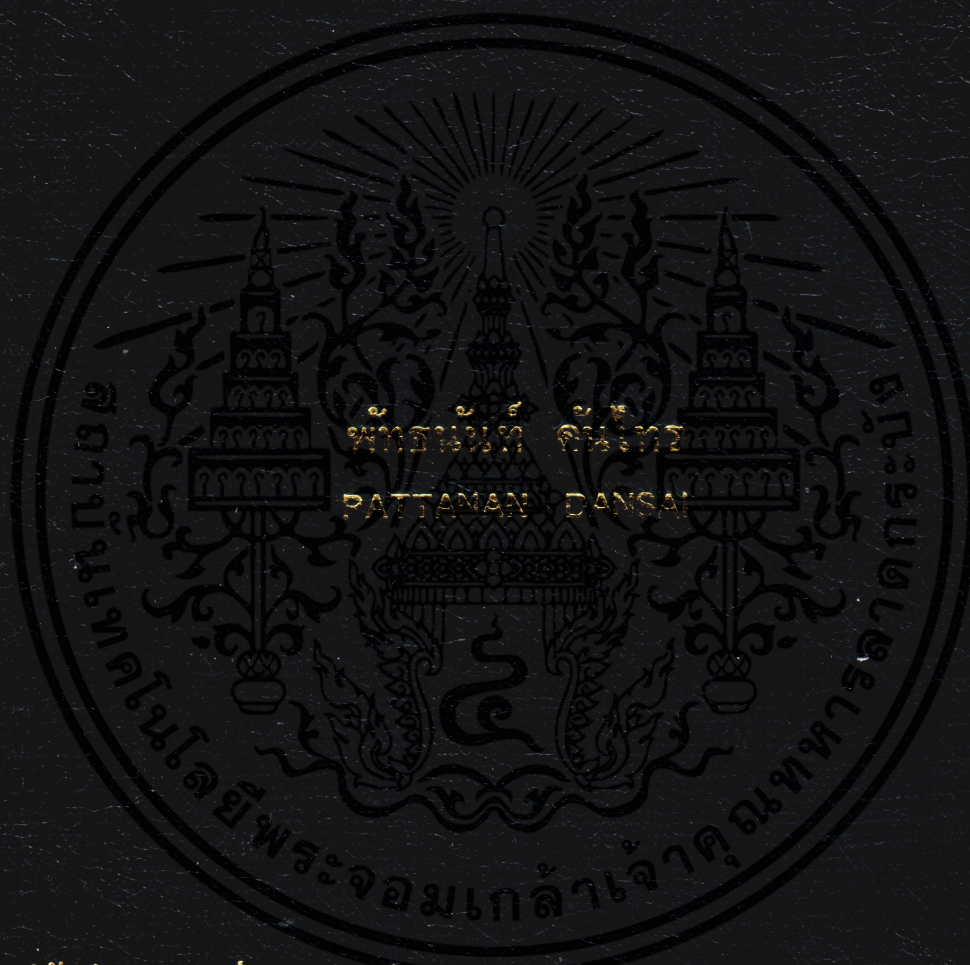


การลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Typhimurium* ที่ปนเปื้อนบนผักกาดหอมสดโดย  
ใช้น้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดขมิ้นชัน

REDUCTION OF SALMONELLA TYPHIMURIUM INOCULATED ON  
FRESH LETTUCE BY USING FERMENTED VINEGAR AND  
TURMERIC (*Curcuma longa* Linn) EXTRACT



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขอนามัยและอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2554

KMITL-2011-AI-M-054-099

**สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง**

การลดปริมาณเชื้อ *Salmonella Typhimurium* ที่ปนเปื้อนบนผักกาดหอมสดโดย  
ใช้น้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดขมิ้นชัน

**REDUCTION OF SALMONELLA TYPHIMURIUM INOCULATED ON  
FRESH LETTUCE BY USING FERMENTED VINEGAR AND  
TURMERIC (*Curcuma longa* Linn) EXTRACT**



T116801

พัทธนันท์ ดันไทร

PATTANAN DANSAI

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน 116801  
วัน,เดือน,ปี 15 ส.ค. 2554

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

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขภาพอาหาร

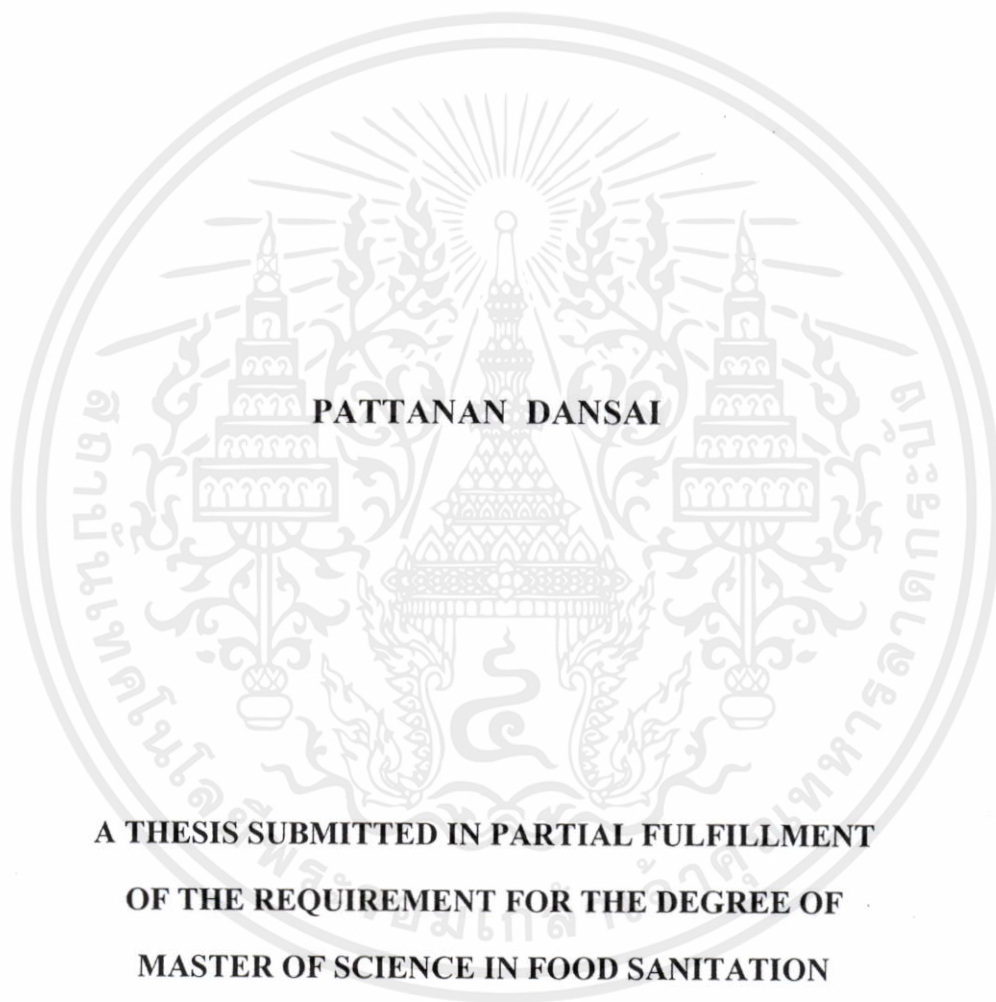
คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
KMITL-2011-AI-M-054-099  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**REDUCTION OF SALMONELLA TYPHIMURIUM INOCULATED ON  
FRESH LETTUCE BY USING FERMENTED VINEGAR AND  
TURMERIC (*Curcuma longa* Linn) EXTRACT**



**PATTANAN DANSAI**

**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**

**2011**

**KMITL-2011-AI-M-054-099**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2011**

**FACULTY OF AGRO-INDUSTRY**

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

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การลดปริมาณเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนผักกาดหอมสดโดยใช้  
น้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดขมิ้นชัน

Reduction of *Salmonella* Typhimurium Inoculated on Fresh Lettuce by using  
Fermented Vinegar and Turmeric (*Curcuma Longa* Linn) Extract

ชื่อนักศึกษา นางสาวพัทธนันท์ คั่นไทร  
รหัสประจำตัว 49068752  
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชา สุขากิจาอาหาร  
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง	
รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์	
ดร.ระจิตร์ สุวานิช	
รศ.ดร.สุเมธ คั่นตระกูล	

วัน / เดือน / ปีที่สอบ 9 พฤษภาคม 2554 เวลา 09.00 น. เป็นต้นไป  
สถานที่สอบ ณ ห้อง A 302 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ครูส่ง)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่... 9 ... เดือน ... พฤษภาคม ... พ.ศ. ... 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่สู่สาธารณะโดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงที่มาอย่างถูกต้อง

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การลดปริมาณเชื้อ <i>Salmonella</i> Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนผักกาดหอมสดโดยใช้น้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดขมิ้นชัน
นักศึกษา	นางสาวพัทธนันท์ ดั่นไทร
รหัสประจำตัว	49068752
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2554
ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. วราวุฒิ คุรุส้ง

### บทคัดย่อ

การวิจัยนี้ได้ศึกษาสารสกัดของขมิ้นชัน น้ำส้มสายชูหมัก และสารละลายผสมของขมิ้นชัน และน้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Typhimurium (ST) โดยเปรียบเทียบวิธีการเตรียมสารสกัดขมิ้นชันด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบการสกัดเย็น และวิธีการสกัดด้วยการกลั่นด้วยน้ำ จากผลการวิเคราะห์สารสกัดขมิ้นชันด้วยวิธี GC-MS พบว่า สารสกัดจากวิธีแรกให้ปริมาณ Total tumerone ที่มากกว่าวิธีหลัง อีกทั้งสารสกัดจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบการสกัดเย็นมีองค์ประกอบ  $\beta$ -tumerone (21.40%) AR-Tumerone (41.97%) และ  $\alpha$ -tumerone (19.51%) ซึ่งสูงกว่าสารสกัดขมิ้นชันที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยการกลั่นด้วยน้ำ ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้ง ST ในระดับหลอดทดลองในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase soy broth (TSB) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชัน 0.05mg/ml เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที พบเชื้อ ST เหลือ 6.59 log CFU/ml (ลดลง 71.15%) และสามารถยับยั้งเชื้อ ST ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 15 นาที ขณะที่สารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้น 1.7% (v/v) (มีค่า pH 3.86) สามารถยับยั้งเชื้อ ST จาก 7.12 log CFU/ml เหลือรอดอยู่ 6.66 log CFU/ml (ลดลง 45.60%) ภายในเวลา 10 นาที และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 25 นาที สำหรับการศึกษาร่วมของสารสกัดขมิ้นชันและน้ำส้มสายชูหมัก โดยใช้สารสกัดขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 0.05mg/ml และสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก 1.7% (มีค่า pH 3.8) พบว่าให้ผลการยับยั้งเชื้อ ST สูงกว่าการใช้สารสกัดขมิ้นชันหรือน้ำส้มสายชูหมักเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยยับยั้งเชื้อ ST ที่ 7.10 log CFU เหลือ 6.53 log CFU/ml (ลดลง 73.28%) และยับยั้งเชื้ออย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 5 และ 10 นาทีตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบสารละลายผสมระหว่างขมิ้นชันและน้ำส้มสายชูหมัก (TE-FV) พบว่าสามารถลดเชื้อ ST ปริมาณระดับสูงบนผักกาดหอมสดที่มีปริมาณเริ่มต้น 7.11 log CFU/g ด้วยวิธีการจุ่มลง 3 log cycle เหลือ 4.02 log CFU/g ได้ภายในเวลา 10 นาที และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์สงวนไว้สำหรับบริการของงานห้องสมุดและหอสมุดประชาชนเชียงใหม่ โดยผู้ใดที่นำเอกสารฉบับนี้ไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่เดียวกันสามารถยับยั้งเชื้อ ST ปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่ำที่ 3.14 log CFU/g. ได้หมดภายในเวลา 20 นาที จากการนำตัวอย่างไปถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning electron microscope; SEM) พบว่าโครงสร้างของผิวใบผักกาดหอมมีลักษณะขรุขระ ทำให้โอกาสที่เชื้อ ST สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ สำหรับการศึกษอายุการเก็บรักษาผักที่ผ่านการทดสอบ กับสารละลาย TE-FV โดยเก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน พบว่าการเก็บรักษา ผักกาดหอมสด ภายใน 4 วันมีลักษณะปรากฏโดยรวม ความกรอบ และความเสียหายมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เท่านั้น ซึ่งแสดงว่าสารละลายสารสกัดขมิ้นชันร่วมและน้ำส้มสายชูหมัก จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมา พัฒนาเป็นน้ำยาล้างผักและผลไม้ที่ทำจากสารธรรมชาติในธุรกิจการบริการอาหารต่อไป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Thesis Title</b>	Reduction of <i>Salmonella</i> Typhimurium Inoculated on Fresh Lettuce by using Fermented Vinegar and Turmeric ( <i>Curcuma longa</i> Linn) Extract
Student	Miss Pattanan Dansai
Student ID	49068769
<b>Degree</b>	Master of Science
<b>Program</b>	Food Sanitation
<b>Year</b>	2011
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Warawut Krusong

### ABSTRACT

This study was conducted to determine the efficacy of turmeric extract, vinegar and their mixture in reduction of *Salmonella* Typhimurium (ST) on fresh lettuce. Two extraction methods consisting of cold solvent extraction (maceration method) and hydro-distillation extraction were compared for preparation of stock crude turmeric. By GC-MS analysis of major components in crude turmeric extract shows that the total turmerone (82.88%) in the former extract was higher than the latter extract (52.20%). Moreover, the cold solvent extraction method also provided more  $\beta$ -tumerone (21.40%), AR-tumerone (41.97%) and  $\alpha$ -tumerone (19.51%) than the hydro-distillation extraction. Therefore, the crude turmeric from cold solvent extraction is used in subsequent study. Then, the survival patterns of ST in Trypticase Soy Broth (TSB) were studied. Results showed that after treatment of TSB with 0.05 mg/mL turmeric extract for 10 min, the ST was decreased from 8.18 log CFU/ mL to 7.59 log CFU/mL (71.15% inhibition) and completely inhibited within 15 min exposure period. When using vinegar containing 1.7% (v/v) acetic acid with pH 3.86, the ST was inhibited from initial population of 8.12 log CFU/mL to 7.94 log CFU/mL (34.09%) within 10 min and completely inhibited within 25 min. The combination effect of the mixture of 0.05 mg/mL turmeric extract in vinegar solution containing 1.7% v/v acetic acid with pH 3.8 showed the significant inhibition of ST when compared with individual use of both turmeric extract solution and vinegar.

Furthermore, the mixture of turmeric extract and vinegar solution called abbreviated as "TE-FV" was subsequently used in the study. The TE-FV showed the most effective agent for inhibition

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ลงนามโดยอธิการบดีของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

of inoculated ST on fresh lettuce. Results showed that the inoculated lettuce at high level of ST was treated by TE-FV, the ST was decreased for 2 log cycle from 7.11log CFU/g to 5.49 log CFU/g within 20 min of exposure period. Additionally, the complete inhibition of inoculated low amount of ST (3.14 log CFU/g.) was observed after 20 min exposure period. By scanning electron microscope, it could be observed that the rough surface of lettuce could shield the ST from TE-FV solution. Therefore, the un-inoculated lettuce was treated with TE-FV solution for 20 min of exposure period for observation of general physical changes the slightly changes in crispness and decay on lettuce were noticed. Results support the partial applicability of TE-FV solution as a natural sanitizer for improvements in the microbiological quality and safety of fresh and fresh-cut fruits and vegetable in retail-catering industrial.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้ากราบขอบพระคุณ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูสูง ที่ท่านได้สละเวลาอันมีค่าเพื่อมาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ แนะนำการจัดทำงานวิจัยทุกขั้นตอน คอยให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางแก้ไข ปัญหา ข้อคิดเห็นพร้อมทั้งได้ให้คำแนะนำอันมีค่าและเกิดประโยชน์สูงสุดในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดทั้งยังช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องจนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ ที่นี้

กราบขอบพระคุณ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ ดร. รจิต สุวพานิช และ ผศ.ดร.สุเมธ ดันตระเธียร ที่กรุณาสละเวลาให้เกียรติร่วมเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นอันมีค่าและเป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

กราบขอบพระคุณ รศ.ดร. อรุณพร อิฐรัตน์ และ เพื่อนๆ ที่คณะแพทยศาสตร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งนางสาวศรี โสภา เรืองหนู ซึ่งได้ให้ความช่วยเหลือ ชี้แนะแนวทางการปฏิบัติงานทดลองวิจัย และให้ความอนุเคราะห์เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และวัสดุคิ่ววิจัยในการทดลองสกัดสารขมิ้นชัน ณ ห้องปฏิบัติการของสาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

ขอขอบพระคุณ คุณศรียรัตน์ พรเรืองวงศ์ และ เพื่อนๆ น้องๆ พนักงานเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ หน่วยงาน WHO National Salmonella and Shigella Center สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ได้ให้คำแนะนำในการวิจัย และ เอื้อเฟื้อในการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning electron microscope; SEM) ซึ่งทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอบพระคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และ อาจารย์ ประจำคณะทุกท่านที่คอยให้กำลังใจและคำปรึกษาอย่างสม่ำเสมอ ตลอดถึง คุณจารุพันธ์ ปัญญาเทพ และ คุณจักรพงษ์ ช่วยการ เพื่อนร่วมงานที่โครงการชุดเหมืองแร่เซโปน (MMG-LXML Sepon Gold & Cooper project) สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ที่ให้การสนับสนุนช่วยเหลือและคอยประสานงานเป็นอย่างดีในช่วงระยะทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณพี่สมชัย ดันไทร และ คุณแม่ ตลอดถึงทุกคนในครอบครัวที่ให้กำลังใจตลอดระยะเวลาที่ศึกษาวิจัย คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณบิดามารดา และครูอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนและประสิทธิ์ประสาทความรู้ทั้งปวงแก่ผู้วิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
5 พฤษภาคม 2554  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	IT
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ผักกาดหอม.....	4
2.1.1 การเก็บรักษาผักกาดหอม.....	4
2.2 แหล่งของจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหารที่ปนเปื้อนมากับผัก.....	5
2.3 ความสำคัญของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ....	11
2.3.1 ความสามารถในการทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร.....	14
2.3.2 การปนเปื้อนของเชื้อ <i>Salmonella</i> spp. ในผัก.....	15
2.4 น้ำส้มสายชู.....	15
2.4.1 ชนิดของน้ำส้มสายชู.....	16
2.4.2 ผลของน้ำส้มสายชูหมักต่อจุลินทรีย์.....	16
2.5 ขมิ้นชัน.....	17
2.5.1 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและการทดลองทางคลินิกของขมิ้น.....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

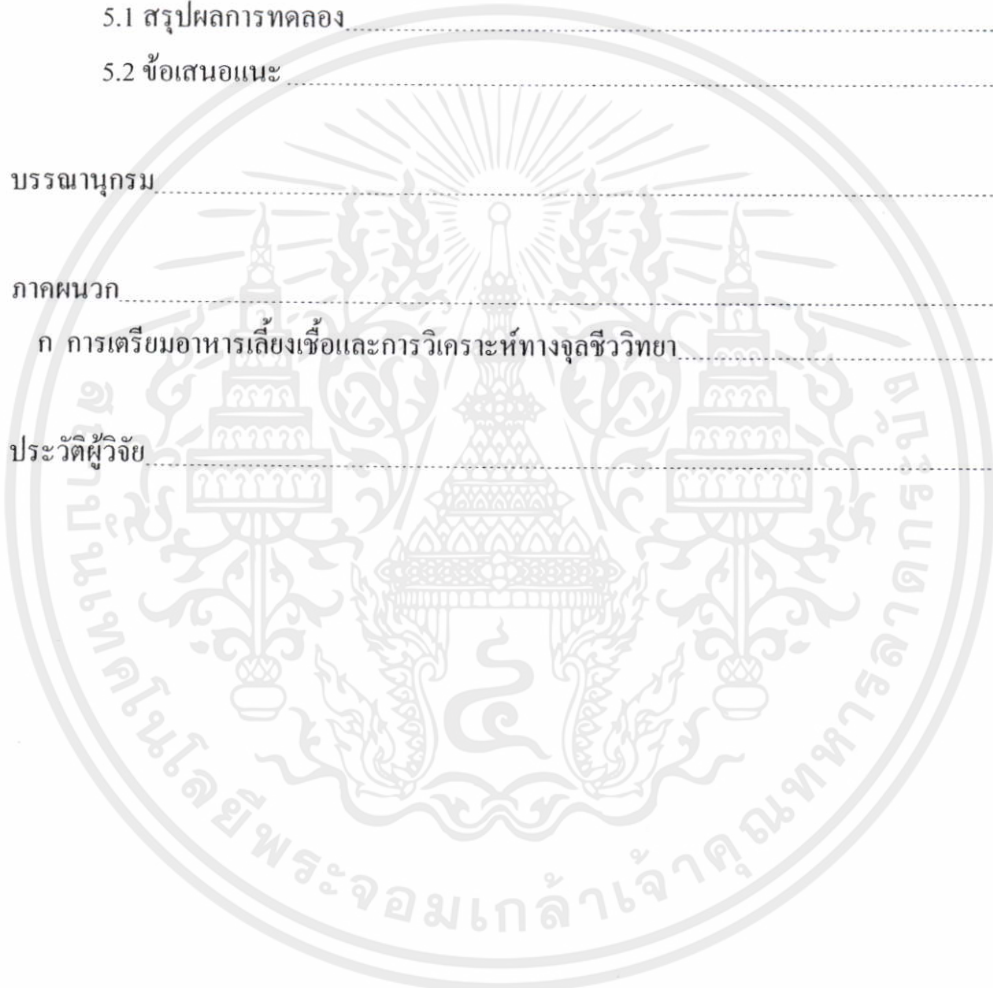
## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.2 โครงสร้างและองค์ประกอบหลักทางเคมีของขมิ้นชัน.....	18
2.5.3 ข้อกำหนดมาตรฐานของขมิ้นชัน.....	19
2.5.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหย.....	19
ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography/ Mass spectrometry; GC-MS)	
2.5.5 วิธีการสกัดสาร (Negi และ คณะ, 1999) .....	21
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย.....	23
3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	23
3.2 อุปกรณ์การทดลอง.....	23
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	24
3.4 สารเคมี.....	24
3.5 เชื้อจุลินทรีย์.....	24
3.6 วิธีการทดลอง.....	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	32
4.1 ผลการตรวจสอบจุลินทรีย์ทั้งหมดในธรรมชาติ (Normal floral) ในผักกาดสด.....	32
4.2 ผลของน้ำส้มสายชูหมักต่อการลดลงของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> (ST).....	34
ในระดับหลอดทดลอง	
4.2 ผลของสารสกัดขมิ้นชันต่อการลดลงของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> (ST).....	38
ในระดับหลอดทดลอง	
4.3 ผลของสารละลายผสมของสารสกัดขมิ้นชัน และน้ำส้มสายชูหมัก.....	41
ต่อการลดลงของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> (ST) ในระดับหลอดทดลอง	
4.4 ผลการใช้น้ำสารละลายน้ำส้มสายชูหมักและขมิ้นชัน.....	43
ที่ระดับความเข้มข้น ที่เหมาะสมต่อการลดปริมาณเชื้อ ST	
ที่ปนเปื้อนบนผักกาดหอมสด	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
VII  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 ผลของสารละลายน้ำส้มสายชูหมักและขมิ้นชัน .....	49
ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาผักกาดหอมสด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	51
5.1 สรุปผลการทดลอง .....	51
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	52
บรรณานุกรม .....	53
ภาคผนวก .....	61
ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา .....	62
ประวัติผู้วิจัย .....	64



