) พลาสมาไม่แข็งตัว ถ้าขาด activator และในการแข็งตัวไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของ  $Ca^{++}$
- 4) โคแอกกูเลสมี 2 แบบ คือ อยู่รวมกันกับผนังเซลล์ (bound coagulase) ทดสอบโดยใช้แผ่นแก้วจะเกิดการ clump กับ fibrin และอีกรูปแบบอยู่เป็นอิสระ (free coagulase) จะรวมกับ prothrombin ได้ thrombin ทำให้เกิดการ แข็งตัวดังสมการ



ถึงแม้ว่าการผลิตเอนไซม์โคแอกกูเลสจัดเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของเชื้อ *Staph. aureus* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษก็ตาม แต่ไม่ได้หมายความว่า *Staph. aureus* ที่ให้เอนไซม์โคแอกกูเลส ทุกสายพันธุ์จะให้สารพิษที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีบางสายพันธุ์ไม่ให้สารพิษสำหรับสายพันธุ์ที่ให้สารพิษ เรียกว่า “enterotoxigenic *Staphylococcus aureus*”

### 2.3 มะม่วง (Mango)

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นไม้ยืนต้นชื่อสามัญ แมงโก (Mango) อยู่ในวงศ์นาคาร์ดิอากีอี (Anacardiaceae) เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ลำต้นตรง มีกิ่งก้านแผ่ออกเป็นทรงพุ่มที่แน่นทึบ ไม้ผลัดใบมีอายุยืนมากกว่า 100 ปี มะม่วงจัดเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง ประชากรในโลกมากกว่า 1 ใน 5 ใช้มะม่วงประกอบอาหาร และมีอย่างน้อย 87 ประเทศทั่วโลกที่ปลูกมะม่วงเป็นการค้า (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร, 2544) เนื่องจากปลูกง่าย โตเร็ว นอกจากนี้การรับประทานมะม่วงยังเป็นประโยชน์ให้คุณค่าทางอาหารแก่ร่างกาย เนื่องจากเนื้อมะม่วงประกอบด้วยน้ำตาลร้อยละ 15 โปรตีนร้อยละ 0.5 และอุดมไปด้วยวิตามิน เอ บี และ ซี (Huxley *et al.*, 1997)

การใช้ประโยชน์ รับประทานผลดิบและผลสุก และแปรรูปเป็นมะม่วงกวน มะม่วงคอง มะม่วงแช่อิ่ม มะม่วงเค็ม น้ำมะม่วง แยมมะม่วง ฯลฯ พันธุ์มะม่วงแยกตามลักษณะการรับประทาน ดังนี้ พันธุ์รับประทานสุก ได้แก่ น้ำดอกไม้ หนังกกลางวัน อกร่อง พันธุ์รับประทานดิบ ได้แก่ ทองคำ

ฟ้าลั่น เขียวสววย แรด พันธุ์แปรรูป ได้แก่ สามฤดู แก้ว มะม่วงแก้วเป็นพันธุ์มะม่วงที่มีปริมาณผลผลิตออกสู่ตลาดมากและมีพื้นที่ปลูกเป็นอันดับ 2 รองลงมาจากพันธุ์เขียวสววย (วัชชัย และคณะ, 2546)

มะม่วงเป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยวิตามิน แร่ธาตุ และสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น เบต้า-แคโรทีน วิตามินเอ บี และซี และสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก ได้แก่ ฟีนอล (phenols) เควอซิติน (quercetin) ไอโซเควอซิติน (isoquercetin) แอสตรากาลิน (astragaline) ฟิเซติน (fisetin) กรดแกลลิก (gallic acid) และเมทิลแกลเลต (methylgallate) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคมะเร็ง และโรคหัวใจ มะม่วงยังประกอบไปด้วยโพแทสเซียมและใยอาหาร อีกทั้งยังให้พลังงานต่ำ ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งพบมากในมะม่วงมีส่วนช่วยในการป้องกันท้องผูกและมะเร็งลำไส้ใหญ่ (ปรีชา, 2547) คุณค่าทางโภชนาการของมะม่วงแสดงดังในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 คุณค่าทางโภชนาการของมะม่วง

สารอาหาร	ปริมาณ 1 ถ้วย (165 กรัม)
น้ำ (กรัม)	134.821
พลังงาน (กิโลแคลอรี)	107.250
โปรตีน (กรัม)	0.842
ไขมัน (กรัม)	0.446
เต้า (กรัม)	0.825
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	28.050
ใยอาหาร (กรัม)	2.970
แร่ธาตุ	
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	16.500
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.214
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	14.850
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	18.150
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	257.400
โซเดียม (มิลลิกรัม)	3.300
สังกะสี (มิลลิกรัม)	0.066
ทองแดง (มิลลิกรัม)	0.181
แมงกานีส (มิลลิกรัม)	0.045
ซีลีเนียม (มิลลิกรัม)	0.990

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

สารอาหาร	ปริมาณ 1 ถ้วย (165 กรัม)
วิตามิน	
Vitamin C (มิลลิกรัม)	45.705
Thiamin (มิลลิกรัม)	0.096
Riboflavin (มิลลิกรัม)	0.094
Niacin (มิลลิกรัม)	0.964
Pantothenic acid (มิลลิกรัม)	0.264
Vitamin B-6 (มิลลิกรัม)	0.221
Folate (ไมโครกรัม)	23.100
Vitamin A (IU)	6425.100
Tocopherol, alpha (มิลลิกรัม)	1.848
กรดอะมิโน	
Tryptophan (กรัม)	0.013
Threonine (กรัม)	0.031
Isoleucine (กรัม)	0.030
Leucine (กรัม)	0.051
Lysine (กรัม)	0.068
Methionine (กรัม)	0.008
Phenylalanine (กรัม)	0.028
Alanine (กรัม)	0.084
Tyrosine (กรัม)	0.017
Valine (กรัม)	0.043
Arginine (กรัม)	0.031
Histidine (กรัม)	0.020
Aspartic acid (กรัม)	0.069
Glutamic acid (กรัม)	0.099
Glycine (กรัม)	0.035
Proline (กรัม)	0.030
Serine (กรัม)	0.036

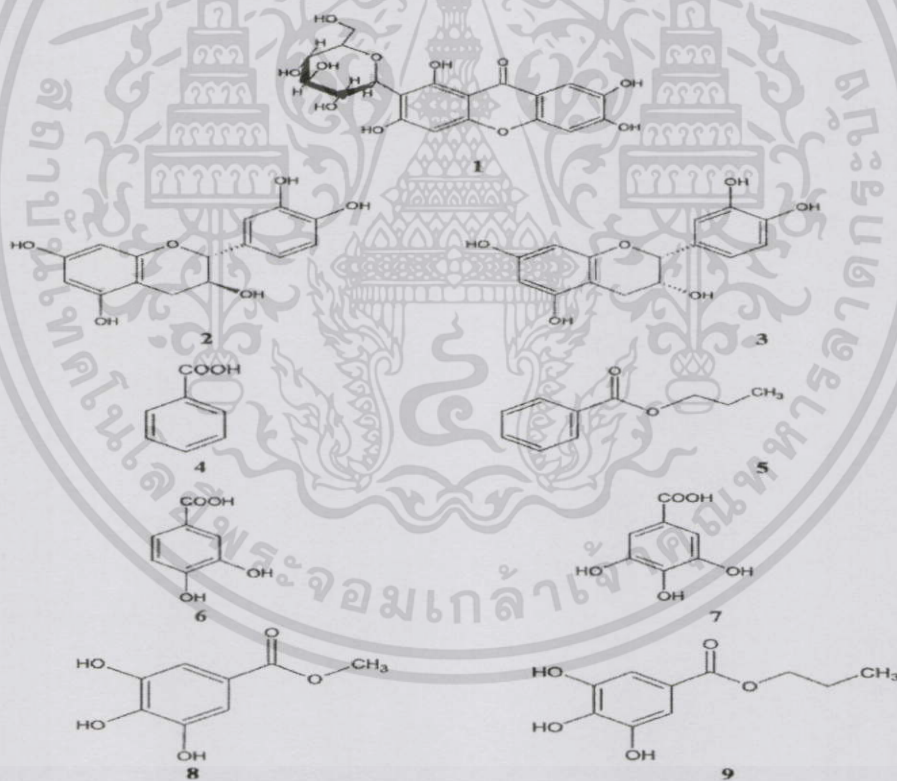
ที่มา : คัดแปลงจาก USDA (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างกระบวนการแปรรูปมะม่วง ส่วนของเปลือกและเมล็ดก่อให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งประมาณร้อยละ 40 – 50 ของน้ำหนักผลทั้งหมด ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้นับเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารอาหารมากมาย และสามารถนำมาเพิ่มคุณค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารได้ เปลือกมะม่วงสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดเพคตินที่มีคุณภาพดีซึ่งมีปริมาณถึงร้อยละ 6.1 และยังสามารถประกอบไปด้วยใยอาหารถึงร้อยละ 5.4 (เกรียงศักดิ์, 2549)

สารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของมะม่วง ได้แก่ ใบ เมล็ด เนื้อ ราก เปลือก และเปลือกของลำต้น มีการนำมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ทางยารักษาโรคในหลายประเทศ การศึกษาของ Alberto (2005) พบว่าเปลือกลำต้นของมะม่วงประกอบด้วยสารประกอบโพลีฟีนอลในปริมาณสูง ซึ่งพบทั้งหมด 7 ชนิด ดังภาพที่ 2.3

Beerch (1976) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมะม่วงสุก พบว่าเป็นแหล่งของน้ำตาล เพคติน โปรตีน และเส้นใย ดังแสดงในตารางที่ 2.5 นอกจากนี้ในเปลือกมะม่วงยังมีสารประกอบฟีนอลิก ดังแสดงในตารางที่ 2.6 ซึ่งสารประกอบในกลุ่มนี้สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (Berardini et al., 2005)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของสาร โพลีฟีนอลและสารประกอบอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในเปลือกลำต้นของมะม่วง (1) Mangiferin; (2) (+) Catechin; (3) (-) Epicatechin; (4) Benzoic acid; (5) Benzoic acid , propyl ester; (6) 3,4-Dihydroxybenzoic acid; (7) Gallic acid; (8) Gallic acid, methyl ester; (9) Gallic acid, propyl ester

ที่มา : Alberto (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกมะม่วงสุก

องค์ประกอบทางเคมี	น้ำหนักแห้ง (ร้อยละ)
น้ำตาล (total sugar)	48.1
น้ำตาลรีดิวซิง (reducing sugar)	40.8
แป้ง (starch)	2.9
เพกติน (pectin)	12.9
โปรตีน (protein)	3.9
เส้นใย (crude fiber)	8.4
แทนนิน (tannins)	2.3
เถ้า (ash)	2.9
ไขมัน (fat)	-

ที่มา : Beerch (1976)

ตารางที่ 2.6 ชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเปลือกมะม่วงสุกพันธุ์ทอมมี แอทกินส์ (Tommy Atkins)

ชนิดของสารประกอบฟีนอลิก	ปริมาณ (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง)
Mangiferin	75.1±1.3
Isomangiferin	3.0±0.1
Mangiferin gallate	7.6±0.5
Isomangiferin gallate	2.4±0.3
Quercetin 3-O-glucoside	1.8±0.2
Rhamnetin 3-O-galactoside/glucoside	0.2±0.0
Quercetin	2.7±0.1
Ellagic acid	36.6±1.3
Total	129.4±2.0

ที่มา : Berardini และคณะ (2005)

มะม่วงแก้ว (*Mangifera indica* L. cv. Kaew) เป็นมะม่วงพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้แปรรูปในเชิงอุตสาหกรรม เนื่องจากเจริญเติบโตเร็ว และทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี ให้ผลผลิต เปลือกค่อนข้างหนาและเหนียว ผิวเปลือกมีสีเขียวเข้ม มีต่อมน้ำมันขนาดใหญ่ มีเปอร์เซ็นต์แป้งในผลมาก ผลดิบมีเนื้อแน่นและกรอบเหมาะสำหรับใช้ทำมะม่วงคอง เมื่อผลสุกเนื้อจะมีรสหวานและเกาะตัวกันดี

เหมาะที่จะใช้ทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ หลายชนิด (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร, 2544) มะม่วงแก้วมีพื้นที่ปลูกครอบคลุมในทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ มีหลายพันธุ์แยกตามลักษณะภายนอกของผลและสีผิว ได้แก่ พันธุ์แก้วเขียว (เมื่อคิบสีผิวออกสีเขียวเข้ม) แก้วขาว (สีผิวออกสีเขียวซีด) แก้วดำ (สีผิวออกสีเขียวคล้ำ) และแก้วจุก นอกจากนี้ยังมีสายพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงให้มีผลผลิตสูงและมีความต้านทานโรค ได้แก่ พันธุ์แก้วศรีสะเกษ แก้วชัยภูมิ และแก้วเขียวใหม่ เป็นต้น (ธวัชชัย และคณะ, 2546) ผลมะม่วงแก้วทั้งดิบและสุกนิยมนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น มะม่วงคอง มะม่วงในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋อง น้ำมะม่วงพร้อมดื่ม มะม่วง puree ซอสมะม่วง มะม่วงสุกในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋อง แยมมะม่วง และมะม่วงผง (ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร, 2544) ซึ่งเปลือกมะม่วงที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป (ประมาณร้อยละ 15-20 ของผล) จัดเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และใยอาหาร (Dietary fiber) ที่สำคัญ (Ajila *et al.*, 2007)

## 2.4 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารในกลุ่ม secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบฟีนอลิกในพืชแต่ละชนิด จึงมีความแตกต่างกันออกไป โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลิกจะพบมากบริเวณผิวชั้นนอกของพืช เช่น เปลือก เพื่อทำหน้าที่ปกป้องสารต่างๆ ที่อยู่ภายใน (inner materials) โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH) ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไปมาเกาะอยู่ มีโครงสร้างตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่ายไปจนถึงโครงสร้างที่เป็น โพลีเมอร์ ในธรรมชาติสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระ (bound form) ซึ่งมีทั้งชนิดที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (conjugated forms/soluble phenolics) และที่อยู่ในรูปที่จับสาร โพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช โดยมักพบสารประกอบฟีนอลิครวมอยู่กับ โมเลกุลของน้ำตาล เช่น น้ำตาลกลูโคส (glucose) กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) ซิโรส (xylose) อะราบิโนส (arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาล เช่น กรดกลูโคโรนิก (glucuronic acid) กรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) กรดอินทรีย์ (organic acid) อะมีน (amine) และไขมันอีกด้วย (Balasundram *et al.*, 2006; Karakaya, 2004; Podsedek, 2007)

สารประกอบฟีนอลพบได้ในอาหารและเครื่องดื่มน้ำที่ได้จากพืช เช่น ผัก ผลไม้ ธัญพืชต่างๆ แต่จะพบในปริมาณที่แตกต่างกันออกไปในพืชแต่ละชนิด หรือแม้แต่ในพืชชนิดเดียวกันแต่มาจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่ผลิตต่างกัน เนื่องจากการสร้างสารประกอบฟีนอลของพืชจะมีปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้ยังพบว่า วิธีการเพาะปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป รวมทั้งวิธีการเก็บรักษา ล้วนมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งสิ้น