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการ VIII เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่มาจากแหล่งต่างๆ.....	6
2.2 การระบาดของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่จำเพาะในผักและผลไม้.....	8
2.3 ค่า กรด-ด่างต่ำสุดที่ <i>Salmonella</i> Anatum, <i>S. Tennessee</i> และ <i>S. senftenberg</i> .....	13
เจริญได้ในกรดแต่ละชนิดภายใต้สภาวะที่เพาะเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ	
2.4 ข้อกำหนดมาตรฐานของการผลิตมันชั้น.....	19
3.1 สภาวะที่ใช้วิเคราะห์หาลูกประกอบและปริมาณ.....	28
ของสารสกัดมันชั้น โดยวิธี GC-MS	
4.1 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบจากการสุ่มตรวจผักกาดหอมสด.....	33
ทั้งหมด 40 ตัวอย่างที่วางขายบนแผงลอยในตลาดสด 4 แห่ง	
4.2 การลดลงของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> ในอาหารเหลว TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูหมัก.....	35
ให้มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1.0 -2.0% บ่มที่ อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ )	
เป็นเวลา 0-30 นาที	
4.3 การลดลงของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> ในอาหารเหลว TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูหมัก.....	36
ให้มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 2.1 -3.0% บ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ )	
เป็นเวลา 0-30 นาที	
4.4 องค์ประกอบหลักของสารสกัดมันชั้นจากการสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วย.....	38
ตัวทำละลายแบบการสกัดเย็นและวิธีการกลั่นด้วยน้ำ	
4.5 การลดลงของเชื้อ <i>S. Typhimurium</i> ในอาหารเหลว.....	40
TSB ที่เติมสารสกัดมันชั้น (mg/l) บ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 0-30 นาที	
4.6 การลดลงของเชื้อ ST ในอาหารเหลว TSB ที่บ่มไว้ ณ อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).....	42
ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดมันชั้น(0.05 mg/ml) กับน้ำส้มสายชูหมัก	
(ความเข้มข้นกรดอะซิติก1.7%; pH 3.91) เป็นเวลา 0-30 นาที	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
IX  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 การปนเปื้อนข้ามสู่ผักและผลไม้.....	7
2.2 ลักษณะของเหง้าสดและแห้งของดินขมิ้นชัน.....	17
2.3 โครงสร้างโมเลกุลทางเคมีของสารองค์ประกอบหลักในสารสกัดขมิ้นชัน.....	18
4.1 ค่ากรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูหมักในระดับต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).....	37
4.2 จำนวนของปริมาณเชื้อ ST บนผิวผักกาดหอมสด และ.....	44
สารละลายสารสกัดขมิ้นชัน (TE) 0.05 mg/ml สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV) 1.7% (v/v) และ สารละลายผสม (TE-FV) เมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นสูง ( $7.11-7.15 \log \text{CFU/g}$ ): (ก) เชื้อ ST ที่ยึด (attach) บนผิวผักกาดหอมสด; (ข) เชื้อ ST ที่หลุดอยู่ในสารละลาย	
4.3 จำนวนของปริมาณเชื้อ ST บนผิวผักกาดหอมสด และ.....	45
สารละลายสารสกัดขมิ้นชัน (TE) 0.05 mg/ml สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV) 1.7% (v/v) และ สารละลายผสม (TE-FV): เมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่ำ ( $3.05-3.25 \log \text{CFU/g}$ ): (ก) เชื้อ ST ที่ยึด (attach) บนผิวผักกาดหอมสด; (ข) เชื้อ ST ที่หลุดอยู่ในสารละลาย	
4.4 การยึดเกาะของเซลล์เชื้อ ST บนผิวใบผักกาดหอมสด.....	46
ภายหลังจากการจุ่มในสารละลาย TE-FV เมื่อถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนกำลังขยายรุ่น S-101 บริษัท ฮิตาชิ ประเทศญี่ปุ่นกำลังขยาย 10 นาโนเมตร (ก) เซลล์ที่เกาะติดบนผิวของใบผักกาดหอมสด; (ข) เซลล์ ST ที่ยึดเกาะติดที่ปากใบผัก	
4.5 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน.....	48
(รุ่น S-150 บริษัทฮิตาชิ ประเทศญี่ปุ่น) แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเซลล์เชื้อ ST ที่เกาะติดบนผิวใบผักกาดหอมภายหลังจากการแช่ด้วยสารละลาย TE-FV: (ก), 0 นาที; (ข), 5 นาที; (ค), 10 นาที; (ง), 20 นาที; (จ), 30 นาที	
4.6 ลักษณะปรากฏของผักกาดหอมสดที่ผ่านการแช่ด้วย.....	49
สารละลายสารสกัดขมิ้นชัน (TE) 0.05 mg/ml สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV) 1.7% (v/v) และ สารละลายผสม (TE-FV) เป็นเวลา 20 นาที แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 X  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า
4.7 ลักษณะปรากฏของผักกาดหอมสดที่ผ่านการแช่ด้วย.....	50
สารละลายสารสกัดขมิ้นชัน (TE) 0.05 mg/ml	
สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV) 1.7% (v/v) และ สารละลายผสม (TE-FV)	
เป็นเวลา 20 นาที แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน	



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ในปัจจุบันทั่วโลกได้ให้ความสนใจการบริโภคผักสดและมีอัตราเพิ่มมากขึ้นในช่วงเวลา 2-3 ทศวรรษที่ผ่านมา ในขณะที่ความต้องการบริโภคผักที่ไม่ได้ผ่านการปรุงสุกเพิ่มขึ้น ต่อมาแต่ละประเทศได้ให้การรักษาคุณภาพด้านสุขอนามัยของผักเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่ยังคงเกิดปัญหาการระบาดของเชื้อก่อโรคจากอุจจาระ (Hillborn และคณะ, 1999) และ รายงานการปนเปื้อนมากที่สุดคือ *Escherichia coli* O157:H7 และ *Salmonella* spp. (Beuchat, 1996) ในปี พ.ศ. 2540 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้สำรวจชนิดแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในอาหารพร้อมปรุงในเขตกรุงเทพมหานครและนนทบุรี พบ *Salmonella* spp. เป็นเชื้อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารมากที่สุดถึง 57% (อรุณ บำงตระกูลนนท์ และ คณะ, 2540) และต่อมา ในปี พ.ศ. 2548 รายงานของกระทรวงพาณิชย์ระบุว่าประเทศไทยมีปัญหาการส่งออกผักไทยไปยังสหภาพยุโรป โดยที่ประเทศนอร์เวย์มีการตรวจพบ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ปนเปื้อนจากผักจากประเทศไทยที่วางจำหน่ายในตลาดมากถึง 12 ครั้งในช่วง 1 เดือน ขณะเดียวกันที่ประเทศไอซ์แลนด์ตรวจพบ *E. coli*, *Salmonella* spp. และเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ ในสินค้าผักสดและผักกินใบที่นำเข้าจากไทยทั้งหมด 10 รายการ ในขณะที่ประเทศฟินแลนด์ได้ตรวจพบ *Salmonella* spp. ในผักสด 2 รายการ ทำให้ประเทศต่างๆในสหภาพยุโรปปฏิเสธการนำเข้าสินค้าผักสดจากไทยและส่งสินค้ากลับไทย จากนั้นประเทศนอร์เวย์ได้สั่งห้ามนำเข้าสินค้าผักสดกินใบจากไทยเป็นการชั่วคราว 8 ชนิด ได้แก่ สะระแหน่ ตะไคร้ ผักชีฝรั่ง ผักชีไทย โหระพา ผักแขยง ผักแพ้ว และชะอม โดยประเทศผู้นำเข้าได้ให้เหตุผลอ้างถึงการตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นเหตุผลในการปฏิเสธรับสินค้า (<http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=7&ID=77>) ต่อมาในปีพ.ศ. 2549 ได้มีรายงานการวิเคราะห์ สารตกค้าง และจุลินทรีย์ปนเปื้อนในอาหารแต่ละประเภท ผลปรากฏว่ากลุ่มของผักผลไม้ และผลิตภัณฑ์ พบ สารตกค้าง และจุลินทรีย์ปนเปื้อน ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (นภาพร เชี่ยวชาญ, 2549) ซึ่งในปี 2553 หน่วยงาน Food and Veterinary Office (FVO) ของสหภาพยุโรป ได้เข้ามาตรวจสอบและประเมินระบบการผลิตสินค้าพืชผักของไทยอีกครั้ง เนื่องจากช่วงปีที่ผ่านมาสหภาพยุโรปมีการตรวจพบปัญหาเชื้อ *Salmonella* spp. ในสินค้าพืชที่นำเข้าจากไทย (<http://www.ryt9.com/s/bmnd/784649>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Natvig และ คณะ (2002) ได้ทำการศึกษาการรอดอยู่รอดของ *S. Typhimurium* และ *E. coli* O157:H7 ที่ใบและรากของผักที่ปลูกโดยการใส่ปุ๋ยคอก เนื่องจาก *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 และ *Listeria monocytogenes* สามารถรอดชีวิตอยู่ในปุ๋ยคอกได้เป็นระยะเวลาานาน (Tauxe, 1997; Brackett, 1999) โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักใบที่มีรอยหยักที่ยากต่อการทำความสะอาด และนิยมนำมาตัดแต่งรับประทานสดซึ่งพบว่าผักชนิดที่เป็นพาหะของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและเป็นสาเหตุของปัญหาการระบาดบ่อยครั้งนั้นคือ ผักกาดหอม (วชิราภรณ์ เทียมพันธุ์, 2545) เนื่องจากเส้นใยของใบมีความชื้น จึงสนับสนุนให้จุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียชนิดอิงอาศัย (Epiphytic bacteria) รวมถึง *S. Enterica* สามารถเพิ่มจำนวนในบริเวณนี้ได้ดี (Brandl และ Mandrell, 2002 ; Brandl, 2006) ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษและกลุ่มของเชื้อที่ปนเปื้อนมากับผักใบ คือ *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. และไวรัสตับอักเสบเอ (Singh และคณะ, 2002) อนึ่งผักกาดหอมเป็นที่นิยมในการนำมาใช้ตกแต่งอาหาร และ ใช้ทำผักสลัดรับประทานสด ดังนั้นหากมีการจัดการควบคุมที่ไม่เหมาะสม รวมถึงขั้นตอนการล้างทำความสะอาดที่ไม่ถูกสุขลักษณะ โอกาสที่เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค จะเพิ่มความเสี่ยงของปัญหาที่ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้

จากปัญหาดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงผลของสารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่มีความสามารถลดปริมาณ หรือ ทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหารซึ่งใช้ *S. Typhimurium* เป็นตัวแทนในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการศึกษาความเข้มข้นและเวลา ของสารละลายน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพดที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 10 % และ สารสกัดจากขมิ้นชัน รวมถึงผลร่วมของสารละลายทั้งสองเพื่อเป็นทางเลือกทดแทนการใช้สารเคมีในการลดปริมาณเชื้อ และสามารถนำไปใช้ได้จริงในการล้างระดับครัวเรือน ธุรกิจร้านอาหาร ซูเปอร์มาร์เก็ตร้านค้าปลีก จนถึงระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ซึ่งไม่เกิดผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์และอันตรายต่อการบริโภค

## 1.2 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของความเข้มข้นน้ำส้มสายชูหมัก และ สารสกัดขมิ้นชัน และ ผลร่วมน้ำส้มสายชูหมักกับสารสกัดขมิ้นชัน ต่อการลดปริมาณ *S. Typhimurium*. ในระดับหลอดทดลอง จากนั้นจึงประยุกต์ใช้ในการทำลายเชื้อ ST บนผักกาดหอมสดด้วยสารละลายผสมที่เหมาะสมโดยใช้การประเมินคุณภาพทางจุลชีววิทยาและทางกายภาพ และผลกระทบที่ผิวของผักกาดหอม โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscopic; SEM) ก่อนทำการศึกษาอายุการเก็บรักษาผักกาดหอมสดที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่เลือกใช้ เพื่อเป็นพื้นฐานต่อการนำไปประยุกต์ใช้งาน

ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 1.3 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของความเข้มข้นของการใช้น้ำส้มสายชูหมัก และ/ หรือ ร่วมกับสารสกัดขมิ้นชัน ต่อการลดจำนวน *S. Typhimurium* ที่ฝักกาดหอม
2. ประสิทธิภาพของขั้นตอนการล้างผักด้วยสารละลายใช้น้ำส้มสายชูหมัก และ/ หรือ ร่วมกับสารสกัดขมิ้นชัน
3. อายุการเก็บรักษาฝักกาดหอมสดที่ผ่านขั้นตอนการล้างด้วยสารละลายน้ำส้มสายชูหมักและ/ หรือ ร่วมกับสารสกัดขมิ้นชัน

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถลดเชื้อ *S. Typhimurium* ซึ่งอาจปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม และ ในกระบวนการผลิต รวมถึงนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมและเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคผักสดสำหรับผู้บริโภคและใช้เป็นทางเลือกหนึ่งของการใช้สารจากธรรมชาติและสมุนไพรแทนการใช้สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ผักกาดหอม

ผักกาดหอมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lactuca sativa* L. เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Asteraceae (Compositae) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศแถบยุโรปและเอเชีย (Thompson และ Kelly, 1957) เป็นพืชที่ปลูกในประเทศเขตนานและเขตกึ่งร้อนของโลก ประเทศสหรัฐอเมริกาถือว่าเป็นแหล่งผลิตผักกาดหอมที่สำคัญของโลก ในปี ค.ศ.1997 สหรัฐอเมริกามีพื้นที่ปลูกผักกาดหอมทั้งสิ้นรวม 113,000 ไร่ ได้ผลผลิต 3.9 ล้านตัน เป็นมูลค่า 1,600 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ชนิดของผักกาดหอมที่นิยมปลูก คือ ผักกาดหวาน (Cos) ประมาณ 25-30 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิต รองลงมาคือ Butterhead และผักกาดหอมใบ (Leaf type) นอกจากนี้ยังมีการผลิตในอีกหลายประเทศ ได้แก่ อังกฤษ เนเธอร์แลนด์ อิตาลี ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น และอิสราเอล เป็นต้น (Ryder, 1998)

ผักกาดหอมเป็นพืชในเขตนาน เจริญเติบโตได้ดีเมื่ออุณหภูมิช่วงกลางวันอยู่ระหว่าง 18-25 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิช่วงกลางคืนอยู่ในช่วง 10-15 องศาเซลเซียส (Ryder, 1998) แต่ถ้าปลูกผักกาดหอมในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูง ผลผลิตสดที่ได้จะมีคุณภาพต่ำ คือ ใบมีรสขม และเกิดการแทงช่อดอกเร็ว ผักกาดหอมเป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิด แต่สามารถ 6.5-7.2 มีความชื้นในดินพอสมควร พื้นที่ปลูกผักกาดหอมควรให้ได้รับแสงเต็มที่ตลอดวัน มีธาตุอาหารอย่างเพียงพอ ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) นอกจากนี้ผักกาดหอมยังมีการตอบสนองต่อดินเค็ม โดยเฉพาะในดินทราย ซึ่งจะมีผลไปยับยั้งการงอกหรือทำให้การเจริญเติบโตชะงัก เกิดอาการแคะแกระ (Ryder, 1998; สุทธิชัย ปทุมล่องทอง, 2543; เมฆ จันทร์ประยูร, 2544)

#### 2.1.1 การเก็บรักษาผักกาดหอม

ผักกาดหอมเป็นพืชที่เน่าเสียได้ง่าย และเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้อง หลังจากเก็บเกี่ยวผักกาดหอมควรผ่านขั้นตอนการลดอุณหภูมิเฉียบพลันที่อุณหภูมิต่ำกว่า 2 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิที่ดีที่สุดในการเก็บรักษาผักกาดหอม คือ ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95-100 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษาผักกาดหอมได้นาน 12 วัน ซึ่งอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่กำหนดอายุการเก็บรักษาผักกาดหอม เช่น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน 6 วัน และที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาไว้ได้เพียง 1 วัน (Tan, 2005) สำหรับอุณหภูมิจุดเยือกแข็งไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของผักกาดหอมอยู่ที่ (-)0.2 องศาเซลเซียส โดยผักกาดหอมแสดงอาการช้ำน้ำ นุ่ม ซึ่งจะแสดงอาการเมื่อนำมาไว้ที่อุณหภูมิปกติ และเมื่อนำไปปรุงอาหารอาจจะเกิดกลิ่นที่ผิดปกติได้ (คณัย บุญยเกียรติ และ นิธิ ยารัตนาปนนท์, 2548) อุณหภูมิต่ำจะชะลอปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆ ของกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์พืชให้ดำเนินช้าลง และชะลออัตราการหายใจ (Lipton, 1987) เช่น ผักกาดหอมพันธุ์กรีนโอ๊คลิฟท์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีค่าอัตราการหายใจเท่ากับ 22.1 มิลลิกรัม CO<sub>2</sub> กิโลกรัม/ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าผักกาดหอมพันธุ์กรีนโอ๊คลิฟท์ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.4 มิลลิกรัม CO<sub>2</sub> กิโลกรัม/ชั่วโมง (Cantwell และคณะ, 1998) และอุณหภูมิต่ำยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและทางเคมีของผักกาดหอม เช่น การสูญเสียน้ำหนัก ซึ่ง Boonyakiat และคณะ (1986) รายงานว่า การเก็บรักษาผักกาดหอมห่อพันธุ์ King Crown ที่อุณหภูมิ 6-8 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน มีการสูญเสียน้ำหนัก 1.54 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียส มีการสูญเสียน้ำหนัก 5.6 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาของ Zepplin และ Elevehjem (1944) พบว่า ผักกาดหอมชนิดใบ (leaf lettuce) มีการสูญเสียวิตามินซีประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องนาน 1 วัน เป็นต้น แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิต่ำมีความสำคัญต่ออายุการวางจำหน่ายของผักกาดหอมมาก

นอกจากวิธีการเก็บรักษาโดยวิธีการใช้อุณหภูมิต่ำ การควบคุมหรือคัดแปลงบรรยากาศยังเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตผลได้ โดยใช้ออกซิเจน 1-3 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 0-5 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถลดอัตราการหายใจและผลกระทบเนื่องจากแก๊สเอทิลีนได้ (Cantwell และ Suslow, 2006) รวมไปถึงการบรรจุหีบห่อ และการใช้สารเคมี เช่น การใช้ 1-เมทิลไซโคลโพรเพน (1-methylcyclopropene: 1-MCP) ซึ่งช่วยชะลอการเสื่อมสภาพและการเน่าเสียของผลิตผลเนื่องจากการเกิดโรคได้ (Watkins และ Ekman, 2005)

## 2.2 แหล่งของจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหารที่ปนเปื้อนมากับผัก

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่มีความสัมพันธ์กับอาหารเมื่อมีการปนเปื้อนในอาหารพบว่าจุลินทรีย์บางชนิดเมื่อปนเปื้อนในอาหารจะสามารถเจริญได้ในอาหาร ในขณะที่บางชนิดไม่สามารถเจริญในอาหารแต่ยังไม่ตาย เนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียต้องการปัจจัยเสริมต่างๆ ที่ทำให้เชื้อสามารถเพิ่มจำนวน และอาจทำให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ สำหรับตารางที่ 2.1 แสดงถึงเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่มาจากแหล่งต่างๆ และ โอกาสที่จุลินทรีย์ก่อโรคจากแหล่งต่างๆ ที่เกิดการปนเปื้อนเข้าสู่ผักและผลไม้ แสดงในภาพที่ 2.1

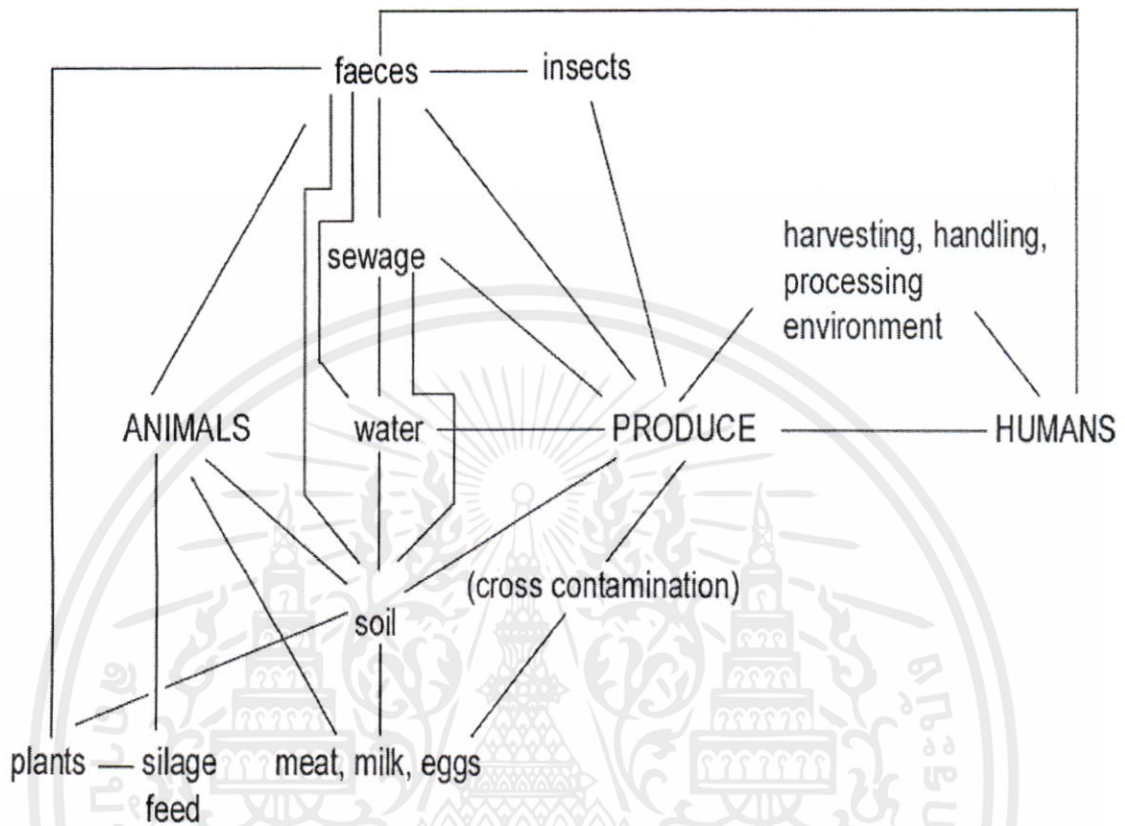
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาด้านการเกษตร ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่มาจากแหล่งต่างๆ

<b>PATHOGEN</b>	<b>SOURCE</b> (common or primary sources)	<b>COMMON TRANSMISSION VECTORS</b> (vector contaminated with pathogen)
<b>Bacteria</b>		
<i>Salmonella</i> spp.	animal feces	feces, water, soil
<i>E. coli, enterovirulent</i>	feces	feces, water, soil, people
<i>Listeria monocytogenes</i>	environment, soil, feces	feces, water, soil, environment
<i>Shigella</i> spp.	human feces	feces, water, people
<i>Clostridium</i> spp.	soil, feces	feces, water, soil
<i>Bacillus</i> spp.	soil, feces	feces, water, soil
<i>Staphylococcus aureus</i>	animal and human (skin, nose or throat secretions)	people, food contact surfaces
<i>Streptococcus</i> spp.	human nose or throat secretions	people, food contact surfaces
<b>VIRUSES</b>		
Hepatitis A virus	human feces	feces, water, people
Norwalk virus family	human feces	feces, water, people
Rotavirus	human feces	feces, water, people
<b>PROTOZOA (parasites)</b>		
<i>Giardia lamblia (duodenalis)</i>	human and animal feces (commonly associated with (beaver, muskrat)	feces, water, people
<i>Cryptosporidium parvum</i>	human and animal feces	feces, water, people
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	human and animal feces	feces, water, people
<i>Entamoeba histolytica</i>	human feces	feces, water, people
<b>HELMINTHS (parasitic worms)</b>		
<i>Ascaris lumbricoides</i>	human feces	feces, soil, water, people
<i>Trichuris trichiura</i>	human feces	feces, soil, water, people

ที่มา: [http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/risk\\_assessment\\_pdf/72ra.pdf](http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/risk_assessment_pdf/72ra.pdf).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 การปนเปื้อนข้ามสู่ผักและผลไม้  
ที่มา: Beuchat (1996)

เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนสู่ผักและผลไม้ในขณะเจริญในแปลงผักหรือในสวนระหว่างเก็บเกี่ยว การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ระหว่างกระบวนการแปรรูปและอื่นๆ แหล่งน้ำ สัตว์มนุษย์ รวมถึงแมลง (ปิยาณี จันทปัญญาศิลป์, 2542) ในหลายปีที่ผ่านมาจากการตรวจสอบและบันทึกข้อมูลพบว่ามีโรคระบาดเกิดขึ้นซึ่งมีสาเหตุอันเนื่องมาจาก ผัก และผลไม้ที่เพิ่มสูงมากขึ้นและโดยเฉพาะอย่างยิ่งผักและผลไม้ที่จัดเตรียมอาหารแปรรูปเบื้องต้น (Minimally processed foods) ซึ่งมีจำนวนของการระบาดที่พบเป็นสาเหตุ โดยบ่อยครั้งที่สุด คือ *Salmonella* spp. และ *E. coli*. (Food Safety and Environment Division, 2004) สำหรับตารางที่ 2.2 แสดงถึงข้อมูลการระบาดของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่จำเพาะในผักและผลไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับงานวิจัยเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การระบาดของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่จำเพาะในผักและผลไม้

Year Outbreak Occurred	Pathogen	Commodity Vehicle Identified	Number of Cases	Area Where Outbreak Occurred	Source of Pathogen or Commodity
1980	<i>E. coli</i> 0157:H7	Apple Cider	14	Ontario	Ontario, Canada
1981	<i>Listeria</i>	Coleslaw (Cabbage)	41	Nova Scotia	Canada
1988	<i>Salmonella</i> Saint Paul	Mung Bean Sprouts	143	United Kingdom	Seed from Thailand, Australia
1989	<i>Salmonella</i> Gold-Coast	Cress Sprouts	31	United Kingdom	Seed from Netherlands' Shipper
1990	<i>Salmonella</i> Chester	Cantaloupe	245	30 States	California, U.S.
1991	<i>Salmonella</i> Javiana	Watermelon	26	Michigan	Unknown
1991	<i>Salmonella</i> Poona	Cantaloupe	>400	23 States	California, U.S.
1992	<i>Salmonella</i> Enteritidis	Lettuce	12	Vermont	Unknown
1993	<i>E. coli</i> 0157:H7	Cantaloupe	29	Oregon	Unknown
1993	<i>Clostridium botulinum</i>	Carrot Juice	1	Washington	U.S.
1993	<i>E. coli</i> (ETEC)	Carrots	47	Rhode Island	U.S.
1993	<i>E. coli</i> (ETEC)	Carrots	121	New Hampshire	U.S.
1994	<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	Alfalfa Sprouts	595	Sweden, Finland	Seed from Australia
1995	<i>Salmonella</i> Newport	Alfalfa Sprouts	283	Oregon and BC (133), Denmark (150)	Seed from Netherlands' Shipper
1995	<i>Salmonella</i> Stanley	Alfalfa Sprouts	242	17 States	Unknown
1995	<i>Salmonella</i> Hartford	Orange Juice	63	21 States	U.S.
1995	<i>E. coli</i> 0157:H7	Iceberg Lettuce	23	Ontario	California, U.S.
1996	<i>Campylobacter jejuni</i>	Lettuce	14	Oklahoma	U.S., Cross-Contamination (Raw Chicken)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

Year Outbreak Occurred	Pathogen	Commodity Vehicle Identified	Number of Cases	Area Where Outbreak Occurred	Source of Pathogen or Commodity
1996	<i>E. coli</i> 0157:H7	Leaf lettuce	49	2 States	U.S.
1996	<i>Cyclospora</i>	Raspberries	978	20 States	California, U.S.
1996	<i>E. coli</i> 0157:H7	Apple Juice (unpasteurized)	71	3 States B.C.	U.S.
1996	<i>E. coli</i> 0157:H7	Apple Cider	14	Connecticut	U.S.
1996	<i>E. coli</i> 0157:H7	Lettuce (Mesclun and Red Leaf)	61	Connecticut, Illinois, New York	U.S.
1996	<i>E. coli</i> 0157:H7	Lettuce (Red Leaf)	27	Chicago	Queensland, Australia
1996	<i>E. coli</i> 0157:H7	Apple Cider	6	Washington	U.S.
1996	<i>Cryptosporidium</i>	Apple Cider	31	New York	U.S.
1996	<i>Salmonella</i> Newport	Alfalfa Sprouts	60	Quebec	Seed from Netherlands' Shipper
1996	<i>Salmonella</i> Montevideo and <i>S. Meleagridis</i>	Alfalfa Sprouts	500	2 States	California, U.S. Seed/Sprouter
1996	<i>E. coli</i>	Lettuce	11	Ohio	Unknown
1996	<i>E. coli</i> 0157:H7	Radish Sprouts	6,000+	Japan	Seed
1997	<i>E. coli</i> 0157:H7	Radish Sprouts	96	Japan	Unknown
1997	<i>E. coli</i> 0157:H7	Radish Sprouts	126	Japan	Unknown
1997	<i>Cyclospora</i>	Lettuce	29	Florida	Unknown
1997	<i>Salmonella</i> Meleagridis	Alfalfa Sprouts	78	Ontario, Alberta, Saskatchewan	Imported Seed
1997	<i>Salmonella</i> Infantis and <i>S. Anatum</i>	Alfalfa, Mung, Other Sprouts	109	2 States	Seed from U.S.
1997	<i>Salmonella</i> Senftenberg	Clover, Alfalfa Sprouts	60	2 States	U.S.
1997	<i>E. coli</i> 0157:H7	Alfalfa Sprouts	108	Michigan, Virginia	Seed (Idaho and Australia)
1997	<i>Salmonella</i> Saphra	Cantaloupe	24	1 State	Mexico

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Year Outbreak Occurred	Pathogen	Commodity Vehicle Identified	Number of Cases	Area Where Outbreak Occurred	Source of Pathogen or Commodity
1998	<i>E. coli</i> 0157:H7	Clover, Alfalfa Sprouts	8	Nevada, California	Seed or Sprouter
1998	<i>Shigella sonnei</i>	Parsley	342	4 States 4 Provinces (Ontario 35)	Mexico
1998	<i>Salmonella</i> Havana, S. Cubana, S. Tennessee	Alfalfa Sprouts	40	5 States	Seed Suspected
1998	<i>E. coli</i> 0157:H7	Apple Cider	14	Ontario	Canada
1998	<i>Salmonella</i> Oranienburg	Cantaloupe	22	Ontario	Unknown
1998	<i>Shigella sonnei</i>	Lettuce	160	Minnesota	Unknown
1998	<i>Salmonella</i> Havana	Alfalfa Sprouts	18	California (14) Arizona (4)	Seed
1998	<i>E. coli</i>	Coleslaw (Cabbage)	27	Indiana	U.S.
1999	<i>Salmonella paratyphi B</i> var Java	Alfalfa Sprouts	51	Alberta (43) B.C. (6) Sask. (2)	Unknown
1999	<i>E. coli</i> 0157:H7	Lettuce	47	Ohio Indiana	Unknown
1999	<i>Salmonella</i> Mbandaka	Alfalfa Sprouts	75	Oregon, Washington, Idaho, California	Seed
1999	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Orange Juice	400	Australia	Australia
1999	<i>Salmonella</i> Muenchen	Orange Juice	>207	14 States & 2 Provinces	U.S.
1999	<i>E. coli</i>	Apple Cider	7	Oklahoma	U.S.
1999	<i>Cyclospora</i>	Blackberries	104	Ontario	California, U.S.
1999	<i>E. coli</i> 0157:H7	Lettuce (Iceberg)	72	Nebraska	U.S.
1999	<i>E. coli</i>	Coleslaw (Cabbage)	27	Indiana	U.S.
1999	<i>E. coli</i>	Coleslaw (Cabbage)	19	Ohio	U.S.
1999	<i>Salmonella</i> Saint Paul	Sprouts	26	California	Seed/Sprouter
1999	<i>Salmonella</i> Muenchen	Alfalfa Sprouts	51	U.S. 1 State	Seed

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ของกรมวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ออกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

Year Outbreak Occurred	Pathogen	Commodity Vehicle Identified	Number of Cases	Area Where Outbreak Occurred	Source of Pathogen or Commodity
1999	<i>Salmonella</i> Typhimurium	Clover Sprouts	90	Colorado	Seed
2000	<i>Salmonella</i> Enteritidis PT4b	Bean Sprouts	25	Netherlands	Unknown
2000	<i>Salmonella</i> Enteritidis PT11	Mung Bean Sprouts	10+	Alberta, Saskatchewan	Seed
2000	<i>Salmonella</i> Enteritidis	Mung Bean Sprouts	45	California (45)	Unknown
2000	<i>E.coli</i>	Watermelon	>41	Milwaukee	Unknown
2000	<i>Salmonella</i> Enteritidis	Orange & Grapefruit Juice, Lemonade	74	7 States	California, U.S.
2000	<i>Salmonella</i> Poona	Cantaloupe	43	7 States 1 Prov. (B.C.)	Unknown
2001	<i>Salmonella</i> Poona	Cantaloupe	30	8 States	Mexico
2001	<i>Salmonella</i> Kottbus	Alfalfa Sprouts	32	4 States	Seed from Australia
2001	<i>Salmonella</i> Enteritidis	Mung Bean Sprouts	84	Alberta, B.C., Saskatchewan	Unknown

ที่มา: [http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/risk\\_assessment\\_pdf/71ra.pdf](http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/risk_assessment_pdf/71ra.pdf).

### 2.3 ความสำคัญของเชื้อ *Salmonella*

เชื้อ *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ หายใจโดยใช้ออกซิเจนหรือไม่ใช้ออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างแท่ง เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลาที่มีอยู่โดยรอบ (peritrichous flagella) ยกเว้น *S. Pullorum* และ *S. Gallinarum* และบางซีโรไทป์ที่ไม่เคลื่อนที่ สามารถสร้างกรดและแก๊สจากกลูโคส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของ *Salmonella* spp. คือ 37 องศาเซลเซียส สามารถย่อยสลายน้ำตาลดี-กลูโคส (d- Glucose) และคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆ สร้างกรดและแก๊ส (Montville และ Matthews, 2005) โดยปกติให้ผลบวกต่อการทดสอบเอนไซม์กลุ่มคะตะเลส (catalase-positive) ผลลบต่อการทดสอบเอนไซม์กลุ่มออกซิเดส (oxidase-negative) สามารถเปลี่ยนไนโตรเจนให้เป็นไนไตรท์ เจริญในซิเตรทซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน โดยทั่วไปสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H<sub>2</sub>S) คีคาร์บอกซิเลตไลซีน (decarboxylate lysine) และ ออร์นิติน (ornitine) แต่ไม่สามารถย่อยสลาย

ยูเรียได้ (ICMSF, 1998) *Salmonella* เป็นชื่อจีนัสมีหลายซีโรวาร ในที่นี้ใช้คำว่า *Salmonella* spp. แทนชื่อแบคทีเรียสายพันธุ์ชนิดนี้ *Salmonella* spp. มีบทบาททำให้เกิดโรคที่มีอาหารเป็นพาหะ ถูกพบครั้งแรกในช่วงปลายศตวรรษ 1800 ทำให้เกิดไข้ไทฟอยด์ นับแต่นั้นมาได้มีการพยายามที่จะเข้าใจและควบคุมจำนวน *Salmonella* spp. และ จัดเป็นปัญหาสำคัญต่อนักจุลชีววิทยาทั่วโลก เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้มีความสัมพันธ์กับ คน สัตว์ และ สิ่งแวดล้อม (Jay, 2000) ในการตั้งชื่อของ *Salmonella* spp. เป็นข้อตกลงระหว่างประเทศ ซีโรวารที่บ่งชี้ถึงสปีชีถูกตั้งชื่อขึ้นตามสถานที่ ที่แยกเชื้อนั้นได้ในครั้งแรก เช่น *S. London*, *S. Miami*, *S. Richmond*, *S. Muenchen*, *S. Bangkok* และ *S. Ratchaburi* เป็นต้น ซึ่งก่อนหน้านั้น ได้มีการตั้งชื่อเชื้อซัลโมเนลลาหลายแบบ ตัวอย่างเช่น *S. Typhimurium* ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์ในหนูทดลอง (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

การแบ่งกลุ่มของ *Salmonella* spp. โดยอาศัยหลักการทางระบาดวิทยา ทำให้จำแนก *Salmonella* spp. ออกมาเป็น 3 กลุ่ม (Blake และคณะ, 1980; Sakazaki, 1979) คือ กลุ่มที่ 1 ก่อโรคในคน โดยมี 2 ซีโรวาร ที่มีความสำคัญ คือ *S. Typhi* และ *S. Paratyphi* ซึ่งสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสโลหิต และแพร่กระจายไปได้ทั่วร่างกาย เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์ และ ไข้รากสาดน้อยตามลำดับ อาจเรียกรวมกันว่าโรคไข้เอนเทอริก (enteric fever) ในกลุ่มที่ 2 จะเป็น *Salmonella* spp. ที่ก่อโรคในสัตว์ โดยปกติแล้วจะพบในสัตว์ที่เป็นโฮสต์ในแต่ละชนิด เช่น *S. Pullorum*, และ *S. Gallinarum* พบในไก่ ขณะที่ *S. Dublin* พบในวัว *S. Abortus-equi* พบในม้า *S. Abortus-ovine* พบในแกะ และ *S. Choleraesuis* พบในสุกร (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) และ กลุ่มที่ 3 ที่ก่อโรคทางเดินอาหารอักเสบ (gastroenteritis *Salmonella* spp.) เป็นกลุ่มของ *Salmonella* spp. ที่อยู่นอกเหนือจาก 2 กลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น เนื่องจากสามารถมีชีวิตอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เป็นผลให้ *Salmonella* spp. กลุ่มนี้แพร่กระจายไปได้กว้างในสิ่งแวดล้อม เช่น ในดิน น้ำ อุปกรณ เครื่องมือ หรือแม้กระทั่งแพร่ไปกับคนหรือสัตว์ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เรียกว่า Salmonellosis กับ มนุษย์ ตัวอย่างเช่น *S. Typhimurium* ซึ่งส่วนใหญ่จะทำให้เกิดอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบ บางซีโรไทป์เท่านั้นที่จะบุกรุกเข้ากระแสโลหิตและทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบอื่นๆ (Jay, 2000)

เชื้อ *Salmonella* เจริญได้ดีในช่วงของกรด-ด่าง ระหว่าง 4.0-9.0 สามารถเจริญได้ในสภาพที่มีค่ากรด-ด่าง สูงถึง 9.5 และอาจต่ำถึง 4.05 สำหรับบางสายพันธุ์ Chung และ Goepfert (1970) รายงานว่า สามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของกรด-ด่าง เมื่อใช้กรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริกเพื่อปรับค่ากรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อ มากกว่าการใช้กรดอะซีติกเพื่อปรับค่ากรด-ด่าง กล่าวคือ เชื้อ *Salmonella* ถูกยับยั้งด้วยกรดอะซีติกมากกว่ากรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก ความสามารถของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษายานาน ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Salmonella* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้กรดแต่ละชนิดเป็นตัวปรับค่ากรด-ด่าง แสดงดังตารางที่ 2.3

สำหรับค่า  $a_w$  ที่เหมาะสมกับการเจริญอยู่ประมาณ 0.995-0.999 ในอาหารที่มีความชื้นต่ำ เช่น เนยถั่ว ช็อกโกแลต เป็นต้น หากมีการปนเปื้อนด้วย *Salmonella* พบว่าเซลล์สามารถรอดชีวิตได้นานเกิน 30 วัน นอกจากนั้นการเติมโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ความเข้มข้น 3.0% - 4.0% เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารสามารถยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* spp. ได้ (Robinson และคณะ, 2000)

ตารางที่ 2.3 ค่า กรด-ด่างต่ำสุดที่ *Salmonella* Anatum, *S. Tennessee* และ *S. Senftenberg* เจริญได้ในกรดแต่ละชนิดภายใต้สภาวะที่เพาะเลี้ยงเชื้อ ในห้องปฏิบัติการ

ชนิดกรด	ค่ากรด-ด่าง
กรดไฮโดรคลอริก	4.05
กรดซัลฟูริก	4.05
กรดคาร์บอริก	4.10
กรดกลูโคนิก	4.20
กรดฟูมาลิก	4.30
กรดมาลิก	4.30
กรดแลกติก	4.40
กรดซัคซินิก	4.60
กรดกลูทาริก	4.70
กรดอะซิติก	5.10
กรดพิเมริก	5.10
กรดอะซีติก	5.40
กรดโพธิโอนิก	5.50

ที่มา : Chung และ Goepfert (1970)

สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 35-37 องศาเซลเซียส ขึ้นกับสายพันธุ์เชื้อ *Salmonella* ตามปกติเชื้อ *Salmonella* สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิกว้าง คือ 5-47 องศาเซลเซียส

*Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ทนความร้อน สามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ภายใน 15-20 นาที และไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส (Tartakow และ Vorperian, 1970) แม้ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ออกกึ่งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1981) เชื้อ *Salmonella* บางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 48 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการกลายพันธุ์ของสายพันธุ์ปกติ ในสภาวะที่อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมสูงกว่าอุณหภูมิสูงสุดที่เชื้อ *Salmonella* สามารถเจริญได้ เชื้อ *Salmonella* จะตายอย่างรวดเร็ว เซลล์มักจะถูกทำลายได้อย่างรวดเร็ว โดยกระบวนการแปรรูปอาหารโดยใช้ความร้อน เช่น พาสเจอร์ไรซ์ อย่างไรก็ตามในอาหารที่มีโปรตีนและไขมันสูง มีผลให้  $a_w$  ของอาหารจะช่วยป้องกันเซลล์จากการถูกทำลายได้ (Robinson และคณะ, 2000)

### 2.3.1 ความสามารถในการทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร

เมื่อเชื้อ *Salmonella* ที่มีอาหารเป็นพาหะรอดชีวิตจากการย่อยของระบบทางเดินอาหาร และมีจำนวนเซลล์มากพอที่จะก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหาร การติดเชื้อโดยทั่วไปต้องการจำนวนเซลล์ประมาณ  $10^6$ - $10^8$  cfu/กรัม แต่จากหลักฐานทางระบาดวิทยา การติดเชื้ออาจเกิดจากเซลล์เพียงแค่ 2-3 เซลล์เท่านั้น (Robinson และคณะ, 2000) เซลล์จะเข้าเกาะที่เนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารและเข้าไปอยู่ในลำไส้เล็กส่วนปลาย แล้วเพิ่มจำนวนขึ้น หลังจากนั้นจะผ่านผนังลำไส้เล็กเข้าสู่ระบบท่อน้ำเหลืองเข้าทำลายเม็ดเลือดขาว เมื่อเข้าสู่กระแสเลือดจะทำให้เกิดอาการ โลหิตเป็นพิษ (สุเมธชา วัฒนสินธุ์ และคณะ, 2545)

เชื้อ *Salmonella* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้จากสารพิษเอนโดทอกซิน (endotoxin) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ พอลิแซคคาไรด์-พอลิเพปไทด์ลิปิด เอ (polysaccharide-polypeptide-lipid A) มีอยู่ที่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เมื่อผู้บริโภคนอาหารที่มีเชื้อนี้เข้าไปในปริมาณที่สูงพอ จะเกิดอาการภายใน 6-36 ชั่วโมง (Hobbs และ Gilbert, 1978) โดยความรุนแรงของอาการจะแตกต่างกันตามปริมาณของเชื้อ สายพันธุ์ และความต้านทานของผู้บริโภค

อาการเป็นพิษของเชื้อ *Salmonella* เกี่ยวข้องกับสารพิษ 2 ชนิด คือ เอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) และ ไซโตทอกซิน (cytotoxin) Koupal และ Deibel (1975) รายงานว่าความเป็นพิษของเอนเทอโรทอกซินของ เชื้อ *Salmonella* จะทำให้เกิดลักษณะความเป็นพิษคล้ายกับพิษของเชื้อ *E. coli* โดยทำให้ Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP) เพิ่มขึ้นในลำไส้และชักนำให้ของเหลวในร่างกายของสัตว์ทดลองตกตะกอน นอกจากนี้เอนเทอโรทอกซินของเชื้อ *Salmonella* ยังมีลักษณะทางชีวภาพและพันธุกรรมคล้ายกับสารพิษของเชื้ออหิวาต์ (cholera toxin-CT) ทำให้เชื้อ *Salmonella* ยังก่อให้เกิดอาการคล้ายบิด ทำลายเนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นอาการที่นอกเหนือจากฤทธิ์ของเอนเทอโรทอกซิน นอกจากนี้จากการวิจัยในสัตว์ทดลองพบว่า สารพิษที่ทำให้เกิดอาการคล้ายบิด และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้เยื่อลำไส้ของสัตว์ทดลองถูกทำลายคือสารพิษประเภท ไซโตทอกซิน (Koo และ Peterson, 1983)

### 2.3.2 การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในผัก

ในปัจจุบันผักและผลไม้ถือเป็นกลุ่มสินค้าที่หลายประเทศเฝ้าระวังเกี่ยวกับอันตรายทางชีวภาพที่เกิดจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ทั้งกลุ่มผักที่ส่งออกนอกประเทศ และ จำหน่ายภายในประเทศ และได้มีรายงานว่าผักและผลไม้เป็นพาหะของการเกิดโรค Salmonellosis ในมนุษย์ ระหว่างการผลิต การเก็บเกี่ยว และการกระจายสินค้าของประเทศเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน เนื่องจากมีกระบวนการที่ไม่ถูกสุขลักษณะ จึงมีโอกาสทำให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดนี้ในผลิตภัณฑ์ได้ง่าย (ICMSF, 1998) และพบว่าการระบาดของโรคที่เกิดจากการบริโภคผักและผลไม้สดในประเทศสหรัฐอเมริกา มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา เนื่องจากวิธีการเกษตรและกระบวนการแปรรูปผักและผลไม้สดเปลี่ยนแปลงไปประกอบกับความต้องการในการบริโภคผักและผลไม้สดของผู้บริโภคมีสูงขึ้นด้วย (Beuchat, 2002)

การปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักสดพบได้ในระหว่างการปลูก การจัดการหลังจากการเก็บเกี่ยว การใช้ปุ๋ยหมักจากสัตว์ (animal manure) หรือจากคน (night soil) รวมถึงน้ำที่มีการปนเปื้อน ดังนั้นจึงไม่ควรรับประทานผักสดที่ไม่ผ่านความร้อนและขั้นตอนล้างที่ไม่เหมาะสม (มนจันทร์ คำยา, 2542) ต่อมาได้มีการตรวจพบเชื้อ *S. Typhimurium* และ *E. coli* O157:H7 ที่ใบและรากของผักที่ปลูกโดยใช้ปุ๋ยคอก (Natvig และคณะ, 2002) ทั้งนี้เนื่องจาก *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 และ *L. monocytogenes* สามารถรอดชีวิตอยู่ในปุ๋ยคอกได้เป็นระยะเวลาานาน (Tauxe, 1997; Brackett, 1999; อิศร และ ปรีชา จึงสมานกุล, 2538)

### 2.4 น้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชู (Vinegar) หรือ กรดอะซิติก (acetic acid) เป็นสารละลายใส มีสีหรือไม่มีสีขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต ทั้งนี้คำว่า Vinegar มาจากภาษาฝรั่งเศส 2 คำ คือ Vin แปลว่าไวน์ และ Aigre แปลว่าเปรี้ยว การผลิตน้ำส้มสายชูเพื่อการบริโภคมีมานานพอๆกับการทำไวน์ประมาณ 10,000 ปีมาแล้ว (Crueger และ Crueger, 1990) โดยชาวโรมันและกรีกผลิตน้ำส้มสายชูได้จากการปล่อยไวน์ทิ้งไว้ให้เกิดการหมักในธรรมชาติ จากนั้นนำมาทำเจือจางและใช้เป็นเครื่องดื่ม ในปัจจุบันน้ำส้มสายชูเป็นเครื่องปรุงรสที่ผลิตได้จากจากวัตถุดิบแป้งหรือน้ำตาล โดยกระบวนการหมัก 2 ระยะ คือ การหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* หลังจากนั้นจึงเป็นการออกซิไดส์แอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกโดยแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักที่ได้มีกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ในการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะซิติกไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มล. หรือ 4% และเอทานอลไม่มากกว่า 0.5% (น้ำหนักต่อปริมาตร) (Beech และคณะ, 1985; Frazier และ Westhoff, 1988)