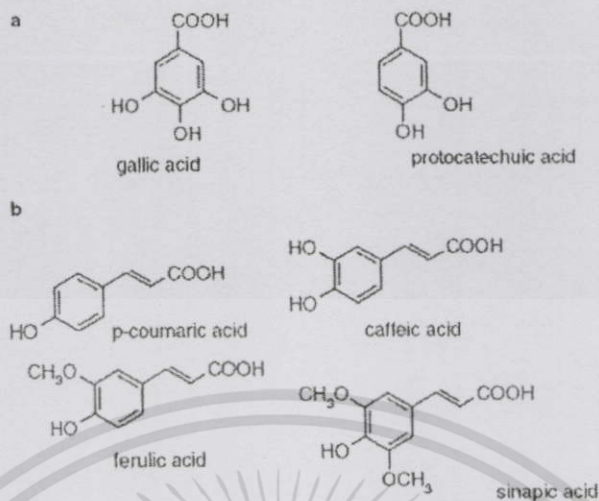
สารประกอบฟีนอลจากพืชมีการศึกษาและนำมาใช้ประโยชน์มานานแล้ว เช่น ใช้เป็นสารฟอกสี (tannin agent) ในกระบวนการผลิตกระดาษ สี เครื่องสำอาง ตลอดจนการใช้ในลักษณะสีธรรมชาติ (nature colorants) และสารป้องกันการเสื่อมเสีย (preservatives) ในอุตสาหกรรมอาหาร แต่ในปัจจุบันงานวิจัยส่วนมากหันมาให้ความสนใจสารประกอบฟีนอลกับสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลสามารถแบ่งได้เป็นหลายกลุ่ม ตามจำนวนคาร์บอนอะตอมในโครงสร้าง แสดงในตารางที่ 2.7 แต่ที่พบในพืชส่วนใหญ่ ได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ซึ่งมี 2 กลุ่มย่อย คือ กรดไฮโดรเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) และกรดไฮโดรซินนามิก (hydrocinnamic acids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แสดงดังภาพที่ 2.4 และ 2.5 (Balasundram *et al.*, 2006)

ตารางที่ 2.7 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลที่พบในพืช

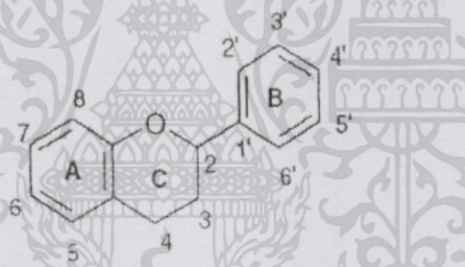
กลุ่มสารประกอบฟีนอล	โครงสร้าง
Simple phenolics, benzoquinones	$C_6$
Hydroxybenzoic acids	$C_6-C_1$
Acetophenones, phenylacetic acids	$C_6-C_2$
Hydroxycinnamic acids, phenylpropanoids	$C_6-C_3$
Napthoquinones	$C_6-C_4$
Xanthones	$C_6-C_1-C_6$
Stilbenes, anthraquinones	$C_6-C_2-C_6$
Flavonoids, isoflavonoids	$C_6-C_3-C_6$
Lignans, neolignans	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonoids	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Lignins	$(C_6-C_3)_n$
Condensed tannins (proanthocyanidins or flavolans)	$(C_6-C_3-C_6)_n$

ที่มา : Balasundram และคณะ (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของกรดฟีนอลิก (phenolic acids) (a) กรดไฮโดรเบนโซอิก และ (b) กรดไฮโดรซินามิก  
ที่มา : Balasundram และคณะ (2006)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์  
ที่มา : Balasundram และคณะ (2006)

ประโยชน์ของสารประเภทโพลีฟีนอล

- 1) ป้องกันการเกิดเนื้องอก มะเร็ง ด้วยคุณสมบัติต่อต้านออกซิเดชันของสาร โพลีฟีนอล
- 2) ป้องกันโรคหัวใจและเส้นโลหิตแตกในสมอง เนื่องจากสาร โพลีฟีนอลช่วยลดระดับแอลดีแอลคอเลสเตอรอล (LDL cholesterol) และไตรกลีเซอไรด์ แต่ช่วยเพิ่มระดับเฮซีดีแอลคอเลสเตอรอล (HDL cholesterol) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลที่ช่วยกำจัดเกร็ดเลือดที่เกาะตามผนังเส้นเลือดใหญ่ออกไป
- 3) ลดความดันโลหิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) ลดระดับน้ำตาลในเลือด โพลีฟีนอลช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะมีเลส (amylase) ที่ทำหน้าที่เร่งการย่อยโมเลกุลแป้งไปเป็นน้ำตาล

5)ต่อต้านออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในสมอง โพลีฟีนอลอาจช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) โดยรวมกับโลหะที่กระตุ้นให้เกิดการสะสม amyloid beta peptide ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี (อาจรวมอลูมิเนียม และแมงกานีสด้วย) ซึ่งทำให้เป็นโรคนี (ทวิเม, 2550)

## 2.5 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์

สารต้านจุลินทรีย์มีคุณสมบัติ ขอบข่าย และการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้ง หรือทำลายจุลินทรีย์ โดยการขัดขวางการสร้างส่วนต่างๆ ของเซลล์ คือ ออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ ระดับเยื่อหุ้มเซลล์และสุดท้ายออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึม (มาลิน, 2540)

### 2.5.1 การออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์

โดยไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ทั้งนี้แบคทีเรียและราต่างมีผนังเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุดของเซลล์ เป็นชั้นที่แข็งแรง คงทน เพื่อทำหน้าที่ป้องกันสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ แต่ลักษณะโครงสร้างผนังเซลล์ของกลุ่มเชื้อทั้งสองต่างกัน สำหรับแบคทีเรียผนังเซลล์เป็น โครงสร้างสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดของแบคทีเรียตามลักษณะการติดสีแกรม (gram-stain) และการติดสีแบบเอซิด ฟาสต์ (acid – fast) การย้อมแบคทีเรียด้วยวิธีแบบแรก ทำให้สามารถแบ่งแบคทีเรียเป็นสองพวก คือ พวกแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียทั้งสองพวกนี้มีโครงสร้างพื้นฐานของผนังเซลล์เป็นเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) แบคทีเรียแกรมบวก มีส่วนนี้หนามากกว่าพวกแกรมลบ แต่พวกแกรมลบมีส่วนของไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) หุ้มรอบอีกชั้นหนึ่ง สารต้านจุลินทรีย์ชนิดที่มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์เปปติโดไกลแคน ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ไม่แข็งแรง แบคทีเรียแบ่งตัวไม่ได้ ได้แต่ยืดอกอก และเกิดรูที่ผนังเซลล์ ทำให้องค์ประกอบภายในเซลล์ไหลออกมาภายนอก และแตกในที่สุด

### 2.5.2 การออกฤทธิ์ที่ระดับเยื่อหุ้มเซลล์

โดยสารต้านจุลินทรีย์จะไปรบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่ถัดจากผนังเซลล์เข้ามา หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์โดยทั่วไปคือเป็น osmotic barrier ที่ช่วยป้องกันไม่ให้สารต่างๆ เข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป อีกทั้งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับ electron transport และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

oxidative phosphorylation ทำให้ตัวเซลล์แบคทีเรียถูกปล่อยออกมาน้อยลง นอกจากนี้จะเข้าไปแทรกระหว่างโปรตีนและไลโปคของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการฉีกขาด เป็นผลให้สารในไซโทพลาสซึมไหลออกมา ทำให้เซลล์ตาย

### 2.5.3 การออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโทพลาสซึม

โดยไปยับยั้งการนำไทมีน (thymine) เข้าจับกับนิวคลีโอไทด์ ตัวอื่นๆ ทำให้การสร้าง DNA ไม่สมบูรณ์ และไปยับยั้งการสร้างโปรตีนโดยไปทำให้กรดอะมิโน ไม่สามารถต่อกันเป็นโพลีเปปไทด์ได้ จึงไม่สามารถสร้างโปรตีนได้

## 2.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารต้านจุลินทรีย์

การทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารต้านการเจริญมีหลากหลายวิธีด้วยกัน อาจจะทำการทดสอบในหลอดทดลอง หรือการนำไปทดสอบในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งวิธีการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารทดสอบในขั้นต้น และสามารถแบ่งย่อยได้ 2 แบบ คือ Endpoint Screening Method และ Descriptive Screening Method (Tongson, 2005)

### 2.6.1 Endpoint Screening Method

Endpoint Screening Method เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารเบื้องต้นก่อนที่จะนำสารต้านจุลินทรีย์ที่ผ่านการทดสอบใช้จริงในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป โดยทั่วไปแบ่งการทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารด้วยวิธีนี้ได้ 3 รูปแบบคือ (Tongson, 2005)

#### 2.6.1.1 Gradient plate

Gradient plate เป็นวิธีการทดสอบที่คล้ายคลึงกับวิธี agar dilution ซึ่งจะทำการทดสอบโดยห่อมอาหารแล้วเทบนจานเพาะเชื้อ โดยยกให้ด้านใดด้านหนึ่งของจานสูงกว่าอีกด้านทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง จากนั้นจึงเททับด้วยสารทดสอบที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆ แล้วจึงเพาะเชื้อลงไปให้อาหารดังกล่าวด้วยเทคนิค spread plate หรือ streak plate ซึ่งในจานเพาะเชื้ออาจจะลงเชื้อได้หลายตัว ข้อดีของวิธีนี้ คือ สามารถทดสอบจุลินทรีย์ได้หลายสายพันธุ์ในการทดสอบแต่ละครั้ง

#### 2.6.1.2 Agar and broth dilution susceptibility test

agar และ broth dilution susceptibility test มีหลักการทดสอบคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ สารที่ต้องการทดสอบจะถูกเจือจางในอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงใน/บนอาหารที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆ เหล่านี้ ภายหลังการบ่มจะสังเกตความขุ่นหรือไม่ขุ่น และมีหรือไม่มีเชื้อเจริญบน agar แล้วหา MIC

วิธี Agar dilution test สารที่ต้องการทดสอบจะถูกเจือจางลงเป็นลำดับ ส่วนในอาหารที่หลอมและเทลงบนจานเพาะเชื้อ จากนั้นจึงเพาะเชื้อบนอาหารที่เทไว้ ซึ่งอาจจะลงเชื้อเพียงสายพันธุ์เดียวหรืออาจจะใช้หลายสายพันธุ์ก็ได้ ทำโดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ (loop) ในการถ่ายเชื้อ และให้มีเชื้อประมาณ  $1 \times 10^4$  โคโลนี/จุด จากนั้นนำเชื้อไปบ่ม เป็นเวลา 24 หรือ 48 ชั่วโมง ประเมินผลถ้าเชื้อเจริญเพียงโคโลนีเดียว หรือไม่เจริญ แสดงว่าสารนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ ข้อดี คือสามารถทดสอบเชื้อ ได้หลายสายพันธุ์ในการทดสอบเพียงครั้งเดียว แต่มีข้อเสีย คือ เกิดการปนเปื้อน (contamination) ได้ง่าย

วิธี Broth dilution test สารที่ทดสอบจะเตรียมความเข้มข้นของสาร โดยเจือจางลงเป็นลำดับส่วนด้วยอาหารเหลวในหลอดทดลอง จากนั้นจึงเพาะเชื้อลงในหลอดทดลองดังกล่าว โดยให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น  $5 \times 10^5$  โคโลนี/หลอด นำไปบ่ม 24 ชั่วโมง สังเกตความขุ่นถ้าตัวอย่างหลอดใดไม่ขุ่นแสดงว่าเชื้ออาจจะไม่เจริญ ซึ่งเป็นการแสดงถึงประสิทธิภาพของสารทดสอบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

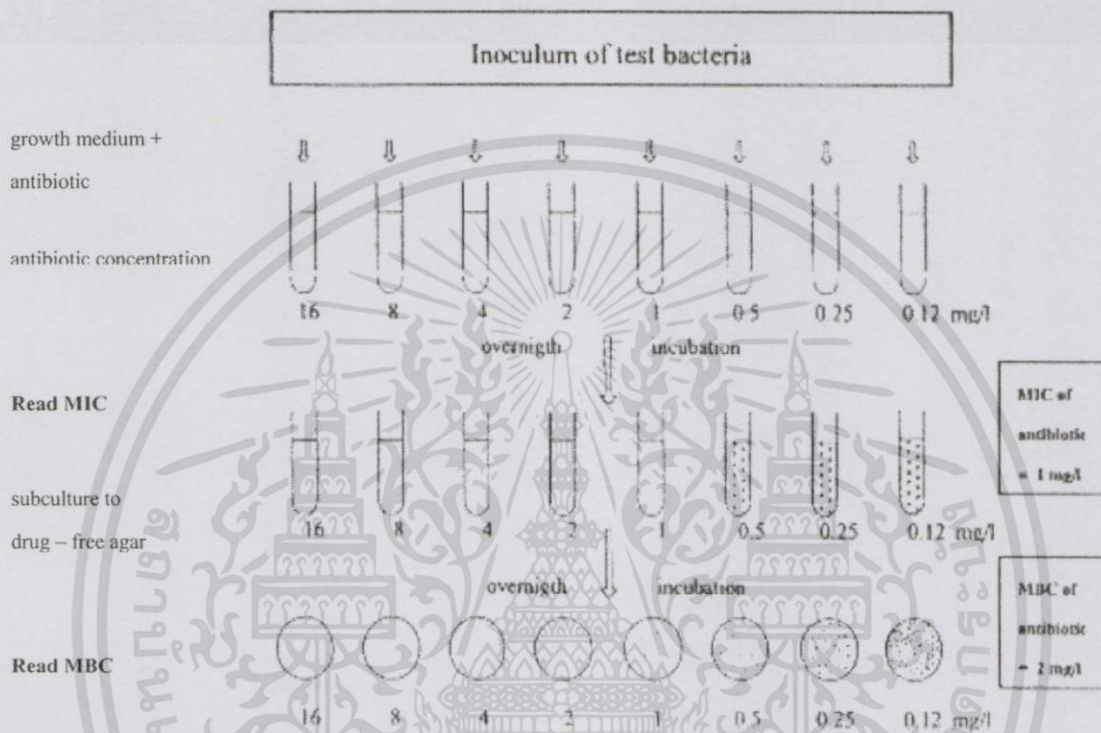
วิธี agar และ broth dilution test เป็นวิธีทดสอบการเหลือรอดของเชื้อ เมื่อได้รับสารต้านจุลินทรีย์ที่มีการกำหนดเวลาสิ้นสุด (endpoint in time) การทดสอบนี้อาจจะเรียกว่า minimum inhibitory concentration (MIC) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่เจริญ

ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถทำให้ทราบถึงการออกฤทธิ์ของสารทดสอบที่มีต่อเชื้อแบคทีเรียได้ว่าสารนั้นมีฤทธิ์แบบยับยั้ง (Bacteriostatic) หรือออกฤทธิ์แบบทำลาย (Bactericidal)

การหาความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimal inhibitory concentration, MIC) โดยเทคนิคการเจือจางในอาหารเหลว (broth dilution technique) เป็นวิธีที่อาศัยหลักการติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ปริมาณคงที่ ในสารต้านจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยทำ 2-fold dilution ตามลำดับ มีหลอดควบคุม (control) เป็น media ที่ไม่มีสารต้านจุลินทรีย์ แล้วนำเชื้อที่ทดสอบในปริมาณที่เหมาะสม ใส่ลงสารละลายที่เตรียมไว้ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ในปริมาณที่เท่ากัน ไปบ่มที่อุณหภูมิในเวลาที่กำหนด นำมาสังเกตความขุ่น ความขุ่นที่เกิดขึ้นแสดงให้เห็นว่า เชื้อจุลินทรีย์ไม่ถูกยับยั้งการเจริญโดยยาหรือสารละลายที่กล่าวว่ามีฤทธิ์ต้าน จุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นนั้นๆ จุดตัดสิน (break point) คือ ระหว่างที่ความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็นสารละลายใสกับความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็นสารละลายขุ่น จุดนี้เรียกว่า minimal inhibition concentration (MIC) ซึ่งค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาเป็นไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง (in vitro) ได้ ความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็นสารละลายใสตัวสุดท้ายตามลำดับก่อนที่จะถึงความเข้มข้นของสารที่แสดงผลเป็นค่า MIC ขึ้นไปนำมาตะบนอาหารวุ้น ภายหลังการบ่มเพาะ สังเกตว่ามีหรือ ไม่มีเชื้อเจริญขึ้นมา และดูว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่เจริญหรือเกือบไม่เจริญ ค่าที่ได้ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อ (ถ้าเป็นแบคทีเรีย เรียกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

minimal bactericidal concentration, MBC และถ้าเป็นเชื้อราจะเรียกว่า minimal fungicidal concentration, MFC) นำค่าที่ได้นี้ไปเปรียบเทียบกับค่า MIC ถ้าค่าทั้งสองเท่ากันหรือไม่เกินสองความเข้มข้น แสดงว่าสารสกัดนั้นมีศักยภาพฆ่าเชื้อ แต่ถ้าสารสกัดมีศักยภาพหลายความเข้มข้น แสดงว่าสารสกัดนั้นมีศักยภาพเฉพาะการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 วิธีทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อ (MBC)

ที่มา : Mims และคณะ (2004)

### 2.6.1.3 Agar diffusion method

อาศัยหลักการแพร่ซึม (diffusion) โดยสารละลายที่ต้องการทดสอบจะแพร่จากจุดเริ่มต้นออกไปในอาหารที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์จะเป็นสัดส่วน โดยตรงกับระยะทาง ดังนั้นในความเข้มข้นหนึ่งจะพบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถถูกยับยั้งการเจริญเติบโตได้จะปรากฏโซนใส (inhibition zone) หลังจากบ่มครบเวลาที่กำหนด ซึ่งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสนี้ใช้หน่วยเป็นมิลลิเมตร บอกถึงความสามารถของสารต้านจุลินทรีย์ว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้มากน้อยเพียงใด แต่ถ้าไม่เกิดโซนใสหรือโซนใสมีขนาดเล็กกว่ากำหนดจะถือว่าเชื้อดื้อยา (resistance) คือ สารนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์น้อย หรือไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งนั่นเอง และขนาดของโซนใสจะขึ้นกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ (physico – chemical properties) ของสารแต่ละตัวซึ่งมีผลให้อัตราการซึมผ่านต่างกัน วิธีนี้ทำให้หลายรูปแบบขึ้นกับชนิดของสิ่งที่รองรับ (reservoir) และมักเรียกชื่อวิธีการตามสิ่งที่รองรับที่ใช้ เช่น สิ่งรองรับที่เป็นหลุมซึ่งได้จากการเจาะหลุมในอาหารวุ้น แล้วเติมสารละลายลงไปจะเรียกว่าวิธี agar – well diffusion method ถ้าสิ่งรองรับเป็นกระดาษชั้บกลมซึ่งใส่สารละลายก่อนวางบนอาหารวุ้น จะเรียกว่า agar – disc diffusion method สิ่งรองรับเป็นถ้วยโลหะไม่เป็นสนิมทรงกระบอกจะเรียกว่า วิธี cup diffusion method โดยทั่วไปการใช้สิ่งรองรับเป็นกระดาษชั้บกลม จะเป็นที่ยอมรับมากกว่าอย่างอื่น แต่ในการตรวจสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดใช้สิ่งรองรับที่เป็นหลุมเจาะจะให้ผลที่เด่นชัดกว่า

### 2.6.2 Descriptive Screening Method

ในขณะที่การทดสอบวิธี endpoint method จะเป็นการประเมินสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารทดสอบที่ให้ข้อมูลเกี่ยวกับกลไกการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสาร ได้ไม่มากนัก ซึ่งวิธีการทดสอบแบบ Descriptive Screening Method จะสามารถที่จะอธิบายถึงกลไกการทำงานของสารด้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้ชัดเจนกว่า โดยทั่วไปในการผลิตอาหารส่วนมาก ผู้ผลิตจะต้องทราบถึงปริมาณต่ำสุดของสารต้านจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสีย หรือกลุ่มที่ก่อโรคที่อาจปนเปื้อนในอาหาร และมีสมบัติสามารถยักช่วง lag phase ของจุลินทรีย์ได้ ด้วยสาเหตุนี้จึงจำเป็นต้องหาค่า MIC และจำเป็นอย่างมากที่ต้องทราบ growth over time ของจุลินทรีย์ ซึ่งวิธีการทดสอบมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน แต่ที่นิยมใช้สามารถแบ่งได้ 2 รูปแบบ คือ

#### 2.6.2.1 Turbidimetric assay

เป็นวิธีการทดสอบที่ค่อนข้างง่าย และประหยัด หลักการคือ เป็นการติดตามการเจริญของจุลินทรีย์จากความขุ่นที่เกิดขึ้น โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในการวัดข้อจำกัดของวิธีนี้ คือ การวัดความขุ่นด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์จะวัดความขุ่นของจุลินทรีย์ได้เมื่อมีปริมาณเชื้ออยู่ในช่วง  $10^6 - 10^7$  โคโลนี/มิลลิลิตร ซึ่งถ้าเชื้อมีปริมาณน้อยทำให้ไม่สามารถมองเห็นความขุ่นที่เกิดขึ้นด้วยสายตาดำเนินจากเชื้อมีปริมาณต่ำกว่า  $10^5$  โคโลนี/มิลลิลิตร เครื่องจะไม่สามารถวัดค่าได้ (ถ้าการดูดกลืนแสงจะไม่เพิ่มขึ้น) ทำให้หารแปลผลอาจจะผิดพลาดได้

#### 2.6.2.2 Inhibition or Killing curve

เป็นวิธีการทดสอบสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารที่มีการเพาะเชื้อจุลินทรีย์และติดตามการเจริญของเชื้อโดยการนับเซลล์ที่เหลือรอดเป็นช่วงเวลา ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบที่ให้ผลถูกต้องแม่นยำมากกว่าวิธีอื่นๆ และเมื่อนำข้อมูลมาสร้างเป็นกราฟทำให้การแปลผลง่ายขึ้น

## 2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของมะม่วง

นภลัช (2549) ได้ศึกษาสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีโอกาสปนเปื้อนในโยเกิร์ต พบว่า เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงดิบ 4 พันธุ์ คือ มะม่วงแก้ว มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงเขียวเสวย และมะม่วงฟ้าลั่น มาศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ (*E. coli*, *S. anatum*, *Staph. aureus*, *L. innocua*) และแบคทีเรียแลคติก 2 สายพันธุ์ (*Lb. plantarum*, *P. pentosaceus*) ด้วยวิธีการให้สารที่ทดสอบแพร่ในอาหารวุ้น (agar disc diffusion method) พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะม่วงทั้ง 4 พันธุ์ ให้ผลการยับยั้ง *Staph. aureus* เพียงสายพันธุ์เดียว โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วให้ผลการยับยั้งดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากเปลือกมะม่วงพันธุ์อื่นๆ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน

ชัชรินทร์ และคณะ (2551) ศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วต่อการยับยั้งเชื้อ *Staph. aureus* ในไส้แอสเลอร์ พบว่า นำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมาผสมในไส้แอสเลอร์เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* โดยเลือกใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อกรัม เนื่องจากเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ได้ พบว่า สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัม มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่า และเมื่อทำการทดสอบความแตกต่าง โดยการประเมินทางด้านประสาทสัมผัส โดยการทดสอบกลิ่นและรสชาติ พบว่า ไส้ครีมแอสเลอร์ที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกรัม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากไส้แอสเลอร์ที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

Abdalla และคณะ (2007) ศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านจุลินทรีย์จากสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงและน้ำมันสกัดจากเมล็ดมะม่วง พบว่าการใช้สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงร่วมกับน้ำมันสกัดจากเมล็ดมะม่วงจะออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้มากกว่าการใช้สารเพียงอย่างเดียว และเมื่อนำมาผสมกับน้ำมันทานตะวันแล้วนำไปใช้ทอดมันฝรั่ง พบว่า สารสกัดจากเมล็ดมะม่วงสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยับยั้งการเจริญของ โคลิฟอร์มได้ นอกจากนี้เมื่อนำสารสกัดจากเมล็ดมะม่วงไปใส่ในน้ำมันว้าวพาสเจอร์ไรส์ยังทำให้ยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำมันว้าวพาสเจอร์ไรส์ดังกล่าวอีกด้วย

Kabuki และคณะ (2000) ศึกษาลักษณะการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วง พบว่า จากการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อของสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงที่มีต่อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค 18 สปีชีส์ 43 สายพันธุ์ ด้วยวิธีการให้สารที่ทดสอบแพร่ในอาหารวุ้น (agar dilution method) สารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงมีผลในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก

มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ การต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงมีความคงตัวที่  
ความร้อน 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หรือแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง มีค่า  
pH อยู่ในช่วง 3 - 9 สารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วงมีปริมาณ โพลีฟีนอลร้อยละ 79.5 มี  
คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 21.7



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

## วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง

### 3.1 วัสดุอุปกรณ์

#### 3.1.1 วัสดุดิบ

- ตัวอย่างลูกขုပ်

ร้านที่ 1 ตลาดท่าน้ำปากเกร็ด นนทบุรี

ร้านที่ 2 ศูนย์การค้าฟิวเจอร์พาร์ครังสิต ปทุมธานี

ร้านที่ 3 ตลาดสะพานใหม่ กรุงเทพฯ

ร้านที่ 4 ตลาดหลักสี่ กรุงเทพฯ

ร้านที่ 5 ตลาดดอนเมือง กรุงเทพฯ

ร้านที่ 6 ศูนย์การค้าซีคอนสแควร์ ด.ศรีนครินทร์ กรุงเทพฯ

ร้านที่ 7 สนามบินสุวรรณภูมิ เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ร้านที่ 8 ศูนย์การค้าเดอะมอลล์บางกะปิ กรุงเทพฯ

ร้านที่ 9 ร้านสุภัตรา ศูนย์การค้าสยามพารากอน กรุงเทพฯ

ร้านที่ 10 ร้าน S & P ศูนย์การค้าสยามพารากอน กรุงเทพฯ

- มะม่วงแก้วดิบ ตลาดไท จ.ปทุมธานี

- ถั่วเขียวกะเทาะเปลือก ตราเดียว

- น้ำตาลทรายขาว ตรามิตรผล

- กะทิกล่อง UHT ตราชาวเกาะ

- ไข่ผง ตราเฮลตี้ปเตอร์

- สีส้มอาหาร ตราวินเนอร์

- เกลือ ตราปรุฑทิพย์

#### 3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

- กระดาษทองเหลือง

- เต้าแก๊ส

- เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์

- ตู้บ่มเพาะเชื้อ

Lucky flame DC-502, Thai

Mettler-ToledoDragon 3002,

Switzerland

Binder รุ่น BD 115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตู้เย็น	Hitachi
- เครื่องผสมสารละลายในหลอดทดลอง	Labnet รุ่น VX100
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	Julabo รุ่น TW12, Germany
- ตู้เขี่ยเชื้อ	Esco smart control, Singapore
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ	ISOLAB รุ่น LAC-5060, Korea
- ตู้อบลมร้อน	Heraeus B6420, Germany
- เครื่องระเหยแบบหมุน	Büchi Labortechnik AG รุ่น R-200, Switzerland
- UV Spectrophotometer	Shimadzu, Japan
- เครื่องปั่น	Philips รุ่น twist HR 1707, Indonesia
- paper disc เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มม.	Schleicher & Schuell Microscience GmbH, Germany
- เทอร์โมมิเตอร์	
- กระดาษกรอง Whatman No. 2	

### 3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- Biard – Parker agar (BPA)	Difco, France
- Trypticase soy agar (TSA)	Merck, Germany
- Trypticase soy broth (TSB)	Merck, Germany
- Peptone	Merck, Germany
- Brain Heart Infusion (BHI)	Difco, France
- Rabbit plasma	Difco, France
- Egg – Yolk tellurite emulsion	Merck, Germany
- Gallic acid	Sigma Chemical Co., USA
- Folin-Ciocalteu	Sigma Chemical Co., USA
- Sodium carbonate	Sigma Chemical Co., USA
- Nutrient agar (NA)	Merck, Germany
- เอธานอลร้อยละ 95	Merck, Germany
- น้ำกลั่น	

### 3.1.4 เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ต่างๆ ที่จำเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2 วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.2.1 การเก็บตัวอย่างขนมลูกชุบ

เก็บตัวอย่างขนมลูกชุบที่วางจำหน่ายตามท้องตลาดจำนวน 10 ร้านค้า ในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล นำตัวอย่างแต่ละร้านค้า แบ่งเป็น 2 ส่วน ทำการเก็บที่ 2 สภาวะ คือ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บไว้ในตู้เย็น

#### 3.2.2 การตรวจเชื้อ *Staph. aureus* จากตัวอย่างขนมลูกชุบ

ตรวจเชื้อเชื้อ *Staph. aureus* จากตัวอย่างขนมลูกชุบ จำนวน 10 ร้านค้าจากตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บไว้ในตู้เย็น โดยสุ่มตรวจทุก 8 ชั่วโมงจนครบ 40 ชั่วโมง (0, 8, 16, 24, 32 และ 40 ชั่วโมง) เพื่อคู่อัตราการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ที่สภาวะการเก็บทั้งสอง

#### 3.2.3 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว (นภชลัช, 2549)

##### 3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกมะม่วง

นำมะม่วงดิบเปลือกเขียวพันธุ์แก้ว มาล้างให้สะอาดและปอกเปลือกโดยใช้มีด 2 ซม. นำเปลือกที่ได้มานึ่งเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นและหั่นเป็นชิ้นขนาด 1x2 เซนติเมตร

##### 3.2.3.2 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว นำเปลือกมะม่วงแก้วที่หั่นเป็นชิ้น 40 กรัม ผสมกับเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 400 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นที่มีความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าที่มีอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 2 ระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้ได้สารสกัดเข้มข้น โดยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดแก้วสีชาที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

#### 3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ คือ *Staph. aureus* ใช้วิธี Agar disc diffusion ซึ่งอาศัยการแพร่ซึมของสารละลายที่ต้องการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบไว้แล้ว โดยใช้กระดาษซับกลม (paper disc) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเป็นตัวรองรับสารละลายภายหลังการบ่มแปรผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส (inhibition zone) ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร และขั้นตอนมีดังนี้

#### 3.2.4.1 การเตรียมเชื้อตั้งต้นเพื่อใช้ในการทดสอบ

นำเชื้อ *Staph. aureus* ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างลูกซุบ มาทำการถ่ายเชื้อ 1 หลู ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth + 0.6 % Yeast Extract (TSB – YE) บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16– 18 ชั่วโมง ทำการถ่ายเชื้อต่อโดยถ่ายเชื้อ 1 หลู ลงใน TSB – YE เช่นเดิม นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 -18 ชั่วโมง นำเชื้อที่เจริญในช่วงการบ่มเวลา 16– 18 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณเชื้อ  $10^8$  โคโลนี/กรัม เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในขั้นตอนต่อไป