#### 2.4.1 ชนิดของน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชู หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส ทำจากวัตถุดิบประเภท ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาล หรือกากน้ำตาล ตามกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูแต่ละประเภท มีรสเปรี้ยวที่เกิดจากกรดอะซิติกเป็นส่วนใหญ่ โดยในปัจจุบันการผลิตน้ำส้มสายชูในประเทศส่วนใหญ่อยู่ในลักษณะของ “น้ำส้มสายชูกลั่น” ซึ่งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำส้มสายชู มอก.83-2527 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2527) ได้แบ่งน้ำส้มสายชูกลั่นออกเป็น 2 ประเภท คือ Distilled Vinegar (หมายถึง น้ำส้มสายชูที่ได้จากการกลั่นน้ำส้มสายชูหมัก) หรือ Spirit vinegar (หมายถึง น้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักแอลกอฮอล์ หรือ เอทานอลเจือจางกับหัวเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีการผลิต แล้วนำไปกลั่นหรือกรอง) น้ำส้มสายชูอีกประเภท เรียกว่า “น้ำส้มสายชูหมัก” (Fermented Vinegar) อาศัยกระบวนการผลิต 2 ขั้นตอน ประกอบด้วย ขั้นตอนแรกเป็นขั้นตอนการหมักไวน์เพื่อผลิตแอลกอฮอล์ หรือ เอทานอล โดยอาศัยเชื้อยีสต์ ขั้นตอนที่ 2 เป็นขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ที่ผลิตได้จากขั้นตอนแรก โดยนำมาปรับสูตรให้ได้ระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และกรดอะซิติก (ซึ่งรวมเรียกว่า “ความเข้มข้นทั้งหมด (Total Concentration)”) ให้อยู่ในระดับที่ต้องการ พร้อมทั้งเติมสารอาหารแล้วทำการหมักด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างกรดอะซิติก เมื่อพิจารณาถึงกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักสามารถทำให้เข้าใจได้ว่าน้ำส้มสายชูหมักมีคุณค่าทางโภชนาการที่มาจากผลไม้ที่ใช้ในการหมักไวน์ โดยเฉพาะแร่ธาตุ (trace element) ต่างๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของผู้บริโภค อีกทั้งยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (วราวุฒิ ครูส่ง, 2551)

#### 2.4.2 ผลของน้ำส้มสายชูหมักต่อจุลินทรีย์

กรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูจะทะลุผ่านผนังเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ และทำให้โปรตีนของโครงสร้างเซลล์เสียไป เมื่อเข้าไปในเซลล์ กรดจึงแตกตัวและทำให้ความเป็นกรด-ด่างภายในเซลล์ลดลง ทำให้มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ (ปิยานี จันทบัญญัติศิลป์, 2542) จากการศึกษาของ Krusong และคณะ (2007) ในกระบวนการผลิตปลาข้างเหลืองกึ่งแห้ง พบว่าเมื่อจุ่มลงในน้ำส้มสายชูหมักที่ระดับความเข้มข้น 1.1% ระยะเวลา 15 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *Vibrio* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนการศึกษาของ Sengun และ Karapinar (2005) พบว่า เมื่อนำน้ำส้มสายชูมาผสมกับน้ำมะนาวในอัตราส่วน 1:1 แช่ผักสด rocket เป็นเวลา 15 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ *S. Typhimurium* ได้

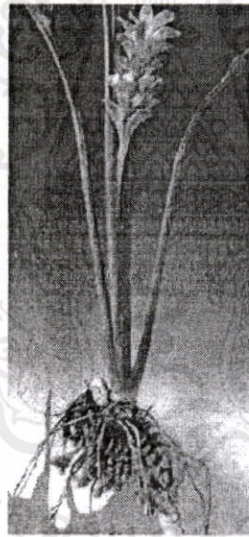
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างสมบูรณ์จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6log CFU/g น้ำส้มสายชูหมักยังนำมาประยุกต์ใช้กับเนื้อสัตว์เช่น เนื้อหมู ซึ่งจากการทดลอง Kudkaew และ Krusong (2007) รายงานว่าน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้น 1.0% ระดับค่า pH 4.05 ในเวลา 55 นาที สามารถที่จะลดเชื้อ *S. Anatum* ได้ 1 log cycle และ ยังคงรักษาคุณภาพของเนื้อให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

## 2.5 ขมิ้นชัน

### 2.5.1. ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและการทดลองทางคลินิกของขมิ้น

ขมิ้นชันมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Curcuma longa* Linn. ชื่อวงศ์ Zingiberacea ชื่ออังกฤษ Turmeric เป็นพืชล้มลุกมีเหง้าอยู่ใต้ดิน เนื้อในของเหง้าขมิ้นชันมีสีเหลืองเข้มจนสีแสดจัด มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ใบรูปรียาวว ปลายแหลมคล้ายใบพุทธรักษา ดอกออกเป็นช่อ มีก้านช่อแทงจากเหง้าโดยตรง ออกตรงกลางระหว่างใบคู่ในสุด ดอกสีขาว มีแถบสีเหลืองคาด มีกลีบประดับสีขาวหรือเขียวดังแสดงในภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ลักษณะของเหง้าสดและแห้งของต้นขมิ้นชัน

ที่มา: <http://www.ronghosp.org/hosmain/samompai-thai/herbal/herbimg/curcuma.jpg>.

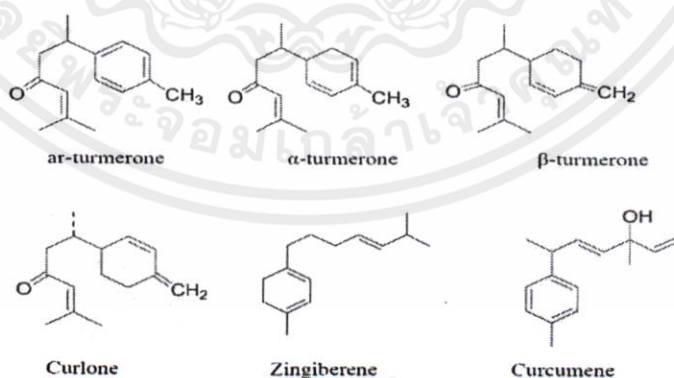
Chattopadhyay และคณะ (2004) รายงานว่าส่วนประกอบของขมิ้นมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาและการทดลองทางคลินิกหลายอย่าง ประกอบด้วย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.1 น้ำมันมีผลเล็กน้อยต่อเชื้อแบคทีเรียอันเป็นสาเหตุของวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) สารที่สกัดจากใบขมิ้นชันด้วยเมธานอลและน้ำมันมีฤทธิ์ในการบีบมดลูกของหนูตะเภา ซึ่งตัดแยกจากร่างกาย

2.5.1.2 สารสกัดของเหง้าขมิ้น มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ด้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคหลายชนิดซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัดและความเข้มข้น พบว่า ส่วนของ oil fraction เป็นส่วนสำคัญในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilis* และ *L. plantarum* แต่ไม่มีผลต่อเชื้อ *E. coli*, *Streptococcus lactis* และ *Strep. faecalis* นอกจากนี้ Shankar และ Murthy, (1979) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ ของน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดขมิ้นชัน โดยพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staph. aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *S. Paratyphi*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas solacearen*, *Xanthomonas citri* และ *X. maluacearum*

### 2.5.2 โครงสร้างและองค์ประกอบหลักทางเคมีของขมิ้นชัน

สารสำคัญที่พบในเหง้าของขมิ้นชันประกอบด้วยสารหลัก 2 ประเภท คือ น้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีสารประกอบหลัก ได้แก่ ar-turmerone,  $\alpha$ -turmerone,  $\beta$ -turmerone, curlone, zingiberene และ curcumene ดังแสดงในภาพที่ 2.3 จากรายงานของ Singh และ คณะ (2002) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดขมิ้นชันซึ่งประกอบด้วย Ar-turmerone,  $\beta$ -tumerone,  $\alpha$ -tumerone และ AR-curcumyl alcohol (Turmeric oil) มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบทั้ง *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, และ *S. Typhimurium* และ สำหรับส่วนของสารสกัดน้ำของขมิ้นชันพบว่า ในระดับความเข้มข้น 0.3 มล. มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *E. coli*, *S. Paratyphi*, *S. Typhimurium* และ *Staph. aureus* (Srinivasan และคณะ, 2001)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลทางเคมีของสารองค์ประกอบหลักในสารสกัดขมิ้นชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ที่มา: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/8/55#B7>.

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.5.3 ข้อกำหนดมาตรฐานของขมิ้นชัน

การผลิตขมิ้นชันตามมาตรฐานที่สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข มีรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ข้อกำหนดมาตรฐานของการผลิตขมิ้นชัน

รายการ	ไม่เกิน (% w/w)	ไม่น้อยกว่า (% w/w)
ปริมาณสิ่งแปลกปลอม(% w/w)	2	
ปริมาณความชื้น(% w/w)	10	
ปริมาณเถ้ารวม(% w/w)	8	
ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด(% w/w)	1	
ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล(% w/w)		10
ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ(% w/w)		9
ปริมาณน้ำมันหอมระเหย(% w/w)		6
ปริมาณเคอร์คูมินอยด์คำนวณเป็นเคอร์คูมิน(% w/w)		5

ที่มา : สถาบันวิจัยสมุนไพร (2544)

### 2.5.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

(Gas Chromatography/ Mass spectrometry; GC-MS)

เครื่อง GC-MS เป็นเครื่องมือที่ประกอบไปด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนของเครื่อง GC (Gas chromatography) ซึ่งเป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการแยกองค์ประกอบของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างให้ออกมาทีละองค์ประกอบ ก่อนที่จะเข้าสู่ detector และอีกส่วนคือ เครื่อง MS (Mass spectrometry) ซึ่งจะทำหน้าที่เป็น detector ในการตรวจสอบว่า องค์ประกอบต่าง ๆ ที่ผ่านออกมาจากเครื่อง GC นั้น มีเลขมวล (mass number) เป็นเท่าไร เพื่อที่จะทำนายว่า สารที่วิเคราะห์ประกอบด้วยองค์ประกอบชนิดใดบ้าง และมีปริมาณเท่าไร ซึ่งเทคนิคนี้เหมาะที่จะใช้กับสารที่มีคุณสมบัติพิเศษ คือสามารถระเหยเปลี่ยนสถานะของสารละลายกลายเป็นแก๊สและกลไกที่ใช้ในการแยกองค์ประกอบในสารตัวอย่างมีอยู่ 2 phase คือ stationary phase และ mobile phase (Jayaprakasha และ คณะ, 2002) สำหรับรายละเอียดที่สำคัญของเครื่อง GC-MS มีดังนี้

#### 2.5.4.1 องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง GC สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับเรา ใช้เฉพาะเพื่อการศึกษานี้เท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) Injector คือ ส่วนที่สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าสู่เครื่อง และระเหยเป็นแก๊ส พร้อมกับถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนที่จะเข้าสู่คอลัมน์ คุณสมบัติที่เหมาะสมของ injector ควรเป็นอุณหภูมิที่สูงพอที่จะทำให้สารตัวอย่างสามารถระเหยได้แต่ต้องไม่ถูกทำให้สลายตัว (decompose)

2) Oven คือ ส่วนที่ใช้สำหรับบรรจุ column เอาไว้ และเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิของ column ให้เปลี่ยนไปตามความเหมาะสมกับสารที่ถูกฉีด ซึ่งอุณหภูมิของ oven นั้น จะสามารถปรับเปลี่ยนได้ 2 แบบ คือ isocratic temperature และ gradient temperature แล้วแต่ความต้องการของผู้วิเคราะห์ ข้อดีของการทำ gradient temperature คือ สามารถใช้กับสารตัวอย่างที่มีจุดเดือดกว้าง (wide boiling range) และยังช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์ลงได้อีกด้วย

3) Detector คือ ส่วนที่จะใช้สำหรับตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง เพื่อให้ทราบปริมาณสารที่ต้องการวัด ซึ่งความสามารถของการตรวจวัดขึ้นอยู่กับชนิดของ Detector ที่เลือกใช้ ชนิดของ detector ที่ใช้กับเครื่อง GC นั้นมีอยู่หลายประเภท เช่น

- Thermal Conductivity Detector
- Flame Ionization Detector
- Electron Capture Detector
- Mass Spectrometry

#### 2.5.4.2 คุณสมบัติของเครื่องแมสสเปกโทเมตรี (Mass spectrometry; MS)

Mass Spectrometry (MS) เป็น detector ที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างโดยอาศัยกลไก คือ โมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC นั้นจะถูก ionize ในสภาวะที่เป็นสุญญากาศ แล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (mass number) เทียบกับข้อมูลอ้างอิงแล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้น ๆ โดยองค์ประกอบสำคัญของ MS แบ่งออกเป็น

##### 1.) Ionization Source แบ่งออกเป็น 2 แบบคือ

Electron Ionization (EI) เป็นการทำให้สารเกิด Fragment โดยใช้ลำ Electron ซึ่ง Ionization chamber ต้องมีความดันต่ำประมาณ  $10^{-8}$  Torr โดย Electron จาก Filament ที่ร้อนจะถูกโฟกัสผ่านห้องนี้และถูกดึงเข้าหา repeller voltage ที่มีความต่างศักย์ 70 โวลต์ ซึ่งจะให้พลังงานกับ Electron เป็น 70 eV ทำให้ของผสมที่ซับซ้อนของไอออนเกิดการแตกหัก (Fragmentation ion) ที่สามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างและความอุดมสัมพัทธ์ (Relative abundance)

Chemical Ionization (CI) เป็นการทำให้สารเกิดการ Fragment ด้วยวิธีทางเคมีโดยเลือกสารที่เป็นเออร์เกอร์ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อกระตุ้นมาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าผสมสารตัวอย่าง (ความดัน  $10^{-4}$  Torr) เข้ากับแก๊สที่ทำปฏิกิริยาด้วย (ความดัน 1 Torr) แล้วผ่านสารผสมไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้าไปใน Ionization chamber โดยการทำให้เกิดการ Fragment ด้วยการชนกับ Electron เช่นเดียวกันแก๊สที่ใช้ได้แก่ Methane, Isobutane, Ammonia

## 2.) Mass Analyzer

เป็นเครื่องวิเคราะห์มวล มีหลายแบบ คือ Magnetic-sector analyzer, Electrostatic analyzer, Time-of-flight analyzer, Ion cyclotron resonance analyzer, Quadrupole mass spectrometer-Quadrupole Mass Spectrometer ใช้หลักการวิเคราะห์ด้วยสนามแม่เหล็ก คือ เป็น Path-stability mass spectrometer ซึ่งมีแหล่งผลิต Ion source 2 ส่วนโดยส่วนแรกจะทำให้ตัวอย่างกลายเป็นไอออน และส่วนที่ 2 ทำให้สารมาตรฐานกลายเป็นไอออนลำไอออนทั้งสองจะถูกบังคับให้ผ่านเครื่องแยกไอออนชุดเดียวกัน ดังนั้นไอออนทั้งหมดจะได้รับอิทธิพลจากสนามแม่เหล็กในสภาวะเดียวกัน แต่ถูกตรวจและวัดด้วยเครื่อง Detector แยกกันซึ่งมีข้อดีคือทำให้สามารถวัดมวลได้อย่างถูกต้องแม่นยำ

### 2.5.4.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์สารของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี / แมสสเปคโตรเมทรี

เมื่อเตรียมตัวอย่างสารเสร็จเรียบร้อยแล้วก็นำมาฉีดเข้าทาง injector ของเครื่อง GC จากนั้นสารก็จะถูกแยกออกเป็นองค์ประกอบต่าง ๆ เมื่อผ่านเข้าสู่ column ที่อยู่ใน oven แต่มีข้อกำหนดอยู่ว่าตัวอย่างที่จะนำมาฉีดนั้นจะต้องเป็นสารละลายใสไม่มีตะกอน จากนั้นองค์ประกอบใดที่ถูกแยกออกมาจาก column ก่อนก็จะผ่านเข้าไปในส่วนเครื่อง MS ซึ่งมีสถานะเป็นสุญญากาศก่อน แล้วเข้าไปเจอกับ ion source ซึ่งจะทำหน้าที่ ionize โมเลกุลที่ผ่านเข้ามาให้กลายเป็นประจุ จากนั้นประจุเหล่านี้ก็จะเดินทางผ่านเครื่องและแยกขนาดของประจุ (mass analyzer) ว่าประจุเหล่านั้นประกอบไปด้วยขนาดมวลเท่าใด ก่อนที่จะเดินทางเข้าสู่เครื่องตรวจวัดปริมาณประจุ (detector) เพื่อตรวจหาปริมาณของประจุแล้วแปลผลออกมาเป็นปริมาณขององค์ประกอบแต่ละตัวที่มีอยู่ในสารตัวอย่างนั้น ๆ

## 2.5.5 วิธีการสกัดสาร (Negi และ คณะ, 1999)

### 2.5.5.1 การกลั่นแบบใช้น้ำ (Water distillation หรือ Hydrodistillation)

เป็นวิธีง่ายที่สุดของการกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยพืชที่ใช้เป็นวัตถุดิบที่กลั่นจะจมอยู่ในน้ำเดือดทั้งหมดหรือเกือบทั้งหมด น้ำภายในหม้อต้มกลั่นถูกทำให้ร้อนด้วยการให้ความร้อนโดยตรงกับหม้อต้มกลั่นหรือการใช้ไอน้ำไปทำให้หม้อต้มกลั่นร้อน สามารถควบคุมอุณหภูมิขณะกลั่นได้ง่าย ใช้เวลาในการสับเปลี่ยนวัตถุดิบน้อยและสามารถทำให้หม้อต้มกลั่นร้อนขึ้นได้เร็วกว่าการให้ความร้อนโดยตรงกับหม้อต้มกลั่น การกลั่นแบบใช้น้ำนี้เคยใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่ก็ยังมีข้อเสียหลายประการ คือ ไม่สามารถจะให้ความร้อนได้อย่างสม่ำเสมอ ดังนั้นจึงทำให้อัตราการกลั่นไม่สม่ำเสมอ บางครั้งการให้ความร้อนสูงในการกลั่น ทำให้เกิดการกลั่นใหม่ติดไปในน้ำมันหอมระเหยด้วย การกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่รวบรวมไว้เพื่อใช้ในการอ้างอิงเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่นใดได้โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบใช้น้ำนี่จะเป็นไปอย่างช้าๆ น้ำมันจะสัมผัสกับน้ำเดือดเป็นเวลาก่อนข้างนานซึ่งอาจทำให้มีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยได้

#### 2.5.5.2 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Solvent extraction)

เป็นการสกัดโดยการเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมซึ่งเป็น volatile hydrocarbon เช่น hexane, benzene หรือ petroleum ether สกัดเอาสารหอมออกมาอีกเรียกว่า Concrete จากนั้นสกัดแยกตัวทำละลายออกโดยการกลั่นภายใต้ความดันจะได้สารหอมเรียก Absolute วิธีนี้จะได้น้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นคงเดิมเพราะไม่มีการสลายตัว โดยวิธีสกัดวิธีนี้สามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

1) การสกัดเย็น (Maceration) โดยทำการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารในพืชสมุนไพรแล้วนำพืชสมุนไพรไปใส่ไว้ในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่หรือโถ ทำการแช่เป็นเวลาอย่างน้อย 3 วัน จากนั้นนำมากรองแล้วบีบเอาสารสกัดออกจากกากสมุนไพรให้ได้มากที่สุด นำสารละลายสมุนไพรที่ได้ไปทำการกรองเอาเศษสมุนไพรที่ติดมาออกให้หมด แล้วจึงนำไปใช้ประโยชน์ต่อ วิธีนี้มีข้อดีคือสารสกัดจะไม่ถูกความร้อน โอกาสในการสลายตัวของสารก็ลดลงไป

2) การสกัดร้อน (Soxhlet extraction) เป็นวิธีการที่ใช้ความร้อนในการสกัดและต้องอาศัยการควบแน่นเข้าช่วย เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง ตัวทำละลายจะต้องมีจุดเดือดต่ำ เมื่อระเหยจะนำสารจากพืชสมุนไพรไปด้วย จากนั้น เมื่อถูกความเย็นก็จะกลั่นตัวลงใน thimble ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ เมื่อตัวทำละลายใน extracting chamber สูงขึ้นถึงระดับกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับไปในขวดรูปชมพู่ด้วยวิธีกาลักน้ำ ตัวทำละลายก็จะระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวกลับมาเป็นตัวทำละลายสกัดสารใหม่วนเวียนไป การใช้ความร้อนจึงอาจทำให้สารที่ระเหยได้ง่ายระเหยออกไป จึงไม่เหมาะกับการสกัดสารจากพืชสมุนไพรที่มีสารที่ระเหยง่ายเป็นองค์ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

## ระเบียบวิธีวิจัย

### 3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

#### 3.1.1 ขมิ้นชัน

นำวัตถุดิบขมิ้นชันที่ได้รับมาจากอำเภอบ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี หั่นสไลด์และผ่านการอบแห้งเพื่อหาความชื้นตามวิธีวิเคราะห์ความชื้นของสถาบันวิจัยสมุนไพร (2544) นำขมิ้นชันที่ผ่านการอบแห้งมาบรรจุใส่ถุงพลาสติกปิดสนิทและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง

#### 3.1.2 ผักกาดหอมสด

ผักกาดหอมสดที่ตรวจเชื้อ *Salmonella* spp. ในธรรมชาติโดยสุ่มตรวจจาก ตลาดไท ตลาดนครปฐม ตลาดบองมาเซ่ และ ปากคลองตลาด และใช้ผักกาดหอมสดปลอดเชื้อของบริษัทที่ออปปูเปอร์มาเกิด จำกัด สาขาลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

### 3.2 อุปกรณ์การทดลอง

3.2.1 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	UV-1601	Shimadzu	Japan
3.2.2 หม้อนิ่งความดันไอน้ำ	HA-240 MN	Hirayama	Japan
3.2.3 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	AB 104	Mettler Toledo	Switzerland
3.2.4 ตู้อบฆ่าเชื้อ	UL50	Memmert	Germany
3.2.5 ตู้บ่มเพาะเชื้อ	B30	Memmert	Germany
3.2.6 ตู้เชื้อเชื้อ (Laminar Air Flow)	BS24 9BP	Bio safety	UK
3.2.7 เครื่องผสม (Vortex mixer)	G-560 E	Scientific	U.S.A
3.2.8 เครื่องปั่นเหวี่ยง	CR 21	Hitachi	Japan
3.2.9 เครื่องตีปั่น	BA 7021	Seward	UK
3.2.10 เครื่องวัดความ	CG841	Schott gerate	Germany

#### เป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.3.11 ตู้ควบคุมอุณหภูมิและ	445703	Extech	Thailand
-----------------------------	--------	--------	----------

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ความชื้น

- 3.2.12 เครื่องแก้ว
- 3.2.13 Mc Farland Standard
- 3.2.14 จานเพาะเชื้อพลาสติก
- 3.2.15 กระบอกลด

### 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1	Tryptic Soy Broth (TSB)	Merck	Germany
3.3.2	Tryptic Soy Agar (TSA)	Merck	Germany
3.3.3	Buffered Peptone Water	Merck	Germany
3.3.4	Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar (XLD)	Merck	Germany
3.3.5	Peptone	Merck	Germany

### 3.4 สารเคมี

3.4.1	น้ำส้มสายชูหมักเข้มข้น 10%	My Garden	Thailand
3.4.2	แอลกอฮอล์ 70% และ 90%	Sigma	Malaysia
3.4.3	Dimethyl sulfoxide (DMSO)		

### 3.5 เชื้อจุลินทรีย์

3.5.1 เชื้อ *Salmonella* Typhimurium (ST) ได้จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เชื้อ ST เก็บรักษาไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส ก่อนใช้งานจะนำเชื้อ ST มาเขี่ยลงบนในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA slant บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 2-5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น stock culture ทำการถ่ายเชื้อเดือนละครั้งระหว่างทดลอง

### 3.6 วิธีการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้ง 3.6.1.1 การเตรียมตัวอย่าง และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างผักกาดหอมสดพันธุ์ผักกาดหอมใบ (leaf lettuce) ชนิดที่มีสีเขียว ทั้งต้น (Grand rapids) จำนวน 40 ตัวอย่าง จาก 4 พื้นที่ประกอบด้วย ตลาดไท ปากคลองตลาด นครปฐม และ ตลาดบองมาเซในเขตจังหวัดกรุงเทพมหานคร แหล่งละ 10 ตัวอย่างโดยวิธีการเก็บใช้ ถุงพลาสติกที่สะอาดและปราศจากเชื้อ และควบคุมสภาวะการจัดเก็บระหว่างการเดินทางไปยัง ห้องปฏิบัติการทดลองที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และ ทำการตรวจสอบภายหลังจากเก็บ ตัวอย่างภายในเวลา 6 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก วชิราภรณ์ เทียมพันธ์, 2545) และ นำตัวอย่างผักกาดหอม คัดเลือกส่วนที่มีความแก่อ่อนเท่ากัน ขนาดของใบและลำต้นใกล้เคียงกันมาตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ ทั้งหมด (Background flora) โดยนำตัวอย่างตรวจสอบด้วยวิธีวิเคราะห์ของ Bacteriological Analytical Manual (BAM) (<http://www.foodsafety.gov/ebam/bam-5.html>.)

### 3.6.1.2 การตรวจสอบจุลินทรีย์ทั้งหมดในธรรมชาติ (Normal flora)

ตรวจหาจุลินทรีย์ที่มีอยู่จริงในผักกาดหอมสด โดยนำตัวอย่างผักกาดหอมสดมา คัดเลือกส่วนที่มีความแก่อ่อนเท่ากัน ขนาดของใบและลำต้นใกล้เคียงกันปริมาณ 25 กรัม นำมา ตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacteria count) โดยทำการบดผสมและเจือจางตัวอย่างใน สารละลาย Phosphate buffer (PB) pH 7.2 ผสมทำการเจือจางตามลำดับ (serial dilution) เติมตัวอย่างที่ เจือจางแล้วปริมาตร 0.1 มล. ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นอาหารร่วนที่หลอมละลาย แล้วมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ทับลงไปเขย่าจานเพาะเชื้อให้ตัวอย่างอาหารกระจายทั่วใน อาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่อยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี

$$\text{จำนวนโดยใช้สูตร } N = \frac{\sum C}{(1n_1 + 0.1 n_2) d}$$

$\sum C$  = sum of all colonies on all plates counted

$n_1$  = number of plates in 1st dilution counted

$n_2$  = number of plates in 2nd dilution counted

$d$  = dilution from which the first counts were obtained

(<http://www.foodsafety.gov/~ebam/bam-5.html>.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6.1.3 การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella* spp.

นำตัวอย่างผักกาดหอมสดเดียวกัน แบ่งส่วนมา 25 กรัมมาใส่ใน Pre-enrichment medium, สารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) เขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที และนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ลูปเขี่ยเชื้อบริเวณโคโลนีเดี่ยวลงใน Trypticase soy broth (TSB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) Agar เพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ ตรวจสอบปริมาณของเชื้อ *Salmonella* spp. ตามวิธีของ BAM

### 3.6.2 ระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักที่เหมาะสมต่อการลดปริมาณเชื้อ *S. Typhimurium*. (ST)

#### 3.6.2.1 การเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก

นำน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพด (corn vinegar) มาทำการเจือจางด้วยน้ำ RO ให้ได้ความเข้มข้น 1-3% โดยเก็บรักษาสารละลายน้ำส้มสายชูหมักไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเพื่อใช้เป็น stock solution ก่อนนำมาใช้ในการศึกษาต่อไป

#### 3.6.2.2 การเตรียมเชื้อ ST ที่ใช้ศึกษา

นำเชื้อ *Salmonella* spp. สายพันธุ์ที่ได้จากการสุ่มตรวจข้างต้นที่พบมากที่สุด 40 ตัวอย่าง แต่เนื่องจากผลของการสุ่มตรวจผักกาดหอมสด 40 ตัวอย่างไม่พบเชื้อ *Salmonella* spp. จึงเลือกใช้เชื้อบริสุทธิ์ *S. Typhimurium* (ST) ATCC 13311 เป็นตัวแทนของเชื้อที่ก่อโรคทางเดินอาหาร เนื่องจากมีประวัติการปนเปื้อนในผักและผลไม้สด ทำการเตรียมสารละลายเชื้อ ST ตามวิธีการดัดแปลงจาก สุรีย นานาสมบัติ และคณะ (2549) โดยนำเชื้อ ST จำนวน 1 ลูบใส่ลงในสารละลาย Trypticase Soy Broth (TSB) ปริมาตร 20 มล. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 80 มล. ใส่ลงในสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้ จนได้อัตราส่วน 1:5 และทำการปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland Standard เบอร์ 1 จะได้เชื้อเริ่มต้นที่ประมาณ  $7 \log \text{CFU/ml}$  เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านธุรกิจ  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2.3 การทดสอบยืนยันระดับความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักที่เหมาะสมในการยับยั้ง ST ในหลอดทดลอง (ดัดแปลงจาก Kudkeaw และ Krusong, 2007)

นำน้ำส้มสายชูหมักปริมาณกรดอะซิติก 10 % เตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก ให้มีความเข้มข้นที่ 1-3% จากข้อ 3.6.2.1 โดยมีช่วงห่าง 0.1% ในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่ปรับปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 10 มล. และผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (อาศัยการคำนวณปริมาตรของน้ำส้มสายชูหมักซึ่งมีกรดอะซิติก 10% ที่ต้องใช้ในการเตรียมสารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นต่างๆ จากปริมาตรรวมทั้งหมด 10 มล. ต่อ 1 หลอดทดลอง) จากนั้นเปิดเชื้อ ST (จากข้อ 3.6.2.2) ปริมาตร 1 มล. ใส่ลงในหลอดแต่ละความเข้มข้น นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37°C ที่เวลา 0 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธี Spread plate บนอาหาร TSA และ XLD โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ 7x10 Factorials in completely randomized design ประกอบ 35 treatment combination แต่ละ treatment มี 3 ซ้ำ (Replication) บันทึกผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติต่อไป

### 3.6.3 ผลของความเข้มข้นขั้นต่ำต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ST ในระดับหลอดทดลอง

#### 3.6.3.1 การสกัดสารจากขมิ้นชัน

นำขมิ้นชันจากข้อ 3.1.1 มาผ่านขั้นตอนการสกัด 2 วิธีดังนี้

##### 3.6.3.1.1 การสกัดขมิ้นชันด้วยตัวทำละลายแบบการสกัดเย็น (Cold solvent extraction, maceration method)

ทำการสกัดขมิ้นชันอบแห้งตามวิธีการดัดแปลง ศศิธร วุฒิวิชัย และ สุพจน์ สุภนัทร (2548) โดยนำขมิ้นชันอบแห้งปริมาณ 100 กรัม ใส่ในขวดแก้วปากกว้างที่มีฝาปิดสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 200 มล. แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองด้วยผ้าขาวบาง และ เครื่องกรองสุญญากาศ นำส่วนใสไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) จนกระทั่งได้สารสกัดหยาบจากขมิ้นชัน (Crude extract) จากนั้นทำการเตรียม stock solution ของสารสกัดหยาบจากขมิ้นชัน โดยนำสารสกัดหยาบ 2 กรัม ละลายใน 10% Dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 8 มล. เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบขมิ้นชันที่มีความเข้มข้น 0.2 mg/ml นำไปบรรจุในขวดสี่ขา และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้ในการศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6.3.1.2 การสกัดขมิ้นชันด้วยการกลั่นด้วยน้ำ (Hydro-distillation)

ทำการสกัดขมิ้นชันอบแห้งตามวิธีการของ Chaichompoo (1999) โดยบรรจุขมิ้นชันอบแห้งที่เตรียมไว้ลงในขวดก้นกลมขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปริมาณ 100 กรัม เติมน้ำ 500 มล. กลั่นเป็นเวลา 60 ชั่วโมง จากนั้นแยกน้ำมันหอมระเหยที่ได้ โดยเปิดวาล์วเพื่อให้น้ำที่อยู่ด้านล่างออกก่อน แล้วจึงไขน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ส่วนบนของน้ำ เก็บรักษาไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษา

### 3.6.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารสกัดขมิ้นชัน

นำสารสกัดที่ได้จากข้อ 3.6.3.1.1 และ 3.6.3.1.2 มาวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารสกัดขมิ้นชัน โดยวิธีแก๊ส โครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (Gas chromatography /Mass spectrometry; GC-MS) ด้วยเครื่อง GC-MS รุ่น Agilent 6890n GC with 5973GC/MSD บริษัท Agilent จำกัด ประเทศสหรัฐอเมริกา เพื่อหาค่าปริมาณรวมของสารที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อและยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ทั้งนี้สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์อาศัยข้อมูลจากการศึกษาของ Chaichompoo (1999) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สภาวะที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของสารสกัดขมิ้นชันโดยวิธี GC-MS

อุปกรณ์ /ปัจจัย	รายละเอียด
คอลัมน์	capillary column DB-5 (0.25 มิลลิเมตร x 30 เมตร)
ความหนาของฟิล์มเท่ากับ (ไมโครเมตร)	0.25
แก๊สตัวพา	ฮีเลียม
อัตราการไหล (มิลลิลิตร/นาที)	1
โปรแกรมอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
เริ่มต้น	50
สุดท้าย	300
โหมดการฉีด	แบบไม่ทิ้งสาร (splitless)
ปริมาณการฉีด (ไมโครลิตร)	1

ที่มา : ทิวาพร พรหมรัตน์ (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการเลือกวิธีการสกัดสารจากขมิ้นชันที่ห้องปฏิบัติการที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อและยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียรวมสูงสุดเพื่อไปทำการศึกษาผลความเข้มข้นต่อการยับยั้งเชื้อ ST ต่อไป

### 3.6.3.3 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ST ในระดับหลอดทดลอง

ทำการทดสอบผลของความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ST ตามวิธีการดัดแปลงจาก ศศิธร วุฒิวิชัย และ สุพจน์ ศุภนันท (2548) โดยนำสารสกัดขมิ้นชันจากวิธีการสกัดที่เหมาะสมมาทำการเจือจางด้วยอาหารเหลว TSB ให้มีความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชันที่ (mg/ml) 0.1 0.05 0.01 0.005 และ 0.001 จากปริมาตรรวมทั้งหมด 10 มล. ต่อ 1 หลอดทดลอง ทำการปิเปตเชื้อ ST (จากข้อ 3.6.2.2) ปริมาตร 1 มล. ถ่ายลงในหลอดแต่ละความเข้มข้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลา 0 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธี Spread plate บนอาหาร TSA และ XLD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

โดยวางแผนการทดลองแบบ 7x5 Factorials in completely randomized design ประกอบ 35 treatment combination แต่ละ treatment มี 3 ซ้ำ (Replication) บันทึกผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติต่อไป

### 3.6.4 ผลของสารละลายผสมของสารสกัดขมิ้นชัน และ น้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ST ในระดับหลอดทดลอง

ทำการทดสอบผลของสารละลายผสมของสารสกัดขมิ้นชัน และ น้ำส้มสายชูหมักต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ST ตามวิธีการดัดแปลงจาก Sengan และ Karapinar (2004) นำสารสกัดขมิ้นชันที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อที่ 3.6.3.3 ละลายในน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้นเหมาะสมจากข้อ 3.6.2.3 ใส่ในหลอดทดสอบปริมาตรรวมทั้งหมด 10 มล. ในแต่ละระดับความเข้มข้น บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลา 0 5 10 15 20 25 และ 30 นาที ทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธี Spread plate บนอาหาร TSA และ XLD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

### 3.6.5 ผลการใช้สารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการลดปริมาณเชื้อ ST ที่ถ่ายลงบนผิวของผักกาดหอมสดเลียนแบบธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
3.6.5.1 การเตรียมตัวอย่างผักกาดหอมสด ตามวิธีการดัดแปลงจาก มนต์จันทร์ คำยา (2542)  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผักกาดหอมสดซื้อจาก บริษัท ท็อปซูเปอร์มาร์เก็ตจำกัด สาขาลาดกระบัง คัดเลือก ผักกาดหอมที่มีความแก่อ่อนเท่ากัน ขนาดของใบลำต้นใกล้เคียงกัน เด็ดใบที่อยู่ด้านนอก 4-5 ใบ ใช้ใบ ที่อยู่ข้างใน แต่ไม่ใช่ส่วนใจกลางของผักกาดหอม ล้างด้วยน้ำประปาเป็นเวลา 5 นาที สะเด็ดน้ำให้แห้งบน ตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเป็นเวลา 30 นาที ในตู้ laminar air-flow ตัดส่วนที่เป็นปลายด้านล่างออก ประมาณ 1 นิ้ว เลือกใช้ใบที่มีขนาดใกล้เคียงกันโดยน้ำหนัก 8-12 กรัม นำตัวอย่างไปตรวจหาเชื้อ ST บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar

### 3.6.5.2 ทำการเตรียมสารละลายผสมของสารสกัดขมิ้นชันในน้ำส้มสายชูหมัก

(Turmeric extract-fermented vinegar solution; TE-FV)

นำสารสกัดขมิ้นชันที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.3.2 ละลายในน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติกที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.2.3 ใช้ปริมาตร 1 ml เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ST

### 3.6.5.3 การเตรียมตัวอย่างโดยการถ่ายเชื้อ ST บนผักกาดหอมสด (วิธีการดัดแปลงจาก

Singh และ คณะ, 2002; Sengan และ Karapinar, 2004)

นำผักกาดหอมสดบรรจุใส่ถุงโพลีเอทิลีนแบบปิดผนึกสำเร็จรูปขนาด 9x12 นิ้ว จากนั้นถ่ายสารละลายเชื้อ ST ที่เตรียมจากข้อ 3.6.2.2 เพื่อสร้างการปนเปื้อนเชื้อ ST บนผักกาดหอมสดเลียนแบบการปนเปื้อนตามธรรมชาติ (artificial contamination) ให้มีปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ ST เริ่มต้น 2 ระดับ ได้แก่ ระดับสูงคือ 7 log CFU/g และ ระดับต่ำ โดยใช้สารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) เจือจางปริมาณเชื้อ 3 log CFU/g ในอัตราส่วนผักต่อสารละลายเชื้อ 1:10 เขย่าเบาๆ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำผักไปสะเด็ดน้ำให้แห้งผึ่งบนตะแกรงฆ่าเชื้อในตู้ laminar air-flow ที่อุณหภูมิห้อง  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นบรรจุใส่ถุงโพลีเอทิลีนแบบปิดผนึกสำเร็จรูปอีกครั้ง นำไปเก็บที่อุณหภูมิ  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  นาน 24 ชม.

### 3.6.5.4 ทดสอบวิธีการแช่ด้วยน้ำสะอาดปลอดเชื้อ (RO) ต่อการหลุดของปริมาณเชื้อ

ST ที่ถ่ายบนผักกาดหอมสด (มนต์จันทร์ คำยา, 2542; Saper, 2001)

นำผักกาดหอมสดที่สร้างสภาพปนเปื้อนเลียนแบบธรรมชาติจากข้อที่ 3.6.5.3 แบ่งบรรจุใส่ถุงโพลีเอทิลีนแบบปิดผนึกสำเร็จรูปและเก็บตัวอย่างเพื่อทำการหาเชื้อเริ่มต้น เดิมน้ำ RO โดยใช้อัตราส่วนผัก (กรัม) ต่อ น้ำ RO (มิลลิลิตร) 1:20 เป็นเวลา 0 5 10 20 และ 30 นาที จากนั้นเทน้ำทิ้งและเติมน้ำกลั่นเพื่อล้างออกด้วยอัตราส่วนเดียวกันเป็นเวลา 2 นาที นำผักไปสะเด็ดน้ำบนตะแกรงฆ่าเชื้อในตู้ laminar air-flow ที่อุณหภูมิห้อง  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที ก่อนจะนำตัวอย่างไปตรวจหาเชื้อ ST ที่

เหล็กรอดชีวิต โดยทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธีเทคนิคการตีปน ใช้ผักกาดหอม 25 กรัม ใส่ในถุงตีปนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติมสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีปนอาหารเป็นเวลา 2 นาที ที่อัตราเร็วในระดับปานกลาง (medium speed) เปิดสารละลายผัก ที่ผ่านการตีปนปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองซึ่งมีสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางจนเจือจางระดับความเข้มข้นที่ต้องการ เปิดสารละลายที่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar ใช้แท่งแก้ว (spreader) เคลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารทิ้งไว้ 5-10 นาที จึงกลับจานเพาะเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี ซึ่งลักษณะโคโลนีของเชื้อ ST บนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD agar มีลักษณะใสและมีจุดสีดำตรงกลาง ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ

#### 3.6.5.5 ผลของสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV), สารสกัดขมิ้นชัน (TE) และ

สารละลายผสมของสารสกัดขมิ้นชันในสารละลายน้ำส้มสายชูหมักและสารสกัดขมิ้นชัน (TE-FV) ต่อการลดปริมาณเชื้อ ST ที่ถ่ายบนผักกาดหอมสด ทำการทดสอบผักกาดหอมสดที่สร้างสภาพปนเปื้อนเลียนแบบธรรมชาติ กับสารละลาย FV, TE และ TE-FV วิธีการเดียวกันกับข้อที่ 3.6.5.4

#### 3.6.6 ผลของสารละลายผสมของสารสกัดขมิ้นชันในน้ำส้มสายชูหมักและคุณภาพและอายุ

การเก็บรักษาผักกาดหอมสด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดัดแปลง Park และ คณะ, 2001) นำผักกาดหอมสดที่ไม่มีถ่ายเชื้อ ST มาทดสอบด้วยวิธีจุ่มกับสารละลายเหมือนกับการทดลองข้อที่ 3.6.5.4 วางลงในถาดก้นตื้นปริมาตร 10 x 12 x 2.5 นิ้ว นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สังเกตดูการเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏทางกายภาพเป็นระยะเวลา 7 วัน

#### 3.6.7 การออกแบบการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำผลการทดสอบที่ได้มาวิเคราะห์ด้วย Statistical package for social science (SPSS), release 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) จากนั้นนำค่าเฉลี่ยมาทำการเปรียบเทียบ ด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 ผลการตรวจสอบจุลินทรีย์ทั้งหมดในธรรมชาติ (Normal flora) ในผักกาดหอมสด

จากการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่เดิมตามธรรมชาติบนผักกาดหอมสดที่สุ่มจากตลาดสด 4 พื้นที่ ประกอบด้วย ตลาดไท ปากคลองตลาด นครปฐม และ ตลาดบางนา ในเขตจังหวัด กรุงเทพมหานคร ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าจากตัวอย่างที่สุ่มตรวจทั้งหมด 40 ตัวอย่าง พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีในธรรมชาติอยู่ปนเปื้อนอยู่ 35 ตัวอย่าง แต่ไม่ตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. จากตัวอย่างทั้งหมด แต่เนื่องจากมีรายงานการปนเปื้อนผักตั้งแต่ปี พ.ศ. 2540 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้สำรวจ พบ *Salmonella* spp. ปนเปื้อนในอาหารมากที่สุดถึง 57% (อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และ คณะ, 2540) และต่อมา ในปี พ.ศ. 2548 รายงานของกระทรวงพาณิชย์ระบุว่าประเทศไทยมีปัญหาการส่งออกผักไทยไปยังสหภาพยุโรปรวมถึงปฏิเสธการนำเข้าสินค้าผักสดจากไทยและส่งสินค้ากลับไทย (<http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=7&ID=77>) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. Typhimurium* เป็นเชื้อกลุ่มที่สามารถอยู่รอดได้ที่ใบและรากของผักที่ปลูกโดยการใช้ปุ๋ยคอก รวมถึงการแพร่กระจายและปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมได้ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงเลือกใช้ *S. Typhimurium* เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของการใช้น้ำส้มสายชูหมัก สารสกัดขมิ้นชัน และผลรวมน้ำส้มสายชูหมักกับสารสกัดขมิ้นชัน ในการศึกษาในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบจากการสุ่มตรวจผักกาดหอมสด ทั้งหมด 40 ตัวอย่าง ที่วางขายบนแผงลอยในตลาดสด 4 แห่ง

ตัวอย่างผักกาดหอมสด	ตลาดไท		ปากคลองตลาด		ตลาดบองมาเช่		ตลาดกลางนครปฐม	
	จุลินทรีย์ทั้งหมด* (log CFU/g)	<i>Salmonella</i> spp.**	จุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	<i>Salmonella</i> spp.	จุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	<i>Salmonella</i> spp.	จุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	<i>Salmonella</i> spp.
1	2.62 ± 0.02	ND***	4.38 ± 0.01	ND	2.10 ± 0.05	ND	5.55 ± 0.01	ND
2	3.13 ± 0.05	ND	3.81 ± 0.07	ND	2.04 ± 0.06	ND	2.21 ± 0.01	ND
3	2.53 ± 0.01	ND	2.89 ± 0.05	ND	3.89 ± 0.12	ND	2.16 ± 0.04	ND
4	4.02 ± 0.02	ND	3.17 ± 0.07	ND	2.82 ± 0.01	ND	1.70 ± 0.02	ND
5	3.19 ± 0.02	ND	2.89 ± 0.07	ND	3.50 ± 0.07	ND	2.80 ± 0.06	ND
6	3.17 ± 0.03	ND	2.82 ± 0.12	ND	ND	ND	2.21 ± 0.03	ND
7	2.81 ± 0.01	ND	2.81 ± 0.05	ND	ND	ND	5.34 ± 0.02	ND
8	2.89 ± 0.01	ND	1.78 ± 0.02	ND	ND	ND	2.89 ± 0.06	ND
9	5.34 ± 0.06	ND	2.00 ± 0.09	ND	ND	ND	3.17 ± 0.05	ND
10	2.81 ± 0.05	ND	2.81 ± 0.03	ND	ND	ND	2.01 ± 0.07	ND

\*จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดตรวจสอบด้วยอาหาร TSA ± ค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน standard deviations (SD); n = 3

\*\*จำนวนเชื้อ *Salmonella* spp ที่อยู่บนผักกาดหอมสดตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ

\*\*\* ND (Not detection) ตรวจไม่พบเชือบนผักกาดหอมสด

## 4.2 ผลของน้ำส้มสายชูหมักต่อการลดลงของเชื้อ *S. Typhimurium* (ST) ในระดับ

### หลอดทดลอง

เมื่อเตรียมอาหารเหลว TSB ให้มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1-3% (V/V) ให้มีช่วงห่างเข้มข้นละ 0.1% โดยใช้ น้ำส้มสายชูขาวโพคหมักซึ่งมีกรดอะซิติก 10% ที่ต้องใช้ในการเตรียมสารละลายกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นต่างๆจากปริมาตรรวมทั้งหมด 10 มิลลิลิตร ต่อ 1 หลอดทดลอง แล้วไปเปิดเชื้อ *S. Typhimurium* ที่มีปริมาณเชื้อ  $10^7$  CFU/ml ลง 1 มิลลิลิตรของแต่ละความเข้มข้น จากนั้นติดตามการอยู่รอดของเชื้อ ST พบว่า ในหลอดควบคุม (ไม่มีการเติมน้ำส้มสายชูหมักลงไป ในอาหารเหลว TSB) ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และ 4.3 เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที จำนวนเชื้อ ST ไม่ได้เพิ่มจำนวนขึ้น โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 7.14 log CFU/ml ถึง 7.15 log CFU/ml ในขณะที่อาหารเหลว TSB ที่เติมสารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1% - 2% ซึ่งมีค่า pH ตั้งแต่ 4.13 - 3.78 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1) พบว่าที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1.7% (มีค่า pH 3.86) เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ ST ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 7.12 log CFU/ml เหลือรอดอยู่ 6.66 log CFU/ml (ลดลง 45.60%) และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเวลาผ่านไป 25 นาที ทั้งนี้สังเกตได้ว่าเมื่อระดับค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงดังแสดงในภาพที่ 4.1 ส่งผลกระทบต่อการเจริญและการอยู่รอดของเชื้อ ST โดยพบว่าเชื้อ ST จะลดลงอย่างช้าๆ แต่เมื่อปริมาณของความเข้มข้นของกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูหมักสูงขึ้นจะสามารถลดเชื้อ ST ได้อย่างรวดเร็ว โดยที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2.6-3.0% (ซึ่งมีค่า pH) ตั้งแต่ 3.65-3.57 สามารถยับยั้งเชื้อได้หมดภายในเวลา 5 นาที ดังแสดงในตารางที่ 4.3 เนื่องจากความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่สูงจะมีจำนวนโมเลกุลของกรดที่ไม่แตกตัวมาก ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี กรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 1.0% จะมีโมเลกุลที่ไม่แตกตัว 99.1% ในขณะที่ความเข้มข้น 2.5% จะมีโมเลกุลที่ไม่แตกตัวสูงถึง 99.4% (Tsujihamma และ คณะ 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การลดลงของเชื้อ *S. Typhimurium* ในอาหารเหลว TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูหมักให้มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1.0 -2.0% บ่มที่ อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 0-30 นาที