#### 3.2.4.2 การเตรียมสารละลายสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

นำแผ่นกระดาษซับกลม (paper disc) ที่ปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร มาหยดสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในตัวทำละลายเอธานอลร้อยละ 40 อย่างละ 1 แผ่น โดยหยดด้วย Auto pipette ครั้งละ 40 ไมโครลิตร ปล่อยให้แห้งแล้วหยดอีก 1 ครั้งจะได้แผ่น paper disc ที่มีสารสกัดปริมาตร 80 ไมโครลิตร นำไปวางบนผิววุ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ใช้คลอแรมเฟนิคอล (chloramphenical) 30 ไมโครกรัมต่อแผ่นกระดาษซับกลม เป็น Positive control และใช้เอธานอลร้อยละ 40 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ในแผ่นกระดาษซับกลม เป็น Solvent control ทำการทดสอบ 3 ครั้ง

#### 3.2.5 ศึกษาปริมาณสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus* ที่แยกได้จากตัวอย่างขนมลูกซุบ

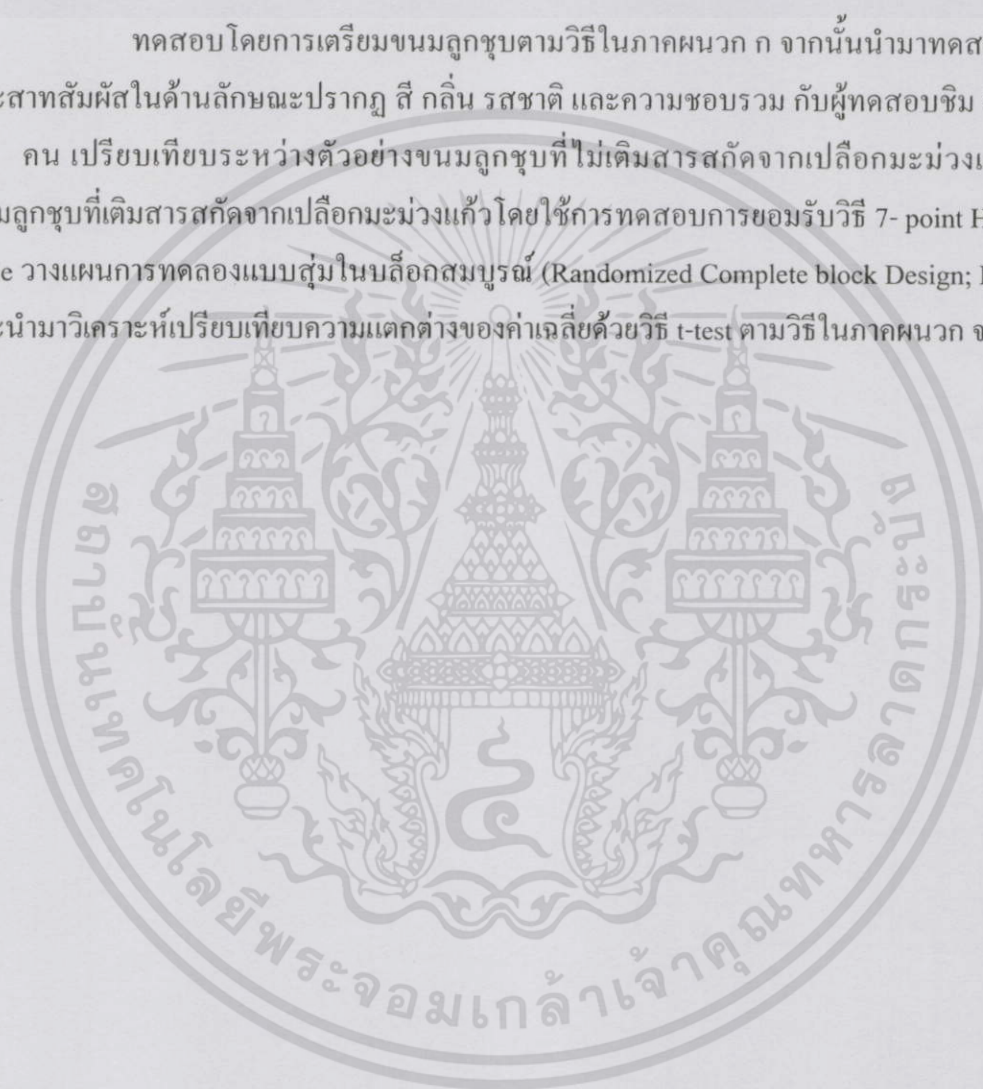
##### ชุดทดสอบ

- ขนมลูกซุบ
- ขนมลูกซุบ + สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว
- ขนมลูกซุบ + เชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ  $10^2$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร
- ขนมลูกซุบ + เชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ  $10^2$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร+ สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว 12.5 มิลลิกรัม/กรัมของขนมลูกซุบ
- ขนมลูกซุบ + เชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร
- ขนมลูกซุบ + เชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร+ สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว 12.5 มิลลิกรัม/กรัมของขนมลูกซุบ

บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนเชื้อ *Staph. aureus* โดยวิธี spread plate ทุก 3 ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทำการสุ่มตัวอย่าง ทั้งหมด 3 ครั้ง

### 3.2.6 ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

ทดสอบโดยการเตรียมขนมลูกชุบตามวิธีในภาคผนวก ก จากนั้นนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบรวม กับผู้ทดสอบชิม จำนวน 30 คน เปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างขนมลูกชุบที่ไม่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วกับขนมลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว โดยใช้การทดสอบการยอมรับวิธี 7-point Hedonic scale วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete block Design; RCBD) และนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี t-test ตามวิธีในภาคผนวก จ



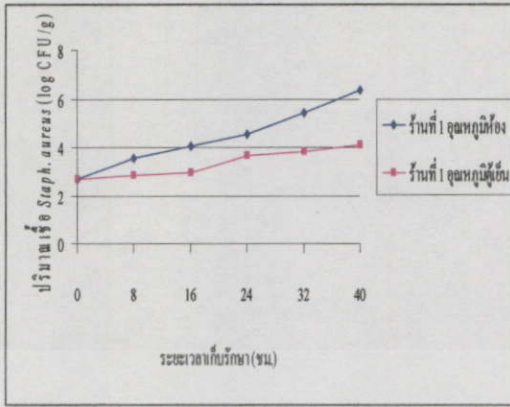
## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

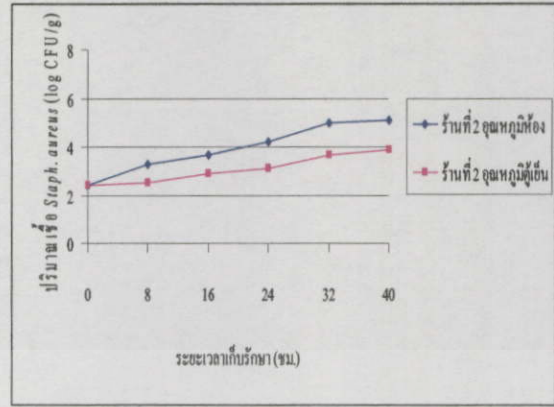
#### 4.1 ผลการตรวจเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้นของตัวอย่างขนมลูกชุบ

เมื่อนำขนมลูกชุบจากท้องตลาด จำนวน 10 ร้าน โดยแบ่งเขตออกเป็น 3 กลุ่ม คือ เขตทางด้านเหนือของกรุงเทพฯ มี 5 ร้าน คือร้านที่ 1 ตลาดท่าหน้าปากเกร็ด ร้านที่ 2 ศูนย์การค้าฟิวเจอร์พาร์ครังสิต ร้านที่ 3 ตลาดสะพานใหม่ ร้านที่ 4 ตลาดหลักสี่ ร้านที่ 5 ตลาดดอนเมือง เขตทางด้านตะวันออกของกรุงเทพฯ 3 ร้าน คือร้านที่ 6 ศูนย์การค้าซีคอนสแควร์ ร้านที่ 7 สนามบิสสุวรรณภูมิ ร้านที่ 8 ศูนย์การค้าเดอะมอลล์บางกะปิ เขตศูนย์กลางของกรุงเทพฯ 2 ร้าน คือร้านที่ 9 ร้านสุพัตรา ศูนย์การค้าสยามพารากอน และร้านที่ 10 ร้าน S & P ศูนย์การค้าสยามพารากอน เพื่อสำรวจหาปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4.1 – 4.3 พบว่ามีจำนวน 2.66, 2.40, 3.46, 2.38, 2.61, 2.07, 3.31, 2.10, 2.24 และ 2.57 log CFU/g ตามลำดับ และเมื่อนำขนมลูกชุบไปเก็บรักษาไว้ 2 สภาวะ คือเก็บที่อุณหภูมิห้อง และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ทุกๆ 8 ชั่วโมง จนครบ 40 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* มีการเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทั้ง 2 สภาวะ แต่อัตราการเจริญของเชื้อในขนมลูกชุบในสภาวะเก็บที่อุณหภูมิห้องมีอัตราการเจริญของเชื้อที่เร็วกว่าการเก็บรักษาในตู้เย็น และเมื่อเปรียบเทียบกัน 10 ร้านค้า จะพบว่า ร้านที่ 3 ตลาดสะพานใหม่ และร้านที่ 7 สนามบิสสุวรรณภูมิ จะมีเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้นสูงที่สุด ร้านที่ 2 ศูนย์การค้าฟิวเจอร์พาร์ครังสิต จะเก็บไว้ได้นานที่สุด คือ เชื้อเจริญจากปริมาณเริ่มต้น 2.40 log CFU/g เป็นปริมาณสูงกว่า 5.12 log CFU/g เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 ชั่วโมง ส่วนร้านที่ 9 ร้านสุพัตราจะเก็บรักษาได้น้อยที่สุด คือเชื้อ *Staph. aureus* เพิ่มจาก 2.24 log CFU/g เป็น 7.89 log CFU/g เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

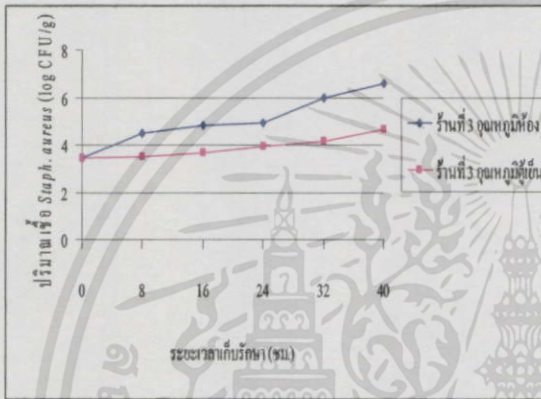
จากการตรวจพบ *Staph. aureus* ในตัวอย่างขนมลูกชุบทั้ง 10 ร้านค้าจะอยู่ในช่วง 2 – 3 log CFU/g โดยที่ร้านตลาดสะพานใหม่มีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้นมากที่สุด อาจเป็นเพราะอุณหภูมิที่วางจำหน่ายมีอุณหภูมิประมาณ 32 – 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* เพราะเชื้อจะเจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศ ในช่วงอุณหภูมิ 6.7 – 48 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิเหมาะสมในการเจริญจะอยู่ในช่วง 35-37 องศาเซลเซียส (Adam and Moss, 1995) ประกอบกับพฤติกรรมการขายของผู้ประกอบการที่มีการใช้มือหยิบจับผลิตภัณฑ์ จึงทำให้เป็นสาเหตุของการมีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้นมากที่สุด



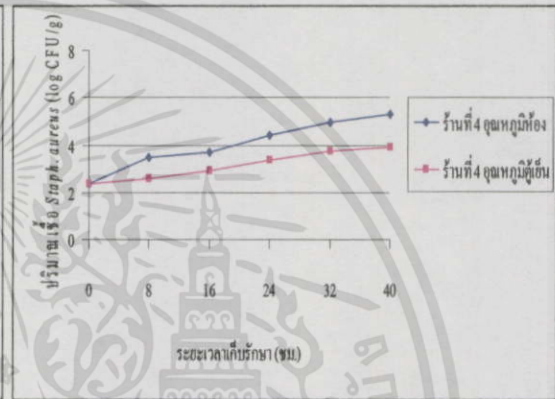
(ก)



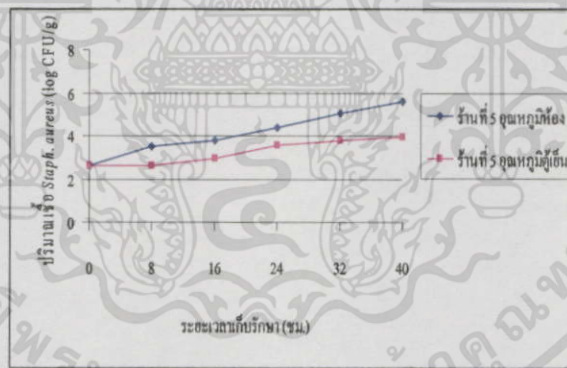
(ข)



(ค)



(ง)

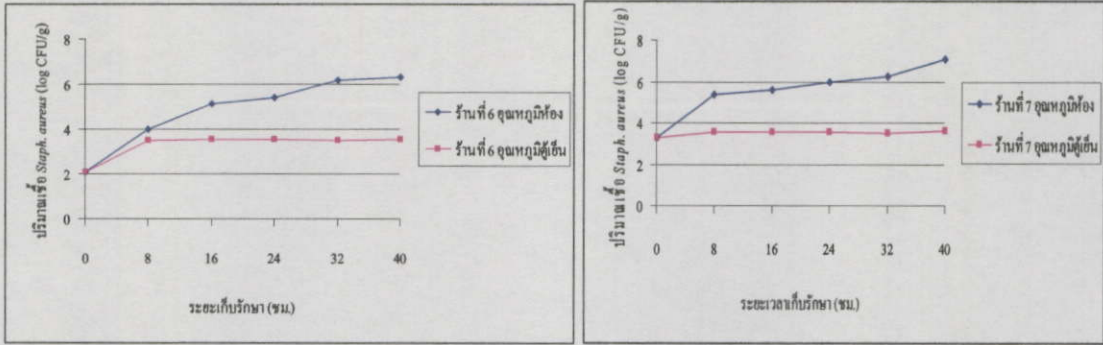


(จ)

ภาพที่ 4.1 ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ของขนมลูกชุบจากท้องตลาดในเขตทางด้านเหนือของ กรุงเทพฯ ที่เวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน (ก) ตลาดทำน้ำปากเกร็ด (ข) ศูนย์การค้า พิวเจอร์พาร์ครังสิต (ค) ตลาดสะพานใหม่ (ง) ตลาดหลักสี่ (จ) ตลาดดอนเมือง

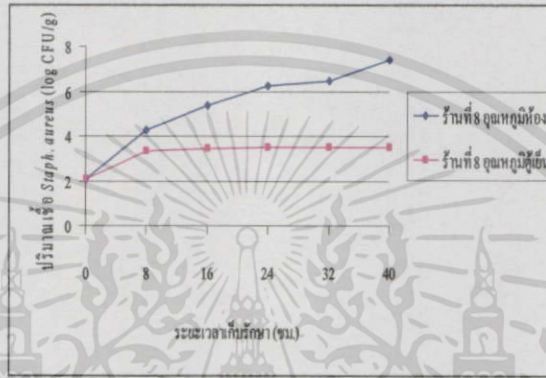
ส่วนร้านค้าที่อยู่ในศูนย์การค้านั้นส่วนใหญ่จะมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่น้อยกว่า เนื่องจากสภาวะการวางจำหน่ายนั้นอยู่ในอุณหภูมิที่ต่ำกว่าร้านที่อยู่ตามตลาดสด จึงแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษานั้นมีผลต่อปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้นของตัวอย่างที่ทำการเก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