FV (v/v)	จำนวนเชื้อ ST ที่ยู่รอดในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ( $\log \text{CFU/ml}$ ) <sup>a</sup> เป็นเวลา 0-30 นาที							ปริมาณเชื้อ ST ที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์)					
	0	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30
Control***	7.14 <sup>Ab</sup> ± 0.01	7.15 <sup>Bb</sup> ± 0.01	7.14 <sup>Dc</sup> ± 0.02	7.13 <sup>Bd</sup> ± 0.01	7.11 <sup>Ca</sup> ± 0.01	7.15 <sup>Be</sup> ± 0.02	7.15 <sup>Ci</sup> ± 0.02	-	1.70	6.81	-	-	-
1.0	7.13 <sup>Ba</sup> ± 0.01	7.11 <sup>Ob</sup> ± 0.01	7.10 <sup>Bc</sup> ± 0.01	7.02 <sup>Ca</sup> ± 0.02	7.05 <sup>Af</sup> ± 0.01	7.01 <sup>Bg</sup> ± 0.01	7.00 <sup>Dh</sup> ± 0.03	5.62	7.58	23.23	17.36	25.92	24.69
1.1	7.14 <sup>Ca</sup> ± 0.03	7.12 <sup>Ab</sup> ± 0.03	7.13 <sup>Bc</sup> ± 0.03	7.06 <sup>Dd</sup> ± 0.05	7.07 <sup>Bc</sup> ± 0.03	7.01 <sup>Ag</sup> ± 0.03	6.99 <sup>Bi</sup> ± 0.01	5.78	3.13	16.63	15.66	26.51	30.12
1.2	7.13 <sup>Da</sup> ± 0.04	7.01 <sup>Bb</sup> ± 0.04	6.99 <sup>Ca</sup> ± 0.01	6.95 <sup>Bd</sup> ± 0.01	6.94 <sup>Cf</sup> ± 0.02	6.90 <sup>Ab</sup> ± 0.05	6.90 <sup>Bh</sup> ± 0.03	22.94	26.93	33.67	35.41	39.90	40.90
1.3	7.11 <sup>Ba</sup> ± 0.05	7.01 <sup>Ob</sup> ± 0.01	6.98 <sup>Ac</sup> ± 0.02	6.93 <sup>Bd</sup> ± 0.02	6.92 <sup>Df</sup> ± 0.02	6.90 <sup>Bb</sup> ± 0.04	6.87 <sup>Ch</sup> ± 0.03	22.05	27.18	34.36	35.38	39.49	42.82
1.4	7.12 <sup>Ba</sup> ± 0.03	7.01 <sup>Db</sup> ± 0.04	6.96 <sup>Bc</sup> ± 0.05	6.92 <sup>Ca</sup> ± 0.02	6.88 <sup>Bc</sup> ± 0.02	6.85 <sup>Ch</sup> ± 0.06	6.70 <sup>Al</sup> ± 0.05	21.99	29.92	36.06	41.18	46.04	61.89
1.5	7.14 <sup>Ca</sup> ± 0.02	7.00 <sup>Bb</sup> ± 0.02	6.95 <sup>Cc</sup> ± 0.02	6.90 <sup>Ad</sup> ± 0.02	6.90 <sup>Bf</sup> ± 0.04	6.81 <sup>Dh</sup> ± 0.03	6.53 <sup>Bi</sup> ± 0.06	28.61	35.10	42.79	42.55	53.13	75.72
1.6	7.12 <sup>Ab</sup> ± 0.02	6.92 <sup>Bb</sup> ± 0.06	6.95 <sup>Dc</sup> ± 0.02	6.86 <sup>Bc</sup> ± 0.03	6.88 <sup>Of</sup> ± 0.03	6.88 <sup>Bh</sup> ± 0.03	6.47 <sup>Ch</sup> ± 0.12	36.84	32.83	45.11	42.86	43.11	77.69
1.7	7.12 <sup>Bb</sup> ± 0.01	6.92 <sup>Ob</sup> ± 0.03	6.66 <sup>Bc</sup> ± 0.02	6.18 <sup>Ca</sup> ± 0.02	4.56 <sup>Af</sup> ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	37.19	45.60	66.91	75.56	100.00	100.00
1.8	7.11 <sup>Ob</sup> ± 0.02	6.90 <sup>Ac</sup> ± 0.03	6.49 <sup>Bc</sup> ± 0.03	5.56 <sup>Dd</sup> ± 0.05	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	38.92	60.76	88.17	100.00	100.00	100.00
1.9	7.12 <sup>Db</sup> ± 0.03	6.87 <sup>Bc</sup> ± 0.03	6.26 <sup>Ca</sup> ± 0.04	5.37 <sup>Ba</sup> ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	43.72	75.89	87.04	100.00	100.00	100.00
2.0	7.12 <sup>Bb</sup> ± 0.02	6.70 <sup>Cc</sup> ± 0.07	5.99 <sup>Af</sup> ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	61.32	80.92	93.10	100.00	100.00	100.00

\* จำนวนเชื้อ ST ที่ยู่รอดทั้งหมดตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ± ค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน standard deviations (SD); n = 3

\*\* ด้วยกัด้วยอักษรต่างกันในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ของการรอดชีวิตของ ST ในเวลา 30 นาที และ ด้วยกัด้วยอักษรต่างกัน ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ของการรอดชีวิตของ ST ในแต่ละระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกในสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก

\*\*\*ตัวอย่างที่ไม่มีสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก

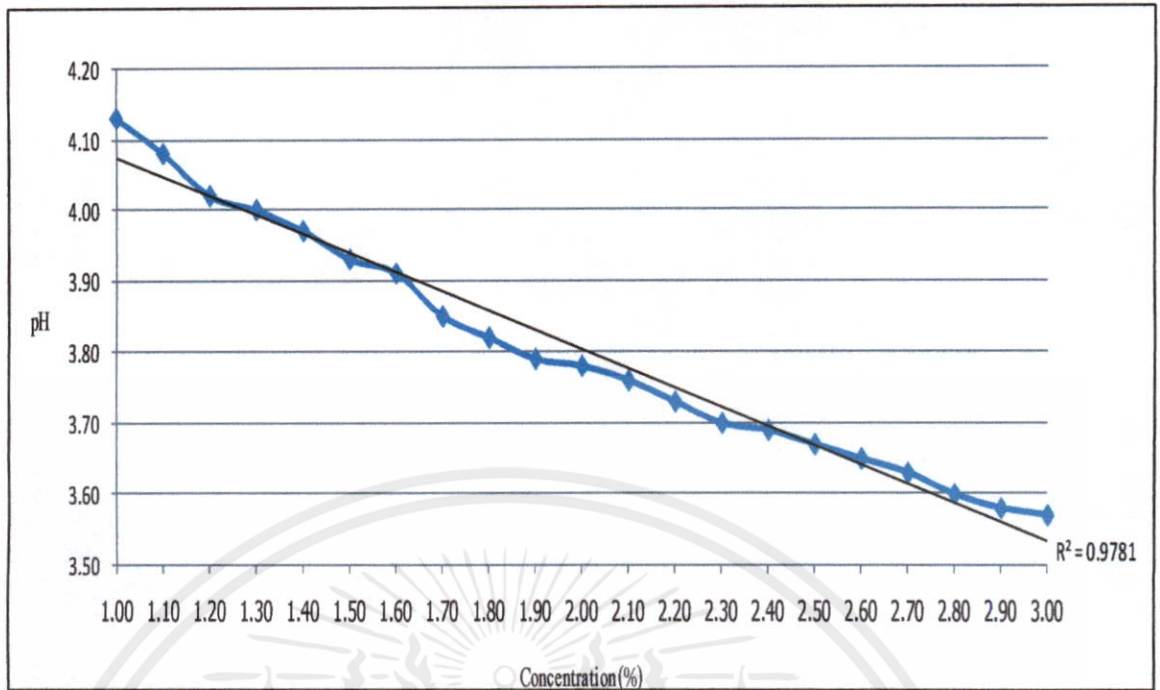
ตารางที่ 4.3 การลดลงของเชื้อ *S. Typhimurium* ในอาหารเหลว TSB ที่เติมน้ำส้มสายชูหมักให้มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 2.1 -3.0% บ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 0-30 นาที

FV (V/V)	จำนวนเชื้อ ST ที่รอดในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (log CFU/ml)* เป็นเวลา 0-30 นาที							ปริมาณเชื้อ ST ที่ตกลง (เปอร์เซ็นต์)					
	0	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30
Control***	7.14 <sup>Aa</sup> ± 0.01	7.15 <sup>Bb</sup> ± 0.01	7.14 <sup>Do</sup> ± 0.02	7.13 <sup>Bd</sup> ± 0.01	7.11 <sup>Oa</sup> ± 0.01	7.15 <sup>Sp</sup> ± 0.02	7.15 <sup>Ca</sup> ± 0.02	-	1.70	6.81	-	-	-
2.0	7.12 <sup>Bb</sup> ± 0.02	6.70 <sup>Cc</sup> ± 0.07	5.99 <sup>A4</sup> ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	61.32	80.92	93.10	100.00	100.00	100.00
2.1	7.13 <sup>Ae</sup> ± 0.03	6.67 <sup>Be</sup> ± 0.05	5.00 <sup>Cc</sup> ± 0.15	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	65.85	97.84	100.00	100.00	100.00	100.00
2.2	7.11 <sup>A4</sup> ± 0.04	6.56 <sup>Bd</sup> ± 0.07	4.52 <sup>Cd</sup> ± 0.10	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	71.72	99.09	100.00	100.00	100.00	100.00
2.3	7.10 <sup>Aa</sup> ± 0.02	6.30 <sup>Ba</sup> ± 0.07	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	84.04	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2.4	7.10 <sup>Af</sup> ± 0.04	6.24 <sup>Bf</sup> ± 0.12	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	79.52	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2.5	7.12 <sup>Ae</sup> ± 0.03	5.90 <sup>Ba</sup> ± 0.15	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	93.88	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2.6	7.10 <sup>Ah</sup> ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2.7	7.10 <sup>Ah</sup> ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2.8	7.12 <sup>Ah</sup> ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
2.9	7.11 <sup>Ah</sup> ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
3.0	7.10 <sup>Ah</sup> ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

\* จำนวนเชื้อ ST ที่รอดทั้งหมดตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD ± ค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน standard deviations (SD); n = 3

\*\* ด้วยตัวอักษรต่างกัน ในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ของการรอดชีวิตของ ST ในเวลา 30 นาที และ ด้วยตัวอักษรต่างกัน ในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ของการรอดชีวิตของ ST ในแต่ละระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกในสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก

\*\*\*ตัวอย่างที่ไม่มีสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก



ภาพที่ 4.1 ค่ากรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB ที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูหมัก ในระดับต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ )

เนื่องจากกรดในสภาพที่ไม่แตกตัว (un-dissociated form) นี้จะก่อให้เกิดการแตกตัวภายใน เซลล์จุลินทรีย์ทำให้ค่ากรด-ด่าง ภายในเซลล์ลดลง ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ โปรตีน รวมทั้ง การสังเคราะห์ดีเอ็นเอผิดปกติจึงทำให้เซลล์ถูกทำลาย ทำให้เกิดกลไกการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคได้ (Garbutt, 1997) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สร้อยสุภา พรภักดีวัฒนา และคณะ (2006) ที่รายงานว่า เชื้อ *Salmonella Enteritidis* (SE) ถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 2.0% และมีค่ากรด-เบส อยู่ในช่วง 4.3 - 4.6 นอกจากนี้ วราวุฒิ ครุสง และคณะ (2547) รายงานว่า น้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้นกรดอะซิติก 2.0%, 1.6% และ 1.0% สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *Staph. aureus* และ *Vibrio* spp. ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ผลของสารสกัดขมิ้นชันต่อการลดลงของเชื้อ *S. Typhimurium* (ST) ในระดับ

#### หลอดทดลอง

#### 4.2.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณและองค์ประกอบของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดได้

ขมิ้นชันที่ผ่านการหั่นและอบแห้งมีความชื้นเฉลี่ยเท่ากับ  $7.2 \pm 0.02\%$  (Moisture, % by weight) เมื่อนำขมิ้นชันดังกล่าวไปสกัดด้วยวิธีการสกัด 2 วิธี ประกอบด้วย วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบการสกัดเย็น (Cold solvent extraction, maceration method) หรือเรียกโดยย่อว่า “วิธีการสกัดแบบเย็น” และวิธีการสกัดด้วยการกลั่นด้วยน้ำ (Hydro-distillation) หรือเรียกว่า “วิธีการกลั่น” ด้วยน้ำ จากนั้นจึงนำสารสกัดขมิ้นชันที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบและปริมาณด้วยวิธี GC-MS ผลของการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าวิธีการสกัดแบบเย็นให้ปริมาณของ  $\beta$ -tumerone, AR-Tumerone,  $\alpha$ -tumerone และ Total turmerone ในปริมาณที่สูงกว่าวิธีการกลั่นด้วยน้ำ ถึงแม้ว่าวิธีการกลั่นจะให้ชนิดขององค์ประกอบของสารสกัดขมิ้นชันที่มากกว่า โดยยังตรวจพบ  $\alpha$ -terpinolene และ Phellandrene แต่จากการศึกษาของ Shankar และ Murthy (1979) รายงานว่า สารสกัดหยาบ (Crude extracts) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้ เนื่องจากสารสกัดหยาบมีองค์ประกอบหลักของ Turmeic oil ในกลุ่มของ ketone ได้แก่ Ar-turmerone,  $\beta$ -tumerone,  $\alpha$ -tumerone และ AR-curcumyl alcohol ทั้งนี้จากผลการวิเคราะห์ของสารสกัดขมิ้นชันดังแสดงในตารางที่ 4.4 จึงสามารถสรุปได้ว่า สารสกัดที่ได้จากวิธีการสกัดแบบเย็น สามารถแยกองค์ประกอบที่จำเป็นต่อการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่าวิธีการกลั่นด้วยน้ำ ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจึงเลือกใช้สารสกัดที่ได้จากวิธีการสกัดเย็นในการยับยั้งเชื้อ ST

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบหลักของสารสกัดขมิ้นชันจากการสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบการสกัดเย็นและวิธีการกลั่นด้วยน้ำ

Extraction method	Components (%Area)*						
	Phellandrene	Limonene	$\alpha$ -terpinolene	$\beta$ -tumerone	AR-tumerone	$\alpha$ -tumerone	Total tumerone
Cold solvent extraction, maceration method	-	-	-	21.40	41.97	19.51	82.88
Hydro-distillation	1.21	-	4.67	16.9	20.3	15.0	52.2

\*วิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร จำกัด (LCFA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2.2 ผลของความเข้มข้นสารสกัดขมิ้นชันต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ST

การติดตามปริมาณเชื้อ ST ที่รอดชีวิตในอาหารเหลว TSB ที่เติมสารสกัดขมิ้นชันในระดับความเข้มข้น (mg/ml) 0.1 0.05 0.01 0.005 และ 0.001 ดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าปริมาณเชื้อ ST ในอาหารเหลว TSB ของหลอดควบคุม (ไม่มีการเติมสารสกัดขมิ้นชัน) สามารถเพิ่มจำนวนได้เพียงเล็กน้อยจาก 7.14 log CFU/ml เป็น 7.16 log CFU/ml เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที แต่ในช่วงระยะเวลาเท่ากัน ในหลอดอาหารเหลว TSB ที่มีสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้น 0.005 mg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ ST จาก 7.17 log CFU/ml เหลือ 6.90 CFU/ml (ลดลง 42.48%) ในขณะที่ความเข้มข้น 0.05 mg/ml ใช้เวลา 15 นาที สามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ และจากการศึกษาของ ทิวพร พรหมรัตน์ (2550) ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เจลล้างมือฆ่าเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดขมิ้นชันจึงต้องมีการเติมสารสกัดขมิ้นชันเป็นปริมาณอย่างต่ำ 0.064 mg/ml เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย 10 ชนิด คือ *Staphylococcus simulans*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. auricularis*, *S. lugdunensis*, *Escherichia coli* TISTR 780, *E. coli* O157:H7, *E. coli* TISTR 073, *E. coli* TISTR 074 และ *Salmonella* spp. ดังนั้นสารสกัดขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/ml จึงเป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ร่วมกับสารละลายน้ำส้มสายชูหมัก เพื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อ ST

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การลดลงของเชื้อ *S. Typhimurium* ในอาหารเหลว TSB ที่เติมสารสกัดขมิ้นชัน (mg/l) บ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 0-30 นาที

TE (mg/ml)	จำนวนเชื้อ ST ที่อยู่รอดในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (log CFU/ml)* เป็นเวลา 0-30 นาที							ปริมาณเชื้อ ST ที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์)					
	0	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30
Control***	7.14 <sup>Aa</sup> ± 0.00	7.15 <sup>Ba</sup> ± 0.01	7.16 <sup>Ca</sup> ± 0.01	7.16 <sup>Da</sup> ± 0.01	7.15 <sup>Ea</sup> ± 0.00	7.16 <sup>Fa</sup> ± 0.02	7 <sup>Ga</sup> ± 0.02	-	-	-	-	-	-
0.001	7.15 <sup>Aa</sup> ± 0.01	7.14 <sup>Bc</sup> ± 0.01	7.11 <sup>Cb</sup> ± 0.02	7.10 <sup>Db</sup> ± 0.02	7.05 <sup>Eb</sup> ± 0.01	7.02 <sup>Fb</sup> ± 0.02	7.03 <sup>Gb</sup> ± 0.02	1.90	8.33	9.76	19.52	25.48	23.57
0.005	7.14 <sup>Ac</sup> ± 0.04	7.13 <sup>Bb</sup> ± 0.02	7.08 <sup>Cc</sup> ± 0.03	7.04 <sup>Dc</sup> ± 0.03	6.97 <sup>Ec</sup> ± 0.02	6.90 <sup>Fc</sup> ± 0.05	6.90 <sup>Gc</sup> ± 0.03	2.67	11.89	19.66	32.04	41.50	42.28
0.01	7.14 <sup>Ad</sup> ± 0.01	7.09 <sup>Bd</sup> ± 0.02	7.03 <sup>Cd</sup> ± 0.01	6.98 <sup>Dd</sup> ± 0.02	6.90 <sup>Ed</sup> ± 0.00	6.64 <sup>Fd</sup> ± 0.12	0.00 ± 0.00	10.24	21.71	30.24	42.20	68.29	100.00
0.05	7.13 <sup>Ae</sup> ± 0.01	7.03 <sup>Be</sup> ± 0.05	6.59 <sup>Ce</sup> ± 0.09	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	21.03	71.15	100.00	100.00	100.00	100.00
0.1	7.14 <sup>Af</sup> ± 0.03	5.88 <sup>Bf</sup> ± 0.13	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	94.44	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

\* จำนวนเชื้อ ST ที่อยู่รอดทั้งหมดตรวจสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD + ค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน standard deviations (SD); n = 3

\*\* ตัวยกด้วยอักษรต่างกันในแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ของการรอดชีวิตของ ST ในเวลา 30 นาที และ ตัวยกด้วยอักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ของการรอดชีวิตของ ST ในแต่ละระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกสารละลายขมิ้นชัน

\*\*\*ตัวอย่างที่ไม่มีสารละลายขมิ้นชัน

### 4.3 ผลของสารละลายผสมของสารสกัดขมิ้นชัน และ น้ำส้มสายชูหมักต่อการลดลงของเชื้อ *S. Typhimurium* (ST) ในระดับหลอดทดลอง

ผลของสารละลายผสมสารสกัดขมิ้นชัน 0.05 mg/ml และน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้น 1.7% (V/V) ดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที มีเชื้อ ST เหลือรอด 6.53 log CFU/ml (ลดลง 73.28%) และสามารถยับยั้งเชื้อ ST ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 10 นาที ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เร็วกว่าผลการยับยั้งของสารสกัดขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 0.05 mg/ml และ น้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 1.7% ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อ ST ได้อย่างสมบูรณ์ได้ภายในเวลา 15 และ 25 นาที ตามลำดับ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากผลแบบเสริมฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันและน้ำส้มสายชูหมัก โดยกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมักจะช่วยลดค่าความเป็น กรด-ด่างภายในเซลล์ของเชื้อ ST เนื่องจากโมเลกุลที่ไม่แตกตัว (un-dissociated form) ของกรดอะซิติกจะซึมผ่านผนังเซลล์ทำให้เซลล์เสียโครงสร้าง และขัดขวางกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเยื่อหุ้มเซลล์ (Karapinar และ Gonul, 1992) จากนั้นเซลล์ที่บาดเจ็บจะถูกสารสกัดขมิ้นชันซึ่งมีองค์ประกอบสารกลุ่ม Turmerone ที่มีฤทธิ์ต้านและยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (anti-bacterial agent) สามารถผ่านผนังเซลล์ที่บาดเจ็บเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในและนอกของแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น มีผลให้เกิดการสูญเสียไซโทพลาสซึมในเซลล์เนื่องจากสารต่าง ๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ไหลออกมานอกเซลล์และทำให้ตายในที่สุด (Bhavani และ Sreenivasa, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 การลดลงของเชื้อ ST ในอาหารเหลว TSB ที่บ่มไว้ ณ อุณหภูมิห้อง ( $31 \pm 1^{\circ}$  C) ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดขมิ้นชัน (0.05 mg/ml) กับ น้ำส้มสายชูหมัก (ความเข้มข้นกรดอะซิติก 1.7% ; pH 3.91) เป็นเวลา 0-30 นาที

Treatment solution	จำนวนเชื้อ ST ที่ยู่รอดในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (log CFU/ml)* เป็นเวลา 0-30 นาที							ปริมาณเชื้อ ST ที่ลดลง (เปอร์เซ็นต์)					
	0	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30
TE 0.05 mg/ml	7.13 ± 0.01	7.03 ± 0.05	6.58 ± 0.09	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	21.38	71.55	100.00	100.00	100.00	100.00
FV 1.7% (v/v)	7.11 ± 0.01	6.92 ± 0.03	6.66 ± 0.02	6.18 ± 0.02	4.56 ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	38.92	42.01	63.40	79.12	100.00	100.00
TE-FV**	7.10 ± 0.01	6.53 ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	73.28	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

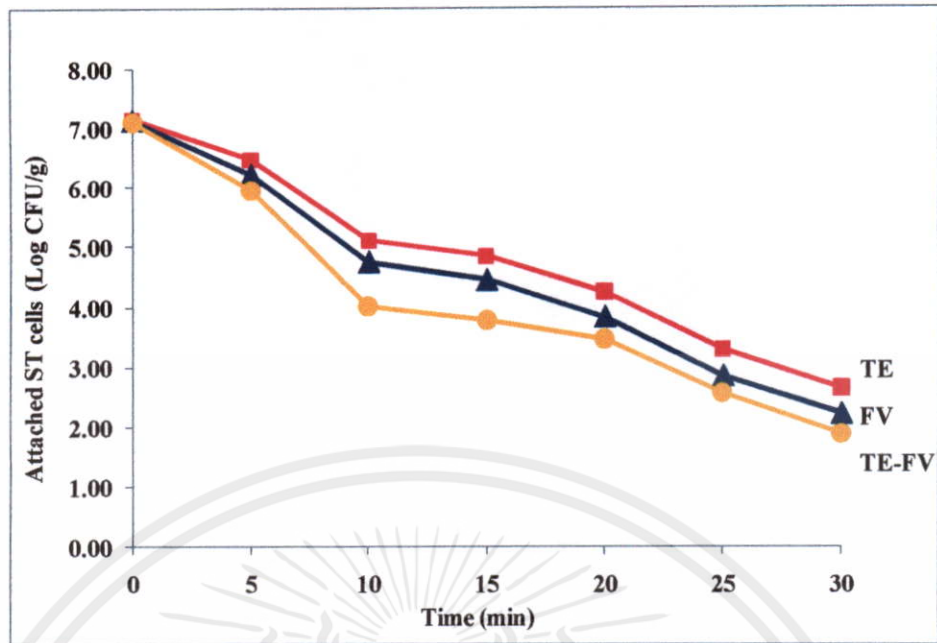
\* จำนวนเชื้อ ST ที่ยู่รอดทั้งหมดตรวจสอบด้วย XLD ค่าเฉลี่ยเบี่ยงเบนมาตรฐาน standard deviations (SD); n = 3