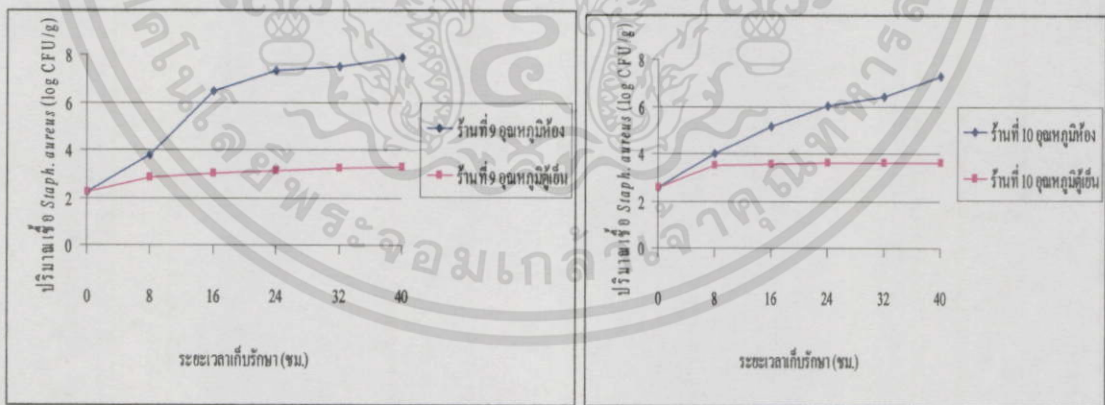
(ก)

(ข)



(ค)

ภาพที่ 4.2 ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ของขนมลูกชุบจากท้องตลาดในเขตทางคันตะวันออกของกรุงเทพฯ ที่เวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน (ก) ศูนย์การค้าซีคอนสแควร์ (ข) สนามบินสุวรรณภูมิ (ค) ศูนย์การค้าเดอะมอลล์บางกะปิ



(ก)

(ข)

ภาพที่ 4.3 ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ในขนมลูกชุบจากท้องตลาดในเขตศูนย์กลางของกรุงเทพฯ ที่เวลาและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน (ก) ร้านสุพัตรา ศูนย์การค้าสยามพารากอน (ข) ร้าน S & P ศูนย์การค้าสยามพารากอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้จากผลการทดลองยังพบว่า ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ *Staph. aureus* ในการเก็บตัวอย่าง ถึงแม้จะมีปริมาณน้อยมากในบางตัวอย่าง แต่ในระหว่างการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 ชั่วโมง อาจพบปริมาณเชื้อที่สูงกว่าตัวอย่างที่มีเชื้อเริ่มต้นมากกว่าถึง 1 log CFU ดังเช่น ตัวอย่างจากร้านตลาดทำน้ำปากเกร็ดมีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น 2.66 log CFU/g และร้านสนามบินสุวรรณภูมิมีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น 3.31 log CFU/g (ดังภาพที่ 4.1 ก และภาพที่ 4.2 ข ตามลำดับ) แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 ชั่วโมงจะมีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* 6.35 และ 7.05 log CFU/g ตามลำดับ ในขณะที่ร้านสุพรรณามีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้นที่น้อย คือ 2.24 log CFU/g (ดังภาพที่ 4.3 ก) แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 ชั่วโมงจะมีปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* สูงถึง 7.89 log CFU/g ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบของการผลิตขนมลูกชุบในแต่ละแห่งมีความแตกต่างกัน เช่น ในส่วนผสมของขนมลูกชุบอาจมีปริมาณน้ำตาลสูง ทำให้ขนมลูกชุบมีค่า  $a_w$  ต่ำกว่าร้านอื่น ซึ่งโดยปกติเชื้อ *Staph. aureus* จะสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มี  $a_w$  สูงถึง 0.97–0.99 (สุมณฑา, 2545) หรือในบางตัวอย่างที่มีเชื้อปนเปื้อนเริ่มต้นในปริมาณมาก แต่ตัวอย่างนั้นมีการใช้วัตถุดิบเสีย ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ทำให้การเจริญของเชื้อในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องช้ากว่าตัวอย่างที่ไม่มีการใช้วัตถุดิบเสีย เป็นต้น จึงทำให้การหาปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้นไม่สามารถบ่งบอกได้ถึงผลิตภัณฑ์จะมีการเสื่อมเสียจากเชื้อ *Staph. aureus* เมื่อใด

เมื่อทำการสุ่มเชื้อ *Staph. aureus* ที่ตรวจพบจากร้านค้า 10 ร้านจำนวนตัวอย่างละ 10 โคโลนี มาทดสอบการสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลส ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญในการแยกเชื้อ *Staph. aureus* ที่สามารถผลิตเอนเทอโรทอกซินที่มีอันตรายต่อผู้บริโภคจาก *Staph. aureus* ที่ไม่ผลิตเอนเทอโรทอกซิน เนื่องจาก *Staph. aureus* ที่สร้างเอนเทอโรทอกซินส่วนมากจะสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลสที่ทำให้พลาสมาของคนหรือกระต่ายแข็งตัวได้ ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลสของเชื้อ *Staph. aureus* แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าจำนวนร้านค้า 10 ร้านค้า มีเพียง 5 ร้านค้าที่พบ *Staph. aureus* สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์โคแอกกูเลสแสดงว่าเชื้อที่ได้จากทั้ง 5 ร้านนี้เป็น *Staph. aureus* ที่มีแนวโน้มเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจากการสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxins) (สุมณฑา, 2545)

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลสของ *Staph. aureus* ที่แยกได้จากตัวอย่าง  
ลูกชุบจากร้านค้าต่างๆ

ร้านค้าที่ทำการ ทดลอง	ปริมาณเชื้อ <i>Staph. aureus</i> เริ่มต้น (log CFU/g)	ผลการทดสอบ	ปริมาณ โคแอกกูเลส ของ <i>Staph. aureus</i> N = 10
1	2.66	+	7/10
2	2.40	+	6/10
3	3.46	+	10/10
4	2.38	-	0/10
5	2.61	-	0/10
6	2.07	+	6/10
7	3.31	-	0/10
8	2.10	-	0/10
9	2.24	+	6/10
10	2.57	-	0/10

หมายเหตุ ± = positive (แข็งตัว) , - = negative (ไม่แข็งตัว)

ร้านที่ 1 ตลาดน้ำปากเกร็ด

ร้านที่ 6 ศูนย์การค้าซีคอนสแควร์

ร้านที่ 2 ศูนย์การค้าฟิวเจอร์พาร์ค รังสิต

ร้านที่ 7 สนามบินสุวรรณภูมิ

ร้านที่ 3 ตลาดสะพานใหม่

ร้านที่ 8 ศูนย์การค้าเดอะมอลล์บางกะปิ

ร้านที่ 4 ตลาดหลักสี่

ร้านที่ 9 ร้านสุพัตรา ศูนย์การค้าสยามพารากอน

ร้านที่ 5 ตลาดดอนเมือง

ร้านที่ 10 ร้าน S & P ศูนย์การค้าสยามพารากอน

#### 4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents) ในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในเปลือกมะม่วงแก้ว พบว่ามีปริมาณ  $215.41 \pm 1.22$  มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด ดังตารางที่ 4.2 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับนกขลัซ (2549) คือสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด เท่ากับ  $220.80 \pm 4.8$  มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วใน  
ระยะเวลาช่วงต่างๆ

ระยะเวลา	ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกมะม่วง (มิลลิกรัมกรดแกลลิก/กรัมสารสกัด)
ช่วงเดือน เม.ย. 51	215.41±1.22 <sup>n</sup>
ช่วงเดือน ส.ค. 51	206.24±1.89 <sup>p</sup>
ช่วงเดือน มี.ค. 52	213.85±2.03 <sup>n</sup>

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาไทยที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

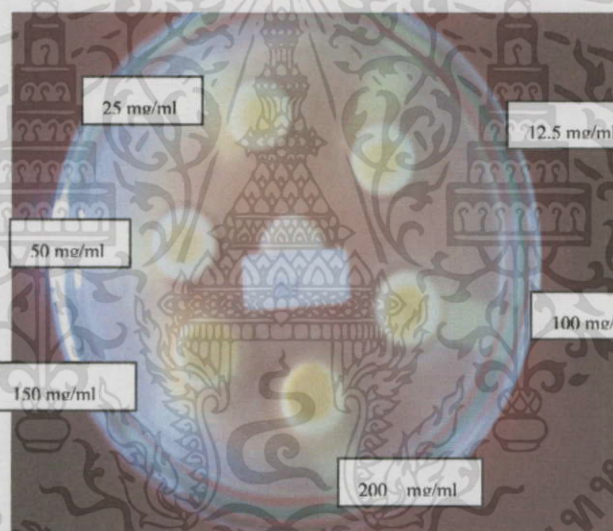
จากตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในช่วงฤดูร้อน (เดือนเมษายน พ.ศ. 2551 และเดือนมีนาคม พ.ศ. 2552) จะมีมากกว่าเปลือกมะม่วงแก้วในฤดูฝน (เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551) แสดงว่าช่วงระยะเวลาหรือฤดูกาลของมะม่วงจะมีผลต่อปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดที่แตกต่างกันได้

#### 4.3 ศึกษาปริมาณสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus* ที่แยกได้จากตัวอย่างขนมลูกชูป

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว โดยใช้การทดสอบด้วยวิธีให้สารสกัดแพร่ในอาหารวุ้น ซึ่งการต้านการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* โดยสารสกัดจะก่อให้เกิดวงใส (clear zone) รอบแผ่นกระดาษซับกลม (paper disc) ทดสอบโดยเตรียมสารละลายของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 12.5, 25, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ทดสอบกับเชื้อ *Staph. aureus* ที่คัดแยกได้จากข้อ 4.1 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีขนาดของวงใสรอบกระดาษซับกลมมากกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น สอดคล้องกับงานวิจัยของนภชลัช (2549) คือ ที่ระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น ขนาดของวงใสรอบกระดาษซับกลมจะกว้างขึ้นด้วย

ตารางที่ 4.3 ขนาดของวงใสรอบกระดาศษัปกกลมที่เกิดขึ้นในการทดสอบสมบัติการต้านการเจริญของ *Staph. aureus* โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นที่ทดสอบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดของวงใสรอบกระดาศษัปกกลม (มิลลิเมตร)
solvent control	0.0
12.5	1.5
25	1.6
50	1.7
100	2.0
150	2.2
200	2.3



ภาพที่ 4.4 ลักษณะวงใสรอบกระดาศษัปกกลมที่เกิดขึ้นเนื่องจากฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* โดยสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

จากนั้นจึงนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มาใช้ในการผลิตขนมลูกชุบที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *Staph. aureus* สอดคล้องกับงานวิจัยของนภชลัช (2549) ที่ได้ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายจุลินทรีย์ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว โดยการเจือจางแบบอัตราส่วน 1:2 (2 - fold dilution) ทำให้ทราบถึงช่วงระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลาย *Staph. aureus* ภายใน 24 ชั่วโมง ได้คือ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยสามารถทำลายเชื้อ *Staph. aureus* ได้ในชั่วโมงที่ 15 โดยมีชุดทดสอบดังต่อไปนี้

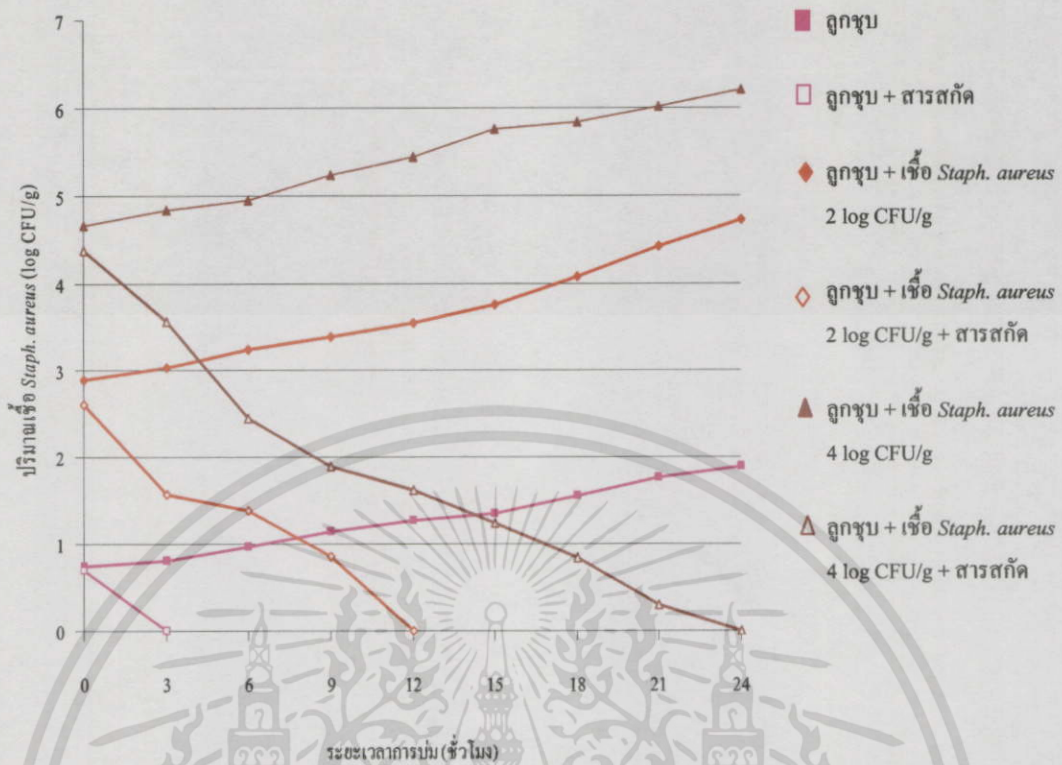
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ขนมหูกหุบ
- ขนมหูกหุบ + สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัม/กรัมของขนมหูกหุบ
- ขนมหูกหุบ + เชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ  $10^2$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร
- ขนมหูกหุบ + เชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ  $10^2$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร+ สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัม/กรัมของขนมหูกหุบ
- ขนมหูกหุบ + เชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร
- ขนมหูกหุบ + เชื้อ *Staph. aureus* ปริมาณ  $10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร+ สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัม/กรัมของขนมหูกหุบ

ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.4 จะเห็นว่า สมบัติของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วเป็นชนิดทำลายจุลินทรีย์ (bactericidal) โดยพิจารณาจากกราฟปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ (ภาพที่ 4.5) พบว่า ลดลงจนไม่มีการเจริญของเชื้อในระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.4 การเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ในตัวอย่างขนมหูกหุบที่อุณหภูมิห้องซึ่งเก็บรักษาที่ระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (ชั่วโมง)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ log CFU/g					
	หูกหุบ	หูกหุบ + สารสกัด 12.5 mg/g	หูกหุบ+เชื้อ $10^2$ CFU/g	หูกหุบ+เชื้อ $10^2$ CFU/g +สารสกัด 12.5 mg/g	หูกหุบ+เชื้อ $10^4$ CFU/g	หูกหุบ+เชื้อ $10^4$ CFU/g +สารสกัด 12.5 mg/g
0 ชั่วโมง	0.74	0.70	2.89	2.61	4.66	4.38
3 ชั่วโมง	0.81	0	3.04	1.57	4.84	3.56
6 ชั่วโมง	0.97	-	3.25	1.38	4.95	2.45
9 ชั่วโมง	1.14	-	3.39	0.86	5.23	1.90
12 ชั่วโมง	1.28	-	3.55	0	5.44	1.63
15 ชั่วโมง	1.35	-	3.76	-	5.76	1.24
18 ชั่วโมง	1.56	-	4.07	-	5.84	0.85
21 ชั่วโมง	1.77	-	4.43	-	6.02	0.31
24 ชั่วโมง	1.89	-	4.72	-	6.21	0



ภาพที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ในขนมลูกซูปที่ผสมเชื้อและสารสกัดกับระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