\*\*TE-FV = สารละลายผสมระหว่างสารสกัดขมิ้นชัน (0.05 mg/ml) และน้ำส้มสายชูหมักที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1.7%

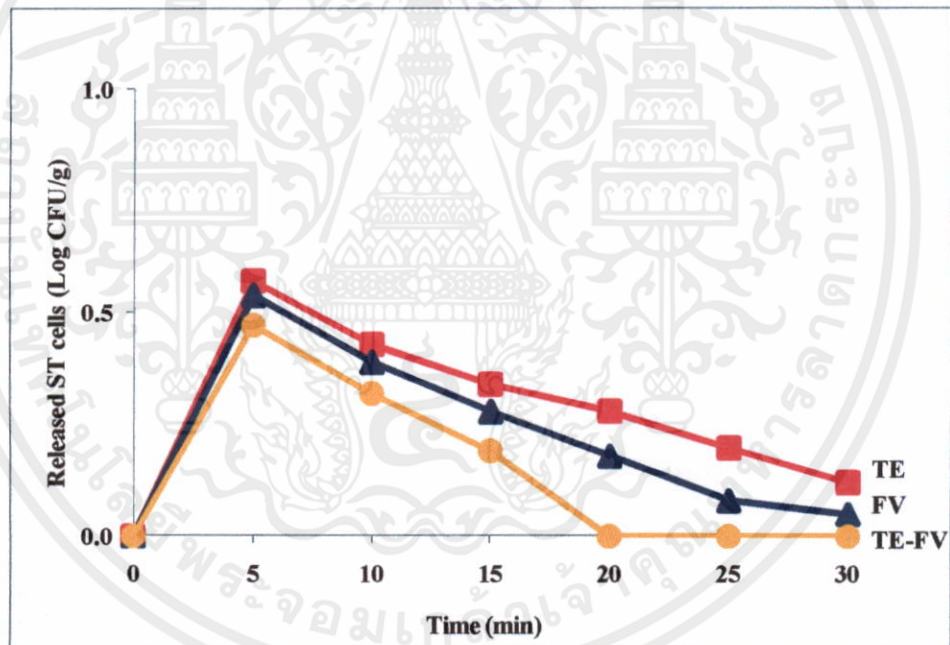
#### 4.4 ผลการใช้สารละลายน้ำส้มสายชูหมักและขมิ้นชันที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการลดปริมาณเชื้อ ST ที่ปนเปื้อนบนผักกาดหอมสด

ก่อนเริ่มการทดลองได้ทำการสุ่มตรวจเชื้อจุลินทรีย์ aerobic และ *Salmonella* spp. บนผักกาดหอมที่จะทำการทดลองโดยอาศัยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ XLD ตามลำดับ ผลการตรวจไม่พบทั้งเชื้อจุลินทรีย์ aerobic และ *Salmonella* spp. และหลังจากนั้นจึงถ่ายสารละลายเชื้อ ST บนผักกาดหอมสดเพื่อหาปริมาณเซลล์เชื้อ ST เริ่มต้นบนผักกาดหอมสด 2 ระดับ คือ ในระดับต่ำ มีปริมาณเชื้อ ST เริ่มต้นประมาณ  $3 \log \text{CFU/g}$  ( $3.05\text{-}3.25 \log \text{CFU/g}$ ) และ เชื้อในระดับสูง ( $7.11\text{-}7.15 \log \text{CFU/g}$ ) หลังจากนั้นนำมาทดสอบกับสารละลายด้วยวิธีการจุ่มกับสารละลายต่างๆที่ประกอบด้วย น้ำสะอาดปลอดเชื้อ (RO), สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก 1.7% สารละลายขมิ้นชัน  $0.05\text{mg/ml}$  และ สารละลายผสมของสารน้ำส้มสายชูหมักและขมิ้นชันซึ่ง ในที่นี้เรียกว่า (TE-FV) ผลกระทบของสารละลายต่างๆต่อการรอดชีวิตของเชื้อ ST แสดงในภาพที่ 4.2 และ 4.3 โดยพบว่าปริมาณของเชื้อ ST บนผักกาดหอมสดมีการลดลงอย่างช้าๆ เมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที หลังจากแช่ในสารละลายทั้งสาม สังเกตได้ว่า TE-FV มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการลดจำนวนเชื้อ ST บนผิวใบผักกาดหอมเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก หรือ สารละลายสารสกัดขมิ้นชันเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้ในกรณีที่มีเชื้อ ST ในปริมาณสูง สารละลาย TE-FV สามารถลดปริมาณเชื้อ ST 73.3% ภายในเวลา 30 นาที ดังแสดงในภาพที่ 4.2 ก ในขณะที่ปริมาณเชื้อ ST บนผิวใบผักกาดหอมสดระดับต่ำสามารถยับยั้งเชื้อได้หมดภายในเวลา 20 นาที ดังแสดงในภาพที่ 4.3ก ซึ่งเป็นผลร่วมในการทำงานของกรดอะซิติก และ สารองค์ประกอบหลักในขมิ้นชัน ที่ทำให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ ST ในขณะเดียวกันยังพบว่าการหลุดออกของเซลล์ ST บนผิวใบผักกาดหอมลงในแต่ละสารละลายในระหว่างการแช่ผักด้วย ผลของการหลุดออกของเซลล์เชื้อ ST แสดงในภาพที่ 4.2 ข และ 4.3 ข โดยที่ปริมาณเชื้อ ST จะหลุดออกมากที่สุดในช่วงเวลาการแช่ 5 นาทีแรก หลังจากนั้นจำนวนการหลุดออกของเซลล์เชื้อ ST จะลดลงและเกิดผลกระทบของเซลล์ ST เหล่านั้นเนื่องจากสารละลาย TE, FV หรือ TE-FV นอกจากนี้ยังพบว่า สารละลาย TE-FV มีประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์ ST ที่หลุดออกมามากที่สุด จากนั้นได้ทำการยืนยันผลกระทบของเซลล์ ST ที่ตรึงบนผิวใบผักกาดหอมเนื่องจากสารละลาย TE-FV จึงได้นำตัวอย่างไปดูด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (Scanning electron microscope; SEM) ซึ่งพบการยึดเกาะของเซลล์เชื้อ ST บนผิวใบผักกาดหอม ดังแสดงให้เห็นภาพที่ 4.4 ก และ 4.4ข โดยที่เซลล์เชื้อ ST มีการยึดเกาะตามพื้นผิวที่ขรุขระของใบผักกาดหอมสดและภายในของปากใบผัก ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดการรอดชีวิตของเชื้อ ST

เอกสารนี้เป็นเนื่องจากสารละลายเข้าไปทำการยับยั้งเชื้อ ST ได้ยากเท่านั้น ไม่นอญาคิให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



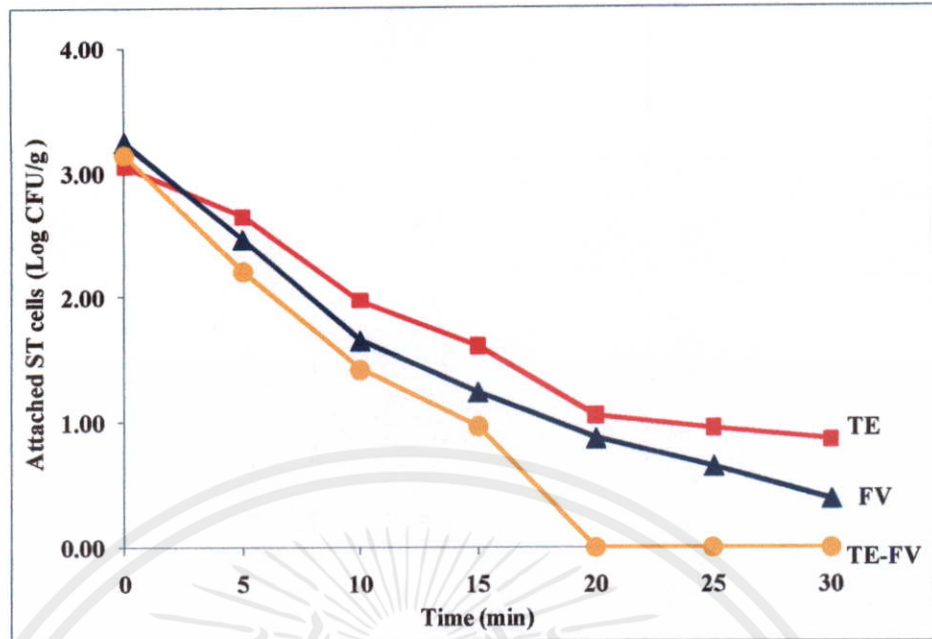
(ก)



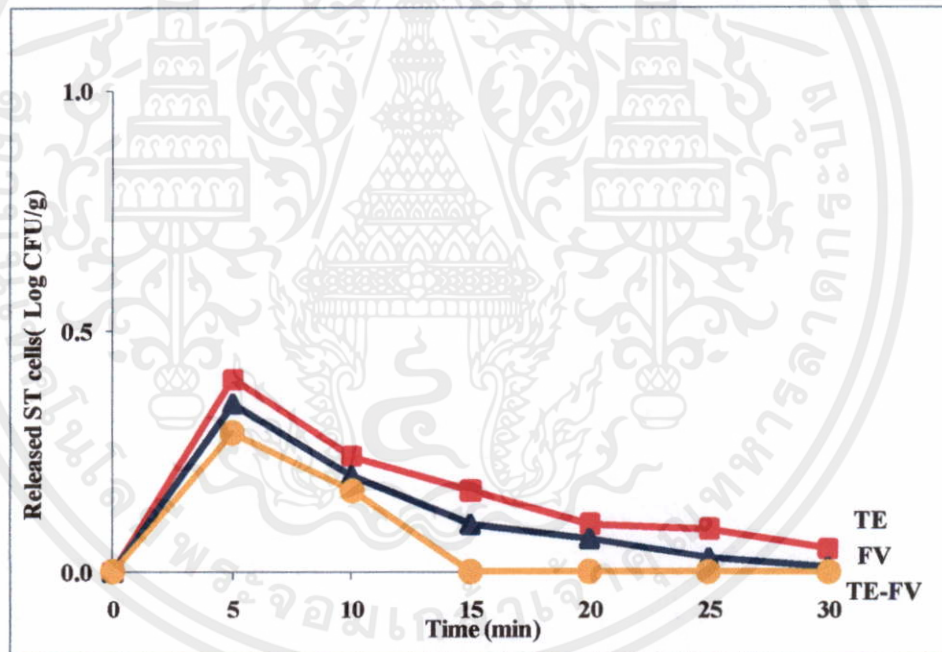
(ข)

ภาพที่ 4.2 จำนวนของปริมาณเชื้อ ST บนผิวผักกาดหอมสด และสารละลายสารสกัดขมิ้นชัน (TE) 0.05 mg/ml สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV) 1.7% (v/v) และ สารละลายผสม (TE-FV) เมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นสูง (7.11-7.15 log CFU/g): (ก) เชื้อ ST ที่ยึด (attach) บนผิวผักกาดหอมสด; (ข) เชื้อ ST ที่หลุด

อยู่ในสารละลายไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

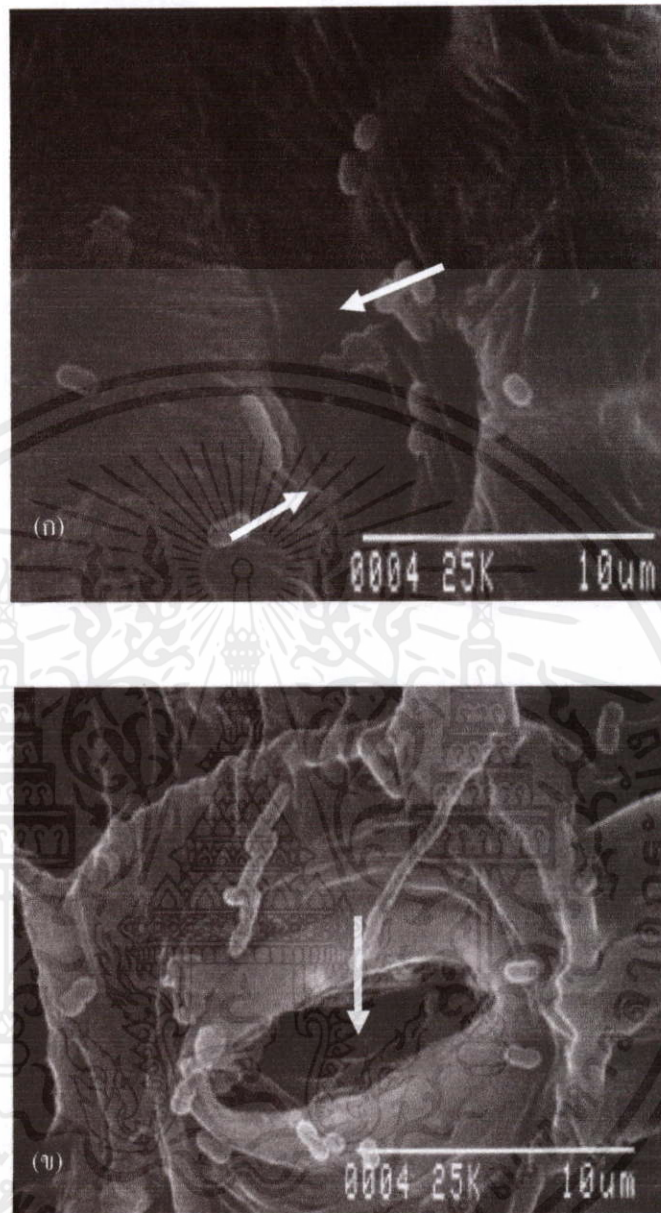


(ก)



(ข)

ภาพที่ 4.3 จำนวนของปริมาณเชื้อ ST บนผิวผักกาดหอมสด และสารละลายสารสกัดขมิ้นชัน (TE) 0.05 mg/ml สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV) 1.7% (v/v) และ สารละลายผสม (TE-FV) เมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่ำ (3.05-3.25 log CFU/g): (ก) เชื้อ ST ที่ยึด (attach) บนผิวผักกาดหอมสด; (ข) เชื้อ ST ที่หลุดออกจากเนื้อเยื่อในสารละลาย ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 การยึดเกาะของเซลด์เซื่อ ST บนผิวไบพคกาคดหอมสดภยหลงจกการจุ่มในสอรละลย TE-FV เมอถ่ายดวยกล้องจุลทรศน้อเลคตรอนเบบสแกนกำล้งขยยรุ่น S-101 บรยษั ฮดษช ประเทศญ่ปุ่น กำล้งขยย 10 นาโนเมตร (ก) เซลด์ที่เกะคดบนผวของไบพคกาคดหอมสด; (ข) เซลด์ ST ที่ยัดเกะคดที่ปากไบพค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเซลล์ของเชื้อ ST ที่เกาะติดบนผิวใบผักกาดหอม ดังแสดงในภาพที่ 4.5ก โดยลักษณะของกลุ่มเซลล์เชื้อ ST ที่เกาะติดมีลักษณะเป็นรูปแท่งยี่ดเกาะติดบนผิวใบผักกาดหอม ซึ่งหลังจากการแช่ด้วยสารละลาย TE-FV เป็นเวลา 5 นาที พบว่าลักษณะโครงสร้างของเซลล์ที่รอดชีวิตมีการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในภาพที่ 4.5ข และมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเวลาแช่สารละลายผ่านไป 10 นาที (ภาพที่ 4.5ค) แต่เมื่อเพิ่มเวลาในการแช่เป็น 20 และ 30 นาที พบว่าเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นซึ่งพบว่าโครงสร้างของเซลล์ถูกทำลายมากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 4.5ง และ 4.5จ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องผลเสริมฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันและกรดอะซิติกในสารละลาย TE-FV นอกจากนี้ Bolin และคณะ (1989) รายงานว่าในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยกรดอะซิติกที่ไม่แตกตัว จะสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์จุลินทรีย์ได้และแตกตัวทำให้ความเป็นกรดต่างภายในเซลล์ลดลงก่อให้เกิดเซลล์บาดเจ็บได้ หลังจากนั้นเซลล์ที่บาดเจ็บจะถูกสารสกัดขมิ้นชันซึ่งมีสารกลุ่มเคโรนินที่เรียกว่า turmerone (เป็นองค์ประกอบหลักและมีฤทธิ์ต่อเซลล์ของแบคทีเรีย) สามารถผ่านผนังเซลล์ที่บาดเจ็บเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นในและนอกของแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น มีผลให้เกิดการสูญเสียไซโทพลาสซึมในเซลล์เนื่องจากสารต่างๆที่อยู่ภายในเซลล์ไหลออกมาออกเซลล์ซึ่งทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (รุ่น S-150 บริษัทฮิตาชิ ประเทศญี่ปุ่น) แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเซลล์เชื้อ ST ที่เกาะติดบนผิวไบฟลักไซด์ภายหลังจากการแช่เอกซาร์นี้ด้วยสารละลาย TE-FV: (ก), 0 นาที; (ข), 5 นาที; (ค), 10 นาที; (ง), 20 นาที; (จ), 30 นาที. ในด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 ผลของสารละลายน้ำส้มสายชูหมักและไขมันชั้น ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาผักกาดหอมสด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ผลของสารละลาย TE-FV ต่อลักษณะปรากฏของผักกาดหอมสด ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 4 วัน พบว่าผักมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยภายใน 3 วันแรกของการเก็บรักษา โดยการสังเกตคุณภาพทางลักษณะปรากฏ นอกจากนี้ยังพบว่าผักกาดหอมที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายน้ำส้มสายชู 1.7% (v/v) ทำให้สีของใบจะมีลักษณะเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาล และความกรอบของใบลดลง ดังแสดงในภาพที่ 4.6ข ขณะที่การใช้สารละลายสารสกัดไขมันชั้น (ภาพที่ 4.6ก) และ น้ำ RO (ภาพที่ 4.6ง) ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะขอบใบสีน้ำตาล และ ความกรอบของผักกาดหอมสดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนผักกาดหอมสดที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลาย TE-FV ดังแสดงในภาพที่ 4.6ค พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยทางด้านลักษณะ ความกรอบสดของผักกาดหอมสดเท่านั้น



ภาพที่ 4.6 ลักษณะปรากฏของผักกาดหอมสด หลังจากการแช่ด้วยสารละลายสารสกัดไขมันชั้น (TE) 0.05 mg/ml สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV) 1.7% (v/v) และ สารละลายผสม (TE-FV) เป็นเวลา 20 นาทีแล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4.7 ลักษณะปรากฏของผักกาดหอมสด หลังจากการแช่ด้วยสารละลายสารสกัดไขมันชั้น (TE) 0.05 mg/ml สารละลายน้ำส้มสายชูหมัก (FV) 1.7% (v/v) และ สารละลายผสม (TE-FV) เป็นเวลา 20 นาทีแล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

หลังจากนั้นพบว่าในวันที่ 5 ของการเก็บรักษา ผักกาดหอมสดที่ผ่านการแช่สารละลายสารสกัดไขมันชั้น (ภาพที่ 4.7ก) มีการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาลตามรอยหยักของขอบใบเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และพบว่าผลของน้ำ RO ทำให้ลักษณะความกรอบของใบเริ่มลดลงมากขึ้นดังแสดงในภาพที่ 4.7ง และในทำนองเดียวกับผักกาดหอมสดที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายน้ำส้มสายชู 1.7% (v/v) ซึ่งสีของใบจะมีลักษณะเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น และลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนอย่างชัดเจน ส่วนผักกาดหอมสดที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลาย TE-FV มีจุดสีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นตามเส้นใยของใบ เนื่องจาก Fillion และ Kilcast (2002) ได้รายงานความกรอบของผิวสัมผัสเป็นสิ่งที่สำคัญในการบ่งชี้คุณภาพความสดของผักและผลไม้ ซึ่งเป็นความต้องการของผู้บริโภคดังนั้นจึงสรุปได้ว่าผักกาดหอมสดที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลาย TE-FV สามารถที่จะยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 สารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1%-2% ซึ่งมีค่า pH อยู่ระหว่าง 4.13 – 3.78 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ ST ได้เมื่อศึกษาในระดับหลอดทดลองที่ระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1.7% (มีค่า pH 3.86) เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที สามารถยับยั้งเชื้อ ST ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 7.12 log CFU/ml เหลือรอดอยู่ 6.66 log CFU/ml (ลดลง 45.60%) และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์เมื่อเวลาผ่านไป 25 นาที อีกทั้งเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นและปริมาณเชื้อเริ่มต้นลดลงระยะเวลาที่ใช้ลดจำนวนเชื้อลง 1 log cycle จึงลดลงตามไปด้วย สารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่ปริมาณของความเข้มข้นของกรดอะซิติก 2.1%-3% ซึ่งมีค่า pH อยู่ระหว่าง 3.76-3.57 ยับยั้งเชื้อ ST ทั้งหมดภายในเวลา 15 นาที ตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 2.6-3.0% (ซึ่งมีค่า pH) ตั้งแต่ 3.65-3.57 สามารถยับยั้งเชื้อ ได้หมดภายในเวลา 5 นาที

5.1.2 สารสกัดขมิ้นชันด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบการสกัดเย็น (Cold solvent extraction, maceration method) และวิธีการสกัดด้วยการกลั่นด้วยน้ำ (Hydro-distillation) ด้วยวิธี GC-MS พบว่า สารสกัดจากวิธีแรกให้ปริมาณ Total turmerone ที่มากกว่าวิธีหลัง เนื่องจากสารสกัดที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบการสกัดเย็นมี (องค์ประกอบ  $\beta$ -tumerone (21.40%) AR-Tumerone (41.97%) และ  $\alpha$ -tumerone (19.51%) ในปริมาณที่สูงกว่าสารสกัดขมิ้นชันที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยการกลั่นด้วยน้ำ จึงเลือกเป็นวิธีที่ใช้ในการสกัดสารจากขมิ้นชัน ในการทดลองครั้งนี้

5.1.3 สารสกัดขมิ้นชัน 0.05mg/ml เมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที พบเชื้อ ST เหลือ 6.59 log CFU/ml (ลดลง 71.15%) และสามารถยับยั้งเชื้อ ST ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 15 นาที ขณะที่สารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้น 1.7% (v/v) (มีค่า pH 3.86) สามารถยับยั้งเชื้อ ST จาก 7.12 log CFU/ml เหลือรอดอยู่ 6.66 log CFU/ml (ลดลง 45.60%) ภายในเวลา 10 นาที และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 25 นาที

5.1.4 สารละลายผสมสารสกัดขมิ้นชัน 0.05 mg/ml และน้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้น 1.7% (V/V) สามารถยับยั้งเชื้อ ST ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 10 นาที ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เร็วกว่าผลการยับยั้งของสารสกัดขมิ้นชันที่ความเข้มข้น 0.05 mg/ml และ น้ำส้มสายชูหมักที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 1.7% ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อ ST ได้อย่างสมบูรณ์ได้ภายในเวลา 15 และ 25 นาที ตามลำดับ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากผลแบบเสริมฤทธิ์ของสารสกัดขมิ้นชันและน้ำส้มสายชูหมัก โดยกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชู

หมักจะช่วยลดค่าความเป็น กรด-ด่างภายในเซลล์ของเชื้อ ST เนื่องจากโมเลกุลที่ไม่แตกตัว (un-dissociated form) ของกรดอะซิติกจะซึมผ่านผนังเซลล์ทำให้เซลล์เสียโครงสร้าง และขัดขวางกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเยื่อหุ้มเซลล์

5.1.5 สารละลายผสมระหว่างขมิ้นชันและน้ำส้มสายชูหมัก (TE-FV) พบว่าสามารถลดเชื้อ ST ปริมาณระดับสูงบนผักกาดหอมสดที่มีปริมาณเริ่มต้น  $7.11 \log \text{CFU/g}$  ด้วยวิธีการจุ่มลง 3 log cycle เหลือ  $4.02 \log \text{CFU/g}$  ได้ภายในเวลา 10 นาที และในขณะเดียวกันสามารถยับยั้งเชื้อ ST ปริมาณเชื้อ เริ่มต้นต่ำที่  $3.14 \log \text{CFU/g}$ . ได้หมดภายในเวลา 20 นาที