เมื่อนำผลจากตารางที่ 4.4 มาหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับ log CFU/g ลูกซูป เปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 ชั่วโมง แต่ละตัวอย่างแสดงดังภาพที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว โดยที่ถ้าขนมลูกซูปมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นน้อย สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วจะสามารถยับยั้งเชื้อได้ทั้งหมดในระยะเวลาอันสั้น แต่ถ้าขนมลูกซูปมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นในปริมาณมากก็จะทำให้ใช้เวลาในการยับยั้งเชื้อเพิ่มขึ้น

#### 4.4 ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของขนมลูกชุบที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

นำขนมลูกชุบที่ผลิตขึ้นจากวิธีตามภาคผนวก ก ปริมาณ 300 กรัม มาเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของขนมลูกชุบ ปริมาณ 3.75 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับขนมลูกชุบควบคุมที่ไม่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว ทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบรวม กับผู้ทดสอบชิม จำนวน 30 คน ใช้การทดสอบการยอมรับ โดยวิธี 7-point Hedonic scale วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete block Design; RCBD) และนำมาวิเคราะห์ที่เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี t-Test ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบการยอมรับของขนมลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

ตัวอย่าง	คะแนนการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัส (คะแนนเฉลี่ย)				
	ลักษณะปรากฏ*	สี*	กลิ่น <sup>ns</sup>	รสชาติ <sup>ns</sup>	ความชอบรวม <sup>ns</sup>
ลูกชุบไม่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว	6.77 ±0.43	6.60±0.50	6.07±0.87	6.07±0.45	6.20±0.71
ลูกชุบเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว	5.20±1.21	4.70 ±1.15	5.83±0.91	5.83±0.70	5.97±0.61

หมายเหตุ \* ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

<sup>ns</sup> ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดลองพบว่า ผู้ทดสอบ 30 คน ให้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ และด้านสีของลูกชุบที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วเท่ากับ 6.77 และ 6.60 คะแนน ตามลำดับ ส่วนลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วได้คะแนนเท่ากับ 5.20 และ 4.70 คะแนน ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยผู้ทดสอบส่วนใหญ่ชอบลักษณะปรากฏ และสีของขนมลูกชุบที่ไม่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในระดับชอบปานกลาง ส่วนขนมลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วจะมีคะแนนความชอบอยู่ในระดับเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อย เนื่องจากเมื่อเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วลงในเนื้อขนมลูกชุบจะทำให้เนื้อขนมมีสีที่คล้ำขึ้น ดังภาพที่ 4.6 (ก) และ (ข) จึงทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนนความชอบของผู้ทดสอบชิมต่ำกว่า ส่วนคะแนนความชอบด้านกลิ่น รสชาติ และ ความชอบรวมของขนมลูกชุบที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมีคะแนนเท่ากับ 6.07, 6.07 และ 6.20 คะแนน ตามลำดับ ส่วนลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วได้คะแนน เท่ากับ 5.83, 5.83 และ 5.97 คะแนน ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่าการเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในปริมาณดังกล่าวยังไม่ ส่งผลทางด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบรวมให้กับเนื้อขนมลูกชุบ จึงทำให้ผู้ทดสอบชิมให้ คะแนนความชอบที่ใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 4.6 เนื้อขนมลูกชุบ (ก) เนื้อขนมลูกชุบที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว  
(ข) เนื้อขนมลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

## บทที่ 5

# สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการทดลอง

เมื่อนำขนมลูกชุบจากท้องตลาด จำนวน 10 ร้าน โดยแบ่งเขตออกเป็น 3 กลุ่ม คือ เขตทางด้านเหนือของกรุงเทพฯ มี 5 ร้าน คือร้านที่ 1 ตลาดทำน้าปากเกร็ด ร้านที่ 2 ศูนย์การค้าฟิวเจอร์พาร์ค รังสิต ร้านที่ 3 ตลาดสะพานใหม่ ร้านที่ 4 ตลาดหลักสี่ ร้านที่ 5 ตลาดดอนเมือง เขตทางด้านตะวันออกของกรุงเทพฯ 3 ร้าน คือร้านที่ 6 ศูนย์การค้าซีคอนสแควร์ ร้านที่ 7 สนามบินสุวรรณภูมิ ร้านที่ 8 ศูนย์การค้าเดอะมอลล์บางกะปิ เขตศูนย์กลางของกรุงเทพฯ 2 ร้าน คือร้านที่ 9 ร้านสุพัตรา ศูนย์การค้าสยามพารากอน และร้านที่ 10 ร้าน S & P ศูนย์การค้าสยามพารากอน เพื่อสำรวจหาปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้น พบว่ามีจำนวน 2.66, 2.40, 3.46, 2.38, 2.61, 2.07, 3.31, 2.10, 2.24 และ 2.57 log CFU/g ตามลำดับ และเมื่อนำขนมลูกชุบไปเก็บรักษาไว้ 2 สภาวะ คือเก็บที่อุณหภูมิห้อง และเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* ทุก ๆ 8 ชั่วโมงจนครบ 40 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อ *Staph. aureus* มีการเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทั้ง 2 สภาวะ แต่อัตราการเจริญของเชื้อในขนมลูกชุบในสภาวะเก็บที่อุณหภูมิห้องมีอัตราการเจริญของเชื้อที่เร็วกว่าการเก็บรักษาในตู้เย็น และเมื่อเปรียบเทียบกับ 10 ร้านค้า จะพบว่าร้านที่ 3 ตลาดสะพานใหม่ และร้านที่ 7 สนามบินสุวรรณภูมิ จะมีเชื้อ *Staph. aureus* เริ่มต้นสูงที่สุด ร้านที่ 2 ศูนย์การค้าฟิวเจอร์พาร์ค รังสิต จะเก็บไว้ได้นานที่สุด คือ เชื้อเจริญจากปริมาณเริ่มต้น 2.40 log CFU/g เป็นปริมาณสูงกว่า 5.12 log CFU/g เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 ชั่วโมง ส่วนร้านที่ 9 ร้านสุพัตรา จะเก็บรักษาได้น้อยที่สุด คือเชื้อ *Staph. aureus* เพิ่มขึ้นจาก 2.24 log CFU/g เป็น 7.89 log CFU/g เมื่อบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเมื่อนำเชื้อ *Staph. aureus* ที่ได้มาทำการยืนยันผลโดยการทดสอบการสร้างเอนไซม์โคเอกกูเลส พบว่า *Staph. aureus* ที่ได้มีเชื้อเพียง 5 ร้าน จากตัวอย่างลูกชุบทั้งหมด 10 ตัวอย่าง คือร้านตลาดทำน้าปากเกร็ด ร้านศูนย์การค้าฟิวเจอร์พาร์ค รังสิต ร้านตลาดสะพานใหม่ ร้านศูนย์การค้าซีคอนสแควร์ และร้านสุพัตรา ศูนย์การค้าสยามพารากอน เป็นสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์โคเอกกูเลส แสดงว่าเชื้อที่ได้จากทั้ง 5 ร้าน เป็น *Staph. aureus* ที่มีแนวโน้มเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Staph. aureus* ที่เพิ่มขึ้นจากการเก็บที่ 2 อุณหภูมิ พบว่าที่อุณหภูมิและเวลาที่แตกต่างกันมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* โดยจะพบว่าที่เวลาเริ่มต้นการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* จะยังไม่มาก แต่เมื่อผ่านไปครบ 40 ชั่วโมง เชื้อจะมีการเจริญมากขึ้นเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง แต่สำหรับการเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นจะสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้ดีในเวลา 40 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาปริมาณสารสกัดที่ได้จากเปลือกมะม่วงแก้วต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staph. aureus* ที่แยกได้จากตัวอย่างขนมลูกชุบ พบว่าเมื่อใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 12.5, 25, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบด้วยวิธี Sensitive test พบว่าที่ระดับความเข้มข้นทั้ง 6 ระดับ มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* ได้ โดยที่ระดับความเข้มข้นที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staph. aureus* มากที่สุด โดยมีขนาดของวงใสรอบกระดาษซับกลมเรียงลำดับความเข้มข้นน้อยไปหามาก คือ 1.5, 1.6, 1.7, 2.0, 2.2 และ 2.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากผลการทดลองทำให้ทราบว่าสารสกัดที่ใช้มีแนวโน้มที่สามารถจะนำมาใช้ได้ดีกับขนมลูกชุบ และเมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มาผสมในตัวอย่างขนมลูกชุบที่เดิมเชื้อ *Staph. aureus* ในระดับ  $10^2$  และ  $10^4$  CFU/g เทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติม *Staph. aureus* และเก็บไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วความเข้มข้นดังกล่าวมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Staph. aureus* ที่พบในชุดควบคุมและเติมในขนมลูกชุบทั้ง 2 ระดับลงในระยะเวลา 3, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

สำหรับผลของการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของขนมลูกชุบที่ผสมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว พบว่าผู้ทดสอบ 30 คน ให้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ และด้านสี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยผู้ทดสอบชอบขนมลูกชุบที่ไม่เติมสารสกัดมากกว่าขนมลูกชุบที่เติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว เนื่องจากเมื่อเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วลงในขนมลูกชุบจะทำให้เนื้อขนมมีสีที่คล้ำขึ้น จึงทำให้คะแนนความชอบของผู้ทดสอบซิมต่ำกว่า ส่วนคะแนนความชอบด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบรวมนั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้เนื่องจากการเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วในปริมาณดังกล่าวเป็นปริมาณที่น้อย คือ ปริมาณร้อยละ 1.25 ของส่วนผสมขนมลูกชุบ ยังไม่ส่งผลทางด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบรวมกับขนมลูกชุบ จึงทำให้ผู้ทดสอบซิมให้คะแนนความชอบที่ใกล้เคียงกัน

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ในด้านของการผลิตขนมลูกชุบ ถ้าจะมีการนำสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วมาประยุกต์ใช้กับขนมลูกชุบเพื่อเป็นการปรับปรุงคุณภาพและลดอันตรายจากเชื้อ *Staph. aureus* ก็น่าจะเป็นอีกตัวเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากผู้บริโภคให้การยอมรับด้านกลิ่นและรสชาติได้ แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นควรจะมีการพัฒนาปรับปรุงเรื่องสีของเนื้อขนมลูกชุบ โดยอาจมีการเติมวัตถุติดบางชนิด เช่น ชาเขียว ชอคโกแลต เป็นต้น เพื่อเป็นการปรับปรุงสี หรือจะเป็นการเลือกสีในขั้นตอนก่อนการชุบวุ้นให้มีสีในโทนสีเข้มก็จะช่วยลดการไม่ยอมรับทางด้านสีของขนมลูกชุบที่มีการเติมสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วลงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- กัญญาลักษณ์ อ่อนแก้ว ลักษณะ จันทโรจิติ และจักรี ทองเรือง. 2548. การประยุกต์ใช้หลักการของ Hurdle concept เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาขนมลูกชุบ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- เกรียงศักดิ์ ภูษิต. 2549. สภาพที่เหมาะสมในการผลิตโยอาหารต้านปฏิริยาออกซิเดชันจากเปลือกมะม่วง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- ขนิษฐา อุ่มอารีย์. 2550. การใช้กลีเซอริน กัมอะราบิก และโซเดียมซิเตทในการยืดอายุการเก็บรักษาขนมลูกชุบ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร, กรุงเทพฯ.
- จันทร์เพ็ญ มะลิพันธ์. 2549. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากขิงและผลิตภัณฑ์ขิง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- ชัชรินทร์ คงประเสริฐ สุนทรี ต้นพิสัยไพสิฐ และปรัชญา คำภาษา. 2551. ผลของการใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในไส้แอสลร์. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- ณัฐนภัสต์ โสภากัทธิ ตั้งมงคลเลิศ และ รัชนิวรรณ วิภาคเบญจนาภาพ. 2549. การใช้สารสกัดจากเปลือกมะม่วงในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus*. ปัญหาพิเศษ คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.
- ทวิม. 2550. สารพันความรู้เกี่ยวกับสารอาหารเพื่อสุขภาพและความงาม ตอนที่ 1 โพลีฟีนอล : สารต่อต้านออกซิเดชัน. [Online]. Available : [http://www.charpa.co.th/e\\_mag/Charpa%20E-Journal%2010%20May%2007.pdf](http://www.charpa.co.th/e_mag/Charpa%20E-Journal%2010%20May%2007.pdf). [Accessed 2007 October 6].
- ธวัชชัย รัตน์ชเลศ พฤกษ์ ยิบมันตะสิริ และรุ่งทิพย์ อุทุมพันธ์. 2546. มะม่วงแก้ว : ไม้ผลเพื่อความหวังและฟื้นฟูทรัพยากรธรรมชาติ. กรุงเทพฯ : มติชน.
- นภชลัช ยอดพรหม. 2549. สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อจุลินทรีย์ก่อโรคที่มีโอกาสปนเปื้อนในโยเกิร์ต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาสุขภาพอาหาร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรบ. กรุงเทพฯ : โอเอส พรินติ้ง เฮ้าส์, 411 น.

นิรนาม. ม.ป.ป. **ขนมลูกชุบ**. [Online]. Available : <http://www.geocities.com/BourbonStreet/Delta/7219/Desserts/ic-thai-lukshoop.htm> [Accessed 2009 May 17].

ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม และวันทนี ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มสายพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในประเทศไทย. *อาหาร*. 32(4) : 300-307.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. หลักการวิเคราะห์อาหารด้วยประสาทสัมผัส. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปรีชา ไตรรัตน์ณรงค์. 2547. มะม่วง. หนังสือ คัมภีร์แพทย์สมุนไพร ผลไม้สมุนไพรและพืชผักสวนครัว. กรุงเทพฯ : วันเว็ลด์

พรรณวัลย์ บ้านศาลเจ้า. 2548. การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตไส้ครีมแอสเตอร์. สัมมนาปริญาโท 2 สาขาวิชาสุขภาพอาหาร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

พรรณชรินทร์ ศรีทธา และสุพรรณิ เสนาอาด. 2543. การตรวจหา *Staphylococcus aureus* ในขนมไทย. โครงการงานพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

มาลิน จุลศิริ. 2540. ยาดำจืด. กรุงเทพฯ : สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน.

สุภารัตน์ น้อยผา. 2549. การใช้กลีเซอรินและกัมอะราบิกในการยืดอายุการเก็บรักษาขนมลูกชุบ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร, กรุงเทพฯ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2523. การปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* ในขนมพื้นบ้านของไทย. กัมมี่ดในอาหาร เอกสารเผยแพร่กองวิเคราะห์อาหาร. กรุงเทพฯ : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ จุไรรัตน์ รุ่งโรจน์ารักษ์ และ ธัญลักษณ์ นินบดี. 2522. การศึกษา Enterotoxins ของเชื้อ *Staphylococcus aureus*. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ปีที่ 21 (4): 258 – 270.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ จุไรรัตน์ รุ่งโรจน์ารักษ์ และ ธัญลักษณ์ นินบดี. 2523 ก. การแพร่กระจายของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, ปีที่ 22 (4): 193-208.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สุมนทนา วัฒนสินธุ์ จุไรรัตน์ รุ่งโรจน์ารักษ์ และ ชัยศักดิ์ นินบดี. 2523 ข. การปนเปื้อนของ *Staphylococcus aureus* ในขนมพื้นบ้านของไทย. ภัยมืดในอาหาร เอกสารเผยแพร่ของ กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
- ส่วนอุตสาหกรรมเกษตร. 2544. รายงานเกณฑ์คุณภาพและวิธีการตรวจคุณภาพวัตถุดิบมะม่วง. กรุงเทพฯ : สำนักงานพัฒนาอุตสาหกรรมรายสาขา กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม.
- หนูรี. 2551. ขนมลูกชุบ “ศิลปะการทำขนมของไทยหนึ่งในความภูมิใจ”. [Online]. Available : <http://gotoknow.org/blog/naree-food/209283> [Accessed 2009 May 17].
- โหระพาดอกทศอม. 2552. ขนมไทย : ขนมลูกชุบ. [Online]. Available : <http://www.horapa.com/content.php?Category=Dessert&No=343> [Accessed 2009 May 17].
- Abdalla, A.E.M., S.M., Darwish, E.H.E., Ayad and R. M., El – hamahmy. 2007. **Egyptian mango by-product 2 : Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel.** J. Food Chem. 103 : 1141-1152.
- Adam, M.R. and M.O., Moss. 1995. **Food Microbiology.** Royal Society of Chemistry, Cambridge. 389 pp.
- Adesiyun, A.A. 1984. **Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from Nigerian ready-to-eat foods.** J. Food Protect. 47 : 438 – 440.
- Ajila, C.M., S.G., Bhat and U.J.S., Prasada Rao. 2007. **Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties.** J. Food Chem. 102 (4) : 1006-1011.
- Alberto, J. 2005. **Antioxidant therapy : myth or reality?.** J. Braz. Chem. Soc. 16 : 1-19.
- Angelotti, R., M.J. Foter and K.H. Lewis. 1961. **Time – temperature effects on salmonellae and staphylococci in foods.** Am. J. Infect. Dis. 178 : 172-177.
- Balasundram, N., K. Sundram, and S. Samman, 2006. **Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses.** J. Food Chem. 99 (1) : 191-203.
- Bean, N.H. and P.M., Griffin. 1990. **Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973 – 1987 : Pathogens, vehicles and trends.** J. Food Protect. 53 : 804 – 817.
- Bean. N.H., P.M. Griffin and J.S. Goulding. 1990. **Foodborne disease outbreaks, a 5 – year summary, 1983 – 1987.** J. Food Protect. 53 : 711 – 728.
- Berch, O.P. 1976. **Utilization of mango waste : Peel as a source of pectin.** J. Food Sci Tech. 13:96.

- Berardini, N., M., Knödler, A., Schieber and R., Carle. 2005. **Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics.** *Innov. Food Sci Emer. Tech.* 6:442-452.
- Compendium of methods for food analysis. 2003. **Microbiological Examination of Food (Chapter 8).** Department of Medical Science (DMSc) and Department of Medical Science Foundation Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (ACFS).
- Cvetnic, Z. and V.S. Knezevic. 2004. **Antimicrobial activity of grapefruit seed and pulp ethaolic extract.** *Acta Phar. Sin.* 54:243-250.
- Eley, A.R. 1992. **Microbial Food Poisoning.** St. Edmundsbury Press, London. 191 pp.
- Electron Micrograph of *Staphylococcus aureus*. 2007. **A Staphylococcus.** [Online]. Available : <http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab1/dkstaph.html>. [Accessed 2007 October 6].
- Evenson, M.L., M.W. Hinds and R.S. Bernstein. 1988. **Estimation of human dose of staphylococci enterotoxin A from large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk.** *Int. J. Food Microb.* 7 : 311 – 316.
- Genigeorgis, C. H., Riemann and W.W. Sadler. 1969. **Production of enterotoxin B in cured meats.** *J. Food Sci.* 34 : 62 – 68.
- Genigeorgis, C., M.S. Foda and A. Mantis. 1971. **Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin C production.** *Appl. Microb.* 21 : 862 – 866.
- Huxley, A., M. Griffiths and M. Levy. 1997. **The New Royal Horticultural Society Dictionary of Gardening,** volume 3 L to Q. New York : The Stockton Press.
- Kabuki, T., H. Nakajima., M. Arai., S. Ueda., Y. Kuwabara. and S. Dosako. 2000. **Characterization of Novel Antimicrobial Compounds from Mango (*Mangifera indica* L.) Kernel Seeds.** *J. Chem.* 71:61-66.
- Karakaya, S. 2004. **Bioavailability of phenolic compounds.** *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44(6) : 453-464.
- Lee, W.H, C.L. Staples and J.C. Olson. 1975. ***Staphylococcus aureus* growth and survival in macaroni dough and the persistence of enterotoxin in the dried products.** *J. Food Sci.* 40:119-120.
- Lu ,L.C., Y.W., Chen and C.C. Chou. 2004. **Antimicrobial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*.** *Int. J. Food Microb.* 102:213-220.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Metzger, J.F., A.D. Johnson and W.S. Collins. 1973. **staphylococcus aureus enterotoxin B release (excretion) under controlled conditions of fermentation.** Appl. Microb. 25 : 770 – 773.
- Mims, C.A., H.M., Dockrell, R.V., Goering, I., Roitt, D., Wakelin and M., Zuckerman. 2004. **Medical microbiology.** Philadelphia: Mosby. pp. 497-499.
- Nilgun , G.B., O., Gulcan and S., Osman. 2003. **Total Phenolic Contents and Antibacterial Activities of Grap (*Vitis vinifera* L.) Extracts.** J. Food Contr. 15:335-339.
- Notermans, S. and C.J. Heuvelman. 1983. **Combined effect of water activity, pH and suboptimal temperature on growth and enterotoxin production of staphylococcus aureus.** J. Food Sci. 48 : 1832 – 1835, 1840.
- Palasuntheram, C. and M.S. Beauchamp. 1982. **Enterotoxigenic staphylococci in Sri Lanka.** J. Appl. Bact. 52 : 39 – 44.
- Podsdek, A. 2007. **Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables : A review.** LWT-Food Sci. Technol. 40(1) : 1-11.
- Sakanaka, S., L.R. Juneja and M. Taniguchi. 2004. **Antimicrobial effect of tea polyphenols on thermophilic spore – forming bacteria.** J. Bioscience and Bioengineering. 90:81-85.
- Singleton ,V.L. and Jr. J.A., Rossi. 1965. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolydic phosphotungstic acid reagents.** Amer. J. Enolo. Viti. 16:144-158.
- Smith, J.L., R.L. Buchanan and S.A. Palumbo. 1983. **Effect of food environment on staphylococcal enterotoxin synthesis : A review.** J. Food Protect. 46 : 545 – 555.
- Sokari, T.G. and S.O. Anozie. 1990. **Occurance of enterotoxin producing strains of staphylococcus aureus in meat and related samples from traditional markets in Nigeria.** J. Food Protect. 53 : 1069 – 1070.
- Sperber, W.H. 1977. **The identification of staphylococci in chemical and food microbiology laboratories.** CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 7 : 121 – 184.
- Sydney, M.F. and J.B., Ellen. 1986. **Bailey and Scott' s diagnostic microbiology.** 7 th ed. St. Louis : C.V. Mosby Co.
- Tongson, C. 2005. **Antimicrobial activity of Thai spices against foodborne pathogens.** The dissertation of Doctor degree. Kasetsart University Thailand.
- USDA. 2003. **National Nutrient Database for Standard Reference.** Washington, DC : United States Dept. of Agriculture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Varnam, A.H. and M.G., Evans. 1991. **Food borne pathogen an illustrated text.** Wofe Publishing Ltd, New York. 550p.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

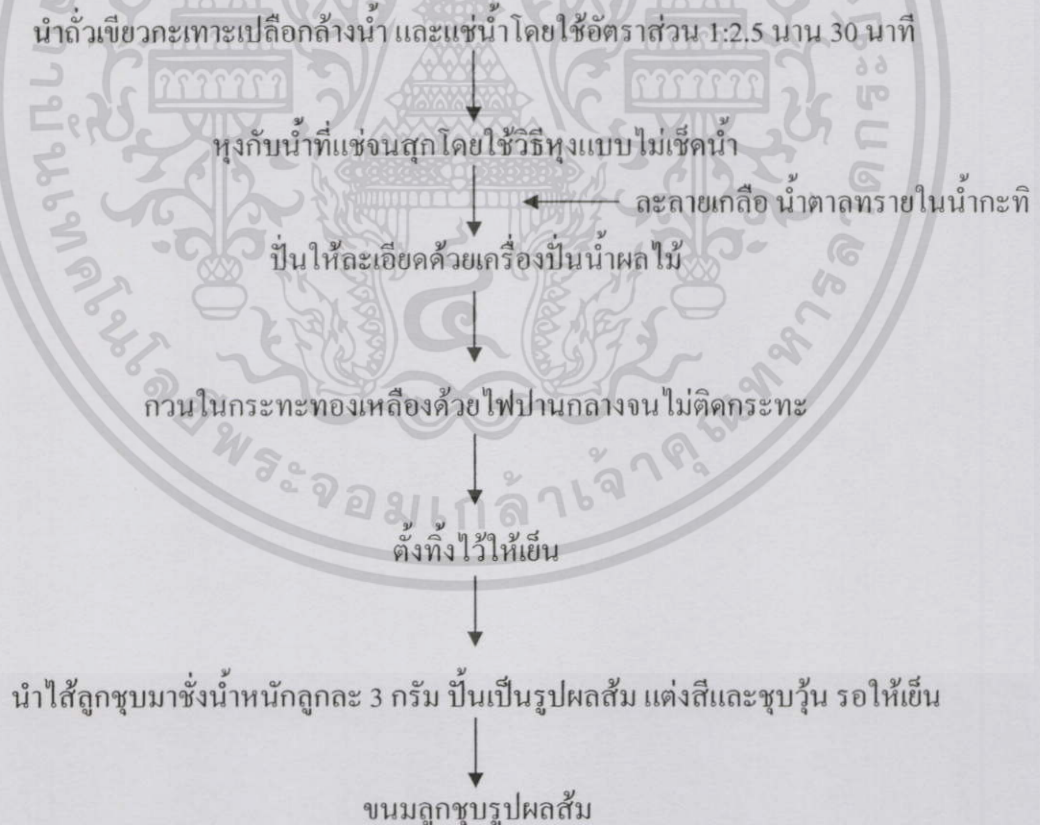
## ภาคผนวก ก

## ส่วนผสม และวิธีการผลิตลูกชุบ

## 1. ส่วนผสม

ถั่วเขียวกะเทาะเปลือก ตราเคียว	100	กรัม
น้ำตาลทรายขาว ตรามิตรผล	60	กรัม
กะทิกล่อง UHT ตราชาวเกาะ	80	กรัม
เกลือ ตราปรุงทิพย์	1	กรัม
น้ำ	250	กรัม
วุ้นผง ตราเฮลิกอปเตอร์		
สีผสมอาหาร ตราวินเนอร์		

## 2. กระบวนการผลิตขนมลูกชุบ

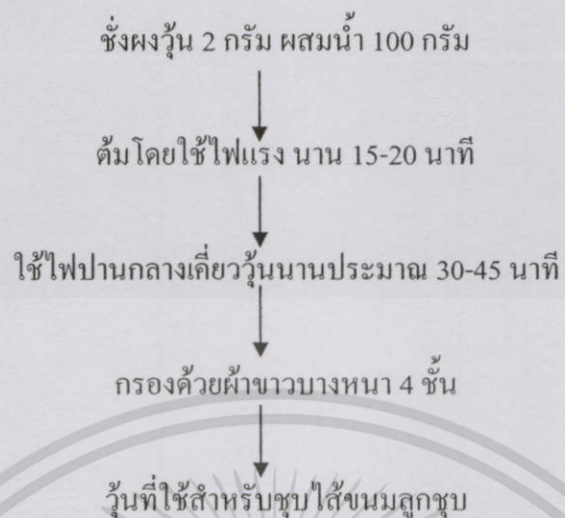


ภาพที่ ก1 กระบวนการผลิตขนมลูกชุบ

ที่มา : สุภารัตน์ (2549)

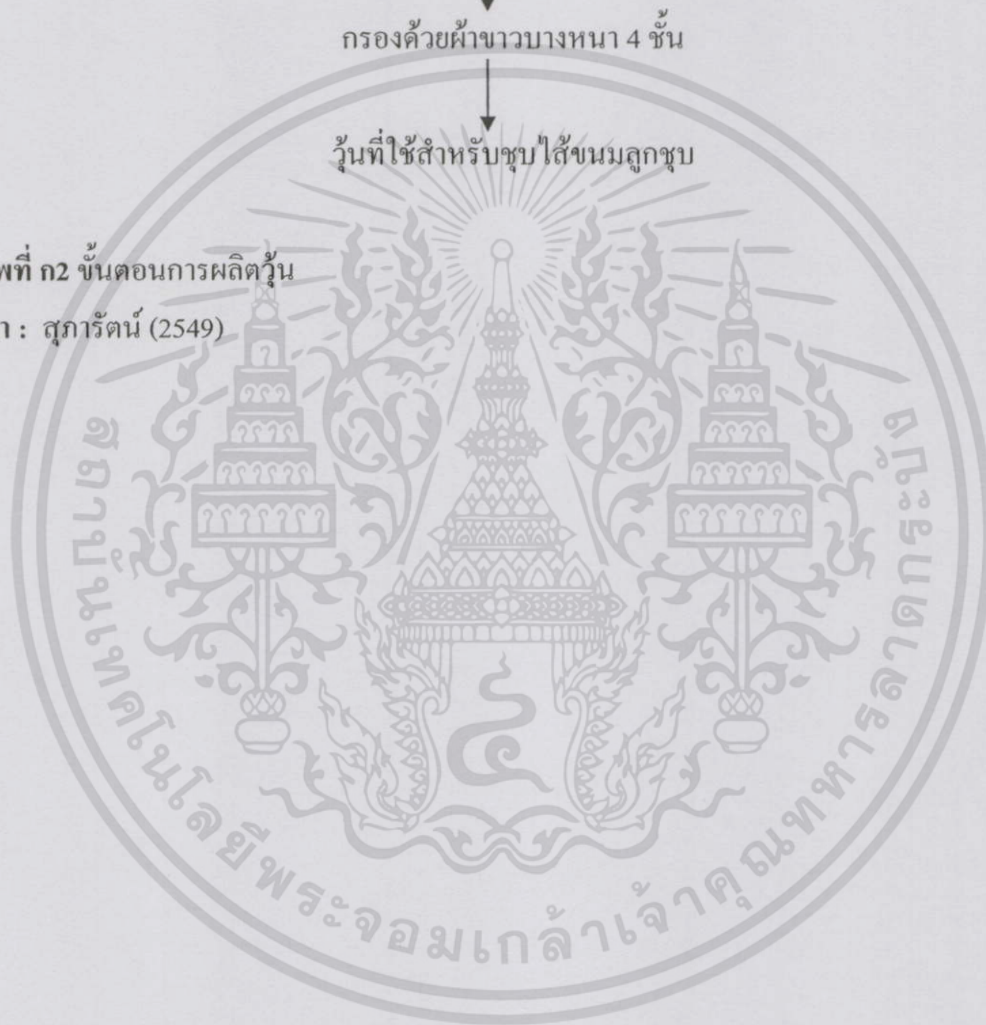
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. ขั้นตอนการเตรียมวุ้น



ภาพที่ ก2 ขั้นตอนการผลิตวุ้น

ที่มา : สุภารัตน์ (2549)



## ภาคผนวก ข

### การตรวจหาเชื้อ *Staph. aureus* ในขนมลูกชุบ

การตรวจเชื้อ *Staph. aureus* ในอาหาร มีทั้งการตรวจหาเชื้อทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ โดยในเชิงปริมาณนั้นมักจะเป็นการตรวจนับโดยวิธีที่เรียกว่า direct plate count ซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอยู่ในอาหารลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเฉพาะ (selective plating medium) โดยตรง แล้วทำการตรวจนับโคโลนีที่ให้ลักษณะเฉพาะว่าเป็น *Staph. aureus* ซึ่งโดยมากมักใช้ในการตรวจหาเชื้อในอาหารที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษจาก *Staph. aureus* วัตถุประสงค์ที่จะนำมาผลิตผลิตภัณฑ์และอาหารที่จะบริโภคโดยทันที เป็นต้น

ในตรวจหาเชื้อ *Staph. aureus* ในเชิงคุณภาพ คือพบหรือไม่พบในตัวอย่างอาหาร โดยมากมักจะทำการตรวจหาเชื้อจากตัวอย่างอาหารในระดับความเจือจางแรกๆ เท่านั้น (1:10) โดยนำตัวอย่างจากระดับความเจือจางดังกล่าว เพาะเลี้ยงเชื้อลงบนอาหารแข็งเฉพาะโดยตรง นับจำนวนเชื้อที่ให้ลักษณะเฉพาะที่ได้แล้วนำไปทดสอบยืนยันเอ็นไซม์ coagulase ก่อนรายงานผล หรือนำตัวอย่างในระดับความเจือจางดังกล่าวนี้ไปเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว TSB ที่มีเกลี้อร้อยละ 10 ก่อนนำไปเพาะแยกเชื้อบนอาหารแข็งเฉพาะ ถ้าตรวจพบโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *Staph. aureus* ให้ทำการยืนยันการสร้างเอ็นไซม์โคเอกกูเลส รายงานการตรวจพบเชื้อว่า พบ *Staph. aureus* ในตัวอย่างอาหาร 0.1 กรัม

การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์โคเอกกูเลสอาศัยหลักการที่ว่า plasma กระด้างที่นำมาใช้ในการทดสอบยังมีองค์ประกอบของ fibrin และ fibrinogen อยู่ เมื่อเชื้อ *Staph. aureus* เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีการสร้างเอ็นไซม์โคเอกกูเลสออกมา เมื่อทำการเติม rabbit plasma ลงในหลอดเพาะเลี้ยงเชื้อ เอ็นไซม์โคเอกกูเลสในหลอดเพาะเลี้ยงเชื้อจะทำปฏิกิริยากับ fibrin และ fibrinogen ใน plasma แล้วเกิดการรวมตัวของ fibrin และ fibrinogen เกิดการแข็งตัว (clot) ขึ้น (Compendium of methods for food analysis, 2003)

#### วิธีทำ

1. เตรียมตัวอย่างอาหาร 25 กรัมในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
2. เทน้ำยาสำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย stomacher
3. ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร (ถ้าเป็นอาหารที่สงสัยว่าก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจาก *Staph. aureus* อาจต้องเจือจางถึงระดับ  $10^{-6}$ )

4. ดูตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางหยดลงบน BP medium หรือ MS agar ที่มีการเติมไข่แดงที่ปราศจากเชื้อ ระดับความเจือจางละ 2 งานเพาะเชื้อ งานละ 0.1 มิลลิลิตร
5. ใช้แท่งแก้วรูปตัว L ทำการเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วตามวิธี spread plate ให้ครบทุกระดับความเจือจางที่ต้องการ
6. บ่มเพาะเชื้อทั้งหมดในตู้บ่มอุณหภูมิ 35 – 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง
7. ตรวจสอบโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *Staph. aureus* ตามลักษณะที่เจริญในอาหารแต่ละชนิด (*Staph. aureus* โดยมากจะมีเอนไซม์ lecithinase ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเลซิทินในไข่แดงที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เกิดตะกอนของเกลือฟอสเฟต เห็นเป็นตะกอนขุ่น (oplaque/creamy zone) รอบโคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหาร) ดังภาพที่ ข1
8. นำลักษณะโคโลนีที่สงสัยว่าเป็น *Staph. aureus* ไปทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ coagulase ต่อไป
9. รายงานจำนวน *Staph. aureus* ที่ได้ในลักษณะของเอนไซม์โคเอกูเลส positive *Staph. aureus*



ภาพที่ ข1 แสดงลักษณะ creamy zone รอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BP agar ที่สงสัยว่าเป็น *Staph. aureus*

## ภาคผนวก ค

## วิธีการสกัดสารโพลีฟีนอลจากเปลือกมะม่วง



นำมะม่วงดิบเปลือกเขียวพันธุ์แก้ว มาล้างให้สะอาดและปอกเปลือกโดยใช้มีด 2 คม



นำเปลือกที่ได้มานั่งเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และหั่นเป็นชิ้นขนาด 1x2 เซนติเมตร

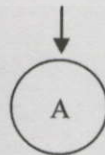


นำเปลือกมะม่วงที่หั่นเป็นชิ้น 40 กรัม ผสมกับ เอทธานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 400 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

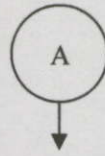
ตีปั่นให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 2 นาที



ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าโดยใช้เครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 2



ระเหยตัวทำละลายออก โดยเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator)  
ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส



เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดแก้วสีชาที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ภาพที่ ค1 ขั้นตอนการสกัดสาร โพลีฟีนอลจากเปลือกมะม่วง  
ที่มา : นภชลัช (2549)

## ภาคผนวก ง

### การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)

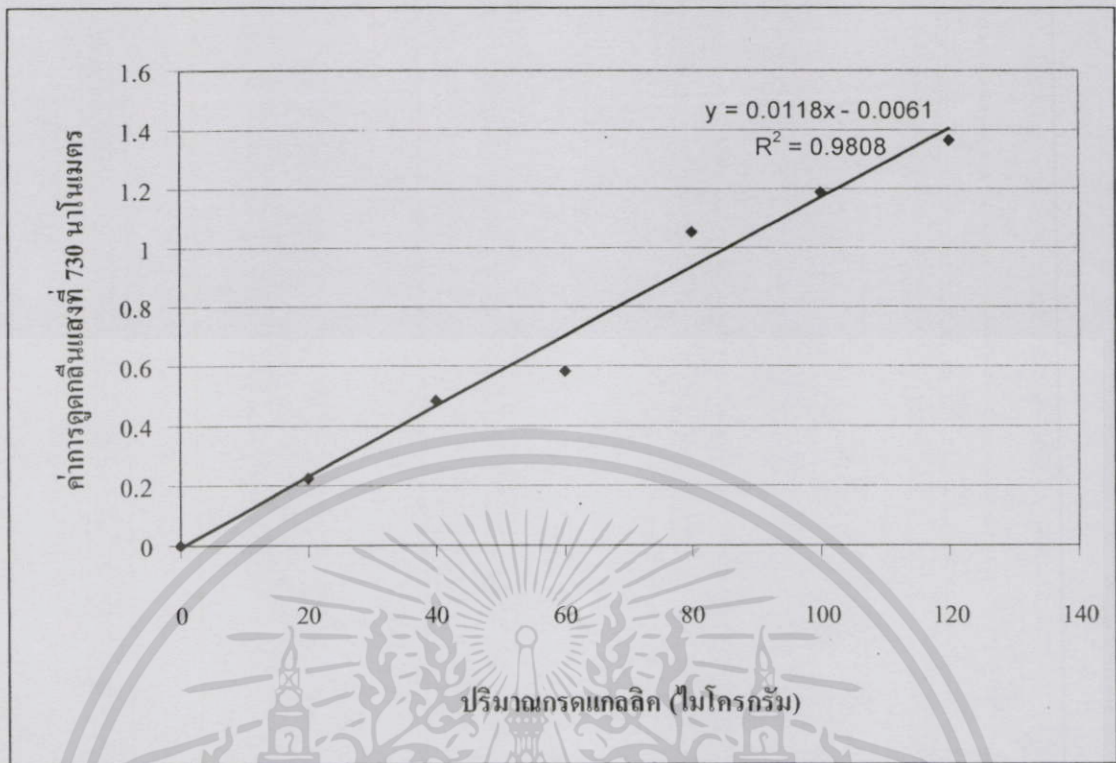
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จะใช้วิธีที่รายงานโดยประพันธ์ และ วันทนีย์ (2545) โดยมีหลักการคือ สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร และใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน

#### 1. สารเคมี

- 1.1 Folin-Ciocalteu reagent
- 1.2 โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{NaCO}_3$ ) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
- 1.3 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

#### 2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

- 2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายกรดแกลลิก 0.0400 กรัม ในเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร
- 2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่ลงหลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 และ 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร
- 2.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
- 2.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
- 2.5 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank
- 2.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วย ไมโครกรัม



ภาพที่ 31 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

### 3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้ว

- 3.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัดใส่ในหลอดทดลอง ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 9.5 มิลลิลิตร
- 3.2 เติมน้ำละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
- 3.3 เติมน้ำละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) วางตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
- 3.4 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank
- 3.5 คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสารสกัดจากเปลือกมะม่วงแก้วโดยใช้กราฟมาตรฐาน

## ภาคผนวก จ

รหัสแบบทดสอบ.....

## แบบประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส

ชื่อ-นามสกุลผู้ทดสอบ.....วันที่.....

ชื่อผลิตภัณฑ์ ขนมหูกหุบ

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างตามลำดับที่เสนอจากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนตามลำดับความชอบของท่าน และกรุณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่าง

- 7 = ชอบมาก  
 6 = ชอบปานกลาง  
 5 = ชอบเล็กน้อย  
 4 = เฉยๆ  
 3 = ไม่ชอบเล็กน้อย  
 2 = ไม่ชอบปานกลาง  
 1 = ไม่ชอบมาก

คุณลักษณะ	ตัวอย่าง	
	รหัสตัวอย่าง.....	รหัสตัวอย่าง.....
ลักษณะปรากฏ		
สี		
กลิ่น		
รสชาติ		
ความชอบรวม		

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการทดสอบการยอมรับของผู้ทดสอบ

### วิธีทดสอบฮีโดนิค (Hedonic test)

ฮีโดนิค (hedonic) หมายถึง ความพอใจ (pleasant) สเกลแบบฮีโดนิค มีสเกลทั้งแบบตัวเลข และแบบตัวหนังสือ ซึ่งมีหลายระดับ เช่น 3 จุด (three – point hedonic) 5 จุด, 7 จุด, 9 จุด ดังรายละเอียดดังตารางภาคผนวกที่ 1 (ปราณี, 2547)

### ตารางที่ ๑1 สเกลฮีโดนิคที่ใช้ในการทดสอบการยอมรับของวิธีทดสอบฮีโดนิค

สเกลตัวเลข	สเกลตัวหนังสือ
9 – จุด	1 ไม่ชอบเลย (dislike extremely) 2 ไม่ชอบมาก (dislike very much) 3 ไม่ชอบปานกลาง (dislike moderately) 4 ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly) 5 เฉยๆ (neither like nor dislike) 6 ชอบเล็กน้อย (like slightly) 7 ชอบปานกลาง (like moderately) 8 ชอบมาก (like very much) 9 ชอบเป็นพิเศษ (like extremely)
7 – จุด	1 ไม่ชอบมาก (dislike very much) 2 ไม่ชอบปานกลาง (dislike moderately) 3 ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly) 4 เฉยๆ (neither like nor dislike) 5 ชอบเล็กน้อย (like slightly) 6 ชอบปานกลาง (like moderately) 7 ชอบมาก (like very much)
5 – จุด	1 ไม่ชอบมาก (dislike very much) 2 ไม่ชอบ (dislike) 3 เฉยๆ (neither like nor dislike) 4 ชอบ (like) 5 ชอบมาก (like very much)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ จ1 (ต่อ)

สเกลตัวเลข	สเกลตัวหนังสือ
3 - จุด	1
	2
	3

ที่มา : ปราณี (2547)

หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ T - test

 $\bar{d}$  = average difference = mean for A - mean for B

คำนวณค่า S

$$S = \sqrt{\frac{\sum d_i^2 - (\sum d)^2 / n}{n-1}}$$

 $\sum d_i^2$  = sum of the square of each difference $(\sum d)^2$  = the sum of the difference, square

n = number of pairs

จากนั้นหาค่า t จากตารางที่ จ2 The distribution of t ได้คอลัมน์ที่ขึ้นต้นด้วย 0.05

(p = 0.05), df = n-1

ถ้า  $\frac{\bar{d}}{S/\sqrt{n}} > t \Rightarrow$  ตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

## ตัวอย่าง การทดสอบแบบ Hedonic test

ใช้ผู้ทดสอบ 10 คน ทดสอบตัวอย่าง A, B ได้ข้อมูลดังตารางข้างล่างนี้

Judges	Sample		Difference (d) (A-B)
	A	B	
1	8	6	2
2	7	7	0
3	7	6	1
4	8	7	1
5	6	6	0
6	7	6	1
7	7	7	0
8	8	7	1
9	6	7	-1
10	7	7	0
Total	71	66	5
Mean	7.1	6.6	0.5

วิธีทำ ใช้ T-test

$$\begin{aligned}\bar{d} &= \text{average difference} = \text{mean for A} - \text{mean for B} \\ &= 7.1 - 6.6 = 0.5\end{aligned}$$

คำนวณค่า S

$$S = \sqrt{\frac{\sum d_i^2 - (\sum d)^2 / n}{n-1}}$$

 $\sum d_i^2$  = sum of the square of each difference

$$= 2^2 + 0^2 + 1^2 + \dots + 0^2 = 9$$

 $(\sum d)^2$  = the sum of the difference, square

$$= 5^2 = 25$$

n = number of pairs

$$= 10$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned}
 s &= \sqrt{\frac{9 - 25/10}{9}} = \sqrt{\frac{9 - 2.5}{9}} = \sqrt{\frac{6.5}{9}} \\
 &= \sqrt{0.722} \\
 &= 0.85
 \end{aligned}$$

หาค่า t จากตารางที่ จ2 The distribution of t ได้คือสัณที่ขึ้นต้นด้วย 0.05 ( $p = 0.05$ ),

$$df = n - 1 = 10 - 1 = 9$$

$$\therefore t\text{-value} = 2.262$$

ถ้า  $\frac{\bar{d}}{S/\sqrt{n}} > t \Rightarrow$  ตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

$$\begin{aligned}
 \frac{\bar{d}}{S/\sqrt{n}} &= \frac{0.5}{0.85/\sqrt{10}} \\
 &= \frac{0.5}{0.85/3.16} \\
 &= \frac{0.5}{0.27} \\
 &= 1.85 < t\text{-value} = 2.262
 \end{aligned}$$

แสดงว่า A, B ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ตารางที่ ๑๒ The distribution of t – value

df	Level of significance for one – tailed test					
	.10	.05	.025	.01	.005	.0005
	Level of significance for two – tailed test					
	.20	.10	.05	.02	.01	.001
1	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657	636.619
2	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	31.598
3	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	12.941
4	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	8.610
5	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	6.859
6	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.959
7	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	5.405
8	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	5.041
9	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.781
10	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.587
11	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.437
12	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	4.318
13	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	4.221
14	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	4.140
15	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	4.073
16	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	4.015
17	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.965
18	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.922
19	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.883
20	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.850
21	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.819
22	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.792
23	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.767
24	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.745
25	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.725
26	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.707
27	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.690
28	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.674
29	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.659
30	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.646
40	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.551
60	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.460
120	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617	3.373
∞	1.282	1.645	1.960	2.326	2.526	3.291

ที่มา : ปราณี (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวหนึ่งฤทัย ศรีทองทิม เกิดวันที่ 1 สิงหาคม พ.ศ. 2523 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวិทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร จากสถาบันราชภัฏพระนคร เมื่อปี พ.ศ. 2545

ประวัติการทำงาน ปี พ.ศ. 2546-2548 ทำงานในตำแหน่งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการประจำสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ปี พ.ศ. 2552 ได้บรรจุเป็นพนักงานมหาวิทยาลัยในตำแหน่งนักวิชาการศึกษาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

ปี พ.ศ. 2548 ศึกษาต่อในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาสาขาโภชนาการ และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2552