5.1.6 การเก็บรักษาผักกาดหอมสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 4 วัน คุณภาพทาง ลักษณะปรากฏของผักกาดหอมที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลายน้ำส้มสายชู 1.7% (v/v) สีของใบจะมี ลักษณะเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาล และความกรอบของใบลดลง โดยการใช้สารละลายสารสกัดขมิ้นชัน และ น้ำ RO ทำให้ผักกาดหอมสดมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะขอบใบสีน้ำตาล และ ความกรอบของ ผักกาดหอมสดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ตลอดช่วงของการเก็บรักษา ส่วนผักกาดหอมสดที่ผ่านการแช่ด้วย สารละลาย TE-FV มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยทางด้านลักษณะความกรอบสดของผักกาดหอมสด เท่านั้น หลังจากนั้นลักษณะของผักเริ่มมีการสูญเสียคุณภาพทางลักษณะปรากฏมากขึ้น และมีจุดสี น้ำตาลตามเส้น โยของใบเพิ่มมากขึ้นและรวมถึงความกรอบของใบลดลง ดังนั้นผักกาดหอมสดที่ผ่านการ แช่ด้วยสารละลาย TE-FV สามารถที่จะยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ซึ่งยังคงเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากข้อมูลที่ทำกรวิจัยชี้ให้เห็นเป็นข้อมูลพื้นฐานทางในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อ โรคนผักผลไม้ให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งควรศึกษากับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นเพื่อ ก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งในด้านความปลอดภัยของอาหารมากขึ้น

5.2.2 จากประสิทธิภาพของสารละลายน้ำส้มสายชูร่วมกับสารสกัดขมิ้นชันที่ในการศึกษานี้ ควรนำไปศึกษาต่อและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำยาล้างผักและผลไม้จากสารธรรมชาติ เพื่อให้เกิดความ เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในธุรกิจการบริการอาหาร และเป็นทางเลือกใหม่ที่ลดความเสี่ยงเรื่องการ ตกค้างของสารเคมีจากสารฆ่าเชื้อที่ใช้ล้างผักผลไม้สดช่วยเพิ่มความปลอดภัยและปรับปรุงคุณภาพชีวิต ของผู้บริโภคให้ดียิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- กรมควบคุมโรค . 2550 เอกสารชื่ออนามัย ศูนย์พัฒนาวิชาการในเขตอุตสาหกรรม ภาคตะวันออก  
จ.ระยอง. กระทรวงสาธารณสุข [Online].Available at  
[http://dpc3.ddc.moph.go.th/in\\_tranet/rayong/msds/acid%20acid.pdf](http://dpc3.ddc.moph.go.th/in_tranet/rayong/msds/acid%20acid.pdf). date on 15 July 2008.
- จิราภรณ์ สุขุมาวาสี, ศักดิ์คำ นำชัยสีวัฒนา และอำพล เอื้ออารี. 2529. อุตสาหกรรมหมักกับ  
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 1 : 57-90.
- คณีย์ นุชเกียรติ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2548. การปฏิบัติภายหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้.  
สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 236 น.
- ทิวพร พรหมรัตน์. 2550. การศึกษาวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารจากขมิ้นชัน. รายงาน  
ปัญหาพิเศษ ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.  
8 หน้า
- ปิยาณี จันทปัญญาศิลป์. 2542. ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนร่วมกับกรดอินทรีย์ในการลด  
ปริมาณ *Escherichia coli* ในผักสด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,  
กรุงเทพฯ
- วชิราภรณ์ เทียมพันธ์. 2545. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อเพื่อลดจำนวน  
*Escherichia coli* และ *Salmonella* Typhimurium บนเปลือกผักกาดหอม. วิทยานิพนธ์  
ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
- วราวุฒิ ครูส่ง. 2551. การบริหารการจัดการจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมอาหาร. สถาบันอาหาร, กรุงเทพฯ. 184 น.
- นภาพร เชื้อชาญ. 2549. การควบคุมการปนเปื้อน จุลินทรีย์ในผักและผลไม้.  
[Online].Available : <http://www.phmet.org/article/view-article.asp?aID=13> : Accessed Date on  
15 March 2008
- นิพนธ์ ไชยมงคล. 2543. เอกสารประกอบการสอน วิชาการผลิตผัก. สาขาพืชผัก ภาควิชาพืชสวน คณะ  
ผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 131 น.
- มาลัย วรวิจิตร. 2545. แบคทีเรียก่อโรค. บริษัทสยามศิลป์การพิมพ์, กรุงเทพฯ หน้า 40 – 41.
- เมฆ จันทร์ประยูร. 2544. ผักสวนครัว. ไททรรศน์, นนทบุรี. 144 น.
- มนต์จันท์ คำยา. 2542. การประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากแบคทีเรียกรดแล็กติก เพื่อลดปริมาณ  
*Salmonella* Typhimurium บนผัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
พงศกร อัจฉริยวรวงศ์. 2540. การเตรียมตำรับยาต้านแบคทีเรียทาภายนอกจากขมิ้นชัน. รายงาน  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ ภาควิชาเทคโนโลยีเกษตรกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 1-9.

Available at [http://www.tcff.co.th/index.php?lay=show&ac=cat\\_show\\_pro\\_detail&cid=1196&pid=7383](http://www.tcff.co.th/index.php?lay=show&ac=cat_show_pro_detail&cid=1196&pid=7383)

Accessed date on 20 May 2008

- ศศิธร วุฒิวิชัย และ สุพจน์ ศุภนันทร. 2548. “ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร ในการยับยั้งการเจริญของ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ”. วิทยาศาสตร์ กำแพงแสน. 3 : 11-27
- สถาบันวิจัยสมุนไพร. 2544. มาตรฐานสมุนไพรไทยขมมีนชัน. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวง สาธารณสุข. โรงพิมพ์ ร.ส.พ., กรุงเทพมหานคร.
- สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2527. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำส้มสายชู. มอก. 83-2527. กระทรวงอุตสาหกรรม. ISBN 974-8119-64-5.
- สำนักพัฒนาเกษตรที่สูง. 2546. คู่มือการปลูกผักบนพื้นที่สูง. สำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. มูลนิธิโครงการหลวง. หน้า 257.
- สุทธิชัย ปทุมล่องทอง. 2543. ผักปลอดสารพิษ. ธารบัวแก้ว. นนทบุรี. หน้า 144.
- สุเมธชา วัฒนสิน. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ. 454 หน้า.
- สุรีย์ นานาสมบัติ จีราวรรณ ยี่สิบแสน และฉัตรแก้ว ช่วยเกิด. 2549. ผลของน้ำมันหอมระเหยจาก เครื่องเทศ ร่วมกับ โซเดียมแลคเตทและการแช่แข็งต่อการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* Rissen ในระหว่างการหมักแหนม. วารสารองค์การเกษตรกรรม. 32: 4-13.
- สายชล เกตุชา. 2528. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้สด. ศูนย์ส่งเสริมและ ฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. หน้า 364.
- องค์การเกษตรกรรม. *ขมิ้นชัน*. 2551. [Online]. เข้าถึงโดย: [http:// www.gpo.or.th](http://www.gpo.or.th) : Accessed date on 19 December 2007.
- อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ ปรีชา จึงสมานกุล. 2538. ชาล โมเนลลาและลิสทีเรียในผักสด. วารสารอาหาร. 25(3): 185-189.
- อรุณ บ่างตระกูลนนท์, นพรัตน์ หนานริม และ ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์. 2540. การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารและผลิตภัณฑ์ : ผลการสำรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในประเทศไทย, น. 1 – 60. ใน รายงาน การสัมมนาเรื่องความก้าวหน้าในการตรวจหาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ, 14 ตุลาคม 2540. โรงแรม เซ็นทรัลพลาซ่า, กรุงเทพฯ.
- Ackers, B.E, M. Mahon, E. Leahly, B. Goode, T. Damrow , P.S. Hayes, W.F. Bibb, D.H. Rice , T.J Barrett,

L. Hutwagner. 1998. “An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leafy vegetables”. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 103-107. การค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- lettuce consumption.” **J. Infect. Diseases.** 26 : 1588-1594.
- Beech, G.A., M.A. Melvin and J. Taggart. 1985. Food, drink and biotechnology. pp. 73-110. In **Biotechnology: Principles and Applications**, pp.73-110. I. J. Higgins, D.J. Best and J. Jones. (Eds.). Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Beuchat, L. R. 1996. “Pathogenic microorganisms associated with fresh produce.” **J. Food Protection.** 59 : 204-216.
- Beuchat, L. R. 2002. “Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables.” **Microbes Infection.** 4 : 413-423.
- Blake, P.A., R. E. Weaver, and D. G. Hollis. 1980. Diseases of humans (other than cholera) caused by Vibrios. **Ann. Rev. Microbiol** 34: 341-67.
- Bhavani, T.N. and M.V. Sreenivasa. 1979. Effect of turmeric (*Curcuma longa*) fractions on the growth of some intestinal and pathogenic bacteria in vitro. **Indian J. Exp. Biology.** 17: 1363–1366.
- Boonyakiat, D., P. Smitamana and P. Smitamana. 1986. Postharvest handling of high land produce to develop economically viable crops to replace opium based agriculture. Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. 23 pp.
- Bolin, H.R., Jr. Stafford, A.E. King and A.D. Huxsol. 1989 Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. **J. Food Science.** 42: 1319-1321.
- Brackett, R.E. 1999. “Incidence, contributing factors and control of bacterial pathogens in produce.” **Postharvest Biol. Tech.** 15: 305-311.
- Brandl, M. T. 2006. Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. **Annu. Rev. Phytopathol.** 44: 367–392.
- Brandl, M. T. and R.E. Mandrell. 2002. Fitness of *Salmonella* enterica serovar Thompson in the cilantro phyllosphere. **Appl. Environ. Microbiol.** 68: 3614–3621.
- Buck, J.W., R.R. Walcott and L.R. Beuchat. 2003. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. [Online]. Available at <http://apsnet.org/online/feature/safety/> Accessed date on 18 December 2008.
- Cantwell, M., J. Rovelo, X. Nie and V. Rubatzky. 1998. Specialty salad greens: Postharvest

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่คัดลอกมาเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้เพื่อการค้าหรือเผยแพร่ในที่สาธารณะได้ หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยเป็นอย่างสูง

- Cantwell, M. and T. Suslow. 2006. Recommendations for maintaining postharvest quality: lettuce: Romaine or Cos. [Online]. Available at <http://www.Postharvest.ucdavis.edu>. Accessed date on 15 August 2007.
- Chaichompoo, W. 1999. Antimicrobial activities of volatile oil and curcuminoids from *Curcuma longa*. L. MS. Thesis, Graduate School, Mahidol University, Bangkok, Thailand.
- Chattopadhyay, I., K. Biswas, U. Bandyopadhyay and R. K. Banerjee. 2004. Turmeric and curcumin: Biological actions and medical applications **J. Food Sci.** 57: 297-301.
- Chang J.M. and T.J. Fang. 2007. "Survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* Serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E.coli* O157: H7" **Food Microbiol.** 24: 745-751.
- Chung, K.C. and J.M. Goepfert. 1970. "Growth of *Salmonella* at Low pH." **J. Food Sci.** 35: 326-328.
- Crueger, W. and A. Crueger. 1990. Biotechnology. A Textbook of Industrial Microbiology. 2<sup>nd</sup> ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Dickson, J.S. 1992. "Acetic Acid Action on beef tissue surfaces contaminated with *Salmonella typhimurium*". **J. Food Sci.** 57 : 297-301.
- Fillion, L. and D. Kilcast. 2002. Consumer perception of crispness and crunchiness in fruits and vegetables. **Food Qua Preference.** 13: 23 – 29.
- Food & Herb. 2550. ขมิ้น. [Online]. Available at <http://www.thaifitway.com/Education/Ndata/N2db/question.asp?QID=3>. Accessed date on 14 October 2009.
- Food Safety and Environment Division. 2004. **Minimally processed vegetable risk assessment** [Online]. Available at [http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/risk\\_assessment\\_pdf/72ra.pdf](http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/risk_assessment_pdf/72ra.pdf). Accessed date on 14 October 2009.
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1988. **Food Microbiology.** 4<sup>th</sup> ed. McGraw – Hill Book Company, New York.
- Garbutt, J. 1997. Essentials of Food Microbiology. pp. 54-78. Arnold. London.
- Hillborn, E.D., J.H. Mermin, P.A. Mshar, J.L. Hadler, A. Voetsch, C. Wojtkunski, M. Swartz, R. Mshar, M.A. Lambert-Fair and J.A. Farrar. 1999. A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. **J. Am. Med. Assoc.** 159: 1758-64.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือทำซ้ำ  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hobbs, B.C. and R. J. Gilbert. 1978. **Food Poisoning and Food Hygiene**. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London.
- ICMSF. 1998. Fruits and Fruit Products. pp. 252-273. In. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Blackie Academic and Professional. London.
- Jay, J.M 2000. **Modern Food Microbiology**. 6th ed. Gaitherberg. Maryland
- Jayaprakasha, G. K., L. J. M. Rao and K. K. Sakariah. 2002. Improved HPLC method for the determination of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. **J. Agric. Food Chem.** 50: 3668-3672.
- Karapinar, M and S.A. Gonul. 1992. Removal of *Yersinia enterocolitica* from fresh parsley by washing with acetic acid or vinegar. **Int. J. Food Microbiol.** 16: 261-267.
- Junga, Y. S., L. R. Beuchat. 1992. "Survival of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in egg powders as affected by water activity and temperature" **Int. J. Food Microbiol.** 49 : 1-8.
- Koo, F.C.W and J.W. Peterson. 1983. Cell-free Extracts of *Salmonella* inhibit protein synthesis and cause cytotoxicity in eukaryotic cells. **Toxicon.** 21: 309-320.
- Koupal, L.P. and R.H. Diebel. 1975. Assay, characterization and localization of an enterotoxin produced by *Salmonella*. **Infect. Immun.** 11: 14-22.
- Krusong, W., R. Haruenkit and S. Tum. 2007. Extending shelf-life of dried yellow strip trivally fish stored at ambient temperature by vinegar. International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand. 26-27 April 2007, pp. 173-176.
- Kudkeaw, N. and W. Krusong. 2007. Effect of acetic on *Salmonella* Anatum reduction *in vitro* and in fresh pork quality. Proceeding of the 9<sup>th</sup> Agro-Industrial Conference. Food Innovation Asia 2007 : "Q" Food for Good Life. BITEC, Bangkok, 14 - 15 June 2007, P3-07-NC.
- Lipton, W.J. 1987. Senescence of leafy vegetable. **Hort. Science.** 22 : 854-859.
- McLandsborough. 2005. **Food Microbiology Laboratory**. Florida : CRC Press LLC. 179 pp.
- Mei, M.C. and T.J. Fang. 2007. "Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157:H7." **Food Microbiol.** 24: 745-751.
- Montville, T.J. and K. R. Matthews. 2005. **Food Microbiology : An Introduction**. Washington :

เอกสารนี้เป็นเอกสาร ASM Press. 380 pp. เป็นการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. 1999. "Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce." **Food Control**. 10: 117-143.
- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. 1999. "Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds". **Int. J. Food Microbiol.** 52: 123-153.
- Natvig, E.E., S.C. Ingham, B.H. Ingham, L.R. Cooperband, and T.R. Roper, 2002. "*Salmonella enterica* serovars Typhimurium and *Escherichia coli* contamination of root and leaf vegetables grown in soils with incorporated bovine manure" **Appl. Env. Microbiol.** 68: 2737-2744.
- Negi, P.S., L. Jayaprakasha, J. Mohan, L. Rao and K.K. Sakariah. 1999. "Antibacterial activity of tumeric oil: a by product from curcumin manufacture". **J. Agric. Food Chem.** 47: 297-300.
- Nguyen-the, C. and F. Carlin. 1994. "The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables." **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 34: 371-401.
- Park, C.M., Y.C. Hung, M.P. Doyle, G.O.I. Ezeike, and C. Kim. 2001. "Pathogen reduction and quality of lettuce treated with electrolyzed oxidizing and acidified chlorinated water". **J. Food Sci.** 66: 1368-1372.
- Pornpukdiwattana, S., W. Krusong, A. Swethiwathana, A. Vichitraka and S. Tantratian. 2006. Prolonged shelf-life of chicken meat by using vinegar. The 8<sup>th</sup> Agro-Industrial conference: Food Innovation 15-16 June 2006. BITEC Bangna, Bangkok, P5\_03.
- Robinson, R.K., C.A. Balt and P.D. Patel. 2000. **Encyclopedia of Food Microbiology**. Academic Press, New York.
- Rojsitthisak, P.Y., Y. Limpanon, N. Thipmongkolsilp, B. Kongtongl and J. Wongtavatchai. 2005. "In vitro inhibitory effect of turmeric extract from *Curcuma longa* on shrimp pathogenic Vibrios". **Thai J. Pharm. Sci.** 29 : 165-177.
- Ryder, E.J. 1998. Lettuce, Endive and Chicory. CABI Publishing, Wallingford. UK. 224 pp.
- Sakazaki, R. 1979. **Food-borne infection and intoxications**. Food Science and Technology. Academic Press, New York.
- Sapers, G.M. 2001. "Efficacy of washing and sanitizing methods for disinfection of fresh fruit and vegetable products." **Food Technol. Biotechnol.** 39: 305-311.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sengun, I.K. and M. Karpinar. 2004. Effectiveness of lemon juice vinegar and their mixture in elimination of *Salmonella* Typhimurium on carrots. **Int. J. Food Microbiol.** 96: 301-305.
- Sengun, I.K. and M. Karapinar. 2005. Effectiveness of household natural sanitizers in the elimination of *Salmonella* Typhimurium on rocket (*Eruca sativa* Miller) and spring onion (*Allium cepa* L.). **Int. J. Food Microbiol.** 98: 319-323.
- Singh, N., R.K. Singh, A.K. Bhunia and R.L. Stroshine. 2002. Efficacy of chlorine dioxide, ozone and thyme essential oil or asequential washing in killing *E. coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 35: 720-729.
- Shankar, B.T.N. and V.S. Murthy. 1979. "Effect of turmeric (*Curcuma longa*) fractions on the growth of some intestinal and pathogenic bacteria *in vitro*." **Indian J. Exp. Biol.** 17: 1363-1366.
- Srinivasan, D., S. Nathan and T. Suresh. 2001. "Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used infolkloric medicine." **J. Ethnopharmacol.** 74: 217-220.
- Tan, S.C. 2005. Farmnote: Postharvest handling of cucumber, lettuce and tomato. Research Officer, Horticultural Science, South Pert Reviewed July 2005. [Online]. Available at [http://www.agric.wa.gov.au/pls/porta130/docs/FOLDER/IKMP/HORT/VEG/CP/FN041\\_1996.PDF](http://www.agric.wa.gov.au/pls/porta130/docs/FOLDER/IKMP/HORT/VEG/CP/FN041_1996.PDF). Accessed date on 20 November 2008.
- Tartakow, I.J. and J.H. Vorperian. 1981. **Food Borne and Water Borne Diseases: Their Epidemiologic Characteristics.** Connection : The AVI Publishing Company Inc.
- Tauxe, R.V. 1997. "Emerging foodborne diseases an evolving public health challenge." **Spe. issue: Emer. Infec. Diseases.** 3 : 425-434.
- Thompson, H.C. and W.C. Kelly. 1957. *Vegetable Crops.* 5<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Book Co., Inc. New York. 611 pp.
- Trias, R., L. Bañeras, E. Badosa and E. Montesinos. 2007. Bioprotection of golden delicious apples and iceberg lettuce against foodborne bacterial pathogens by lactic acid bacteria. [Online]. Available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com). Accessed date on 20 November 2008.
- Tsujihata, S., Entani, E., Asai, M., Tsukamoto, Y. And Ohta, M. 1998. "Mathematical modeling to predict the bactericidal effect of processed vinegar on *Escherichia coli* O157: H7." **Int. J. Food Microbiol.** 43: 135-138.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Watkins, C.B. and J.H. Ekman. 2005. Storage Technologies : Temperature interactions and effects on quality of horticultural products. *Acta Horticulturae*. 682: 1527-1533.

Zeppelin, M. and C.A. Elvehjein. 1944. Effect of refrigeration on retention of ascorbic acid in vegetables. *Food Research*. 9: 100-111.

[http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/risk\\_assessment\\_pdf/71ra.pdf](http://www.omafra.gov.on.ca/english/food/inspection/fruitveg/risk_assessment_pdf/71ra.pdf)  
Accessed Date November 2008.

<http://www.ronghosp.org/hosmain/samonpai-thai/herbal/herbing/curcuma.jpg>. Accessed date on 20 November 2008.

<http://www.foodsafety.gov/~ebam/bam-5.html> Accessed date on November 2008.

<http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=7&ID=77> Accessed date on November 2008.

<http://www.biomedcentral.com/1472-6882/8/55#B7> Accessed date on February 2011.

<http://www.ryt9.com/s/bmnd/784649>. Accessed date on February 2011.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (Trypticase Soy Broth)

Peptone from casein	17	g
Peptone from soy meal	3	g
Glucose	2.5	g
Di-Potassium hydrogen phosphate	2.5	g
Sodium chloride	5	g
Distilled water	1	g

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ต้มให้เป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายอาหารลงในขวดรูปชมพู่หรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### อาหารเลี้ยงเชื้อ (TSA (Trypticase Soy Agar)

Peptone from casein	15	g
Peptone from soy meal	5	g
Sodium chloride	5	g
Agar	15	g
Distilled water	1	L

ละลายส่วนผสมทั้งหมด ต้มให้เป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายอาหารลงในขวดรูปชมพู่หรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### อาหารเลี้ยงเชื้อ XLD (Xylose Lysine Desoxycholate Agar)

Yeast extract	3	g
L-Lysine	5	g
Xylose	3.75	g
Lactose	7.5	g
Sucrose	7.5	g
Sodium Desoxycholate	2.5	g
Ferric ammonium citrate	6.8	g

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phenol red	0.08	g
Agar	15	g
Distilled water	1	L

ละลายส่วนผสมทั้งหมด คัมพอคเดือด ปล่อยให้เย็นลงประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

#### 0.1% Peptone water diluent

Peptone	1	g
Distilled water	1	L

ละลายส่วนผสม ถ้ำอาหารลงในหลอดทดลองแล้วปิดฝา นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### การเตรียมอาหาร TSB ที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1%

จากปริมาณอาหารเหลว TSB รวม 10 มิลลิตรต่อ 1 หลอดทดลอง

คำนวณปริมาตรน้ำส้มสายชูหมักที่มีกรดอะซิติก 10% ที่ต้องใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด

$$\begin{aligned} \text{จากสูตร } C1V1 &= C2V2 \\ (10\%)(V1) &= (1\%)(10 \text{ มิลลิตร}) \\ V1 &= 1 \text{ มิลลิตร} \end{aligned}$$

ต้องใช้น้ำส้มสายชูหมัก 1 มิลลิตรในการเตรียม TSB ที่มีความเข้มข้นของสารละลายน้ำส้มสายชูหมักที่มีปริมาณกรดอะซิติกใน 1% ก่อนการทดลองต้องเติมสารละลายเชื้อ *S. Anatum*  $10^7$  cfu/ml ลงไปอีก 1 มิลลิตร ดังนั้นรวมปริมาตรของเหลวจากน้ำส้มสายชู 1 มิลลิตรและเชื้อ 1 มิลลิตร = 2 มิลลิตร ในการละลายสารอาหารที่ใช้ในการเตรียม TSB จึงต้องใช้น้ำ  $10-2=8$  มิลลิตร เมื่อนำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วรอให้อุณหภูมิลดลงถึงอุณหภูมิห้องแล้วจึงเติมน้ำส้มสายชู 1 มิลลิตรลงไปเขย่าด้วย Vortex แล้วจึงเปิดสารละลายเชื้อลงไปอีก 1 มิลลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวพัทธนันท์ ดั่นไทร เกิดเมื่อวันที่ 19 พฤศจิกายน 2522 ที่ จังหวัดสงขลาสำเร็จ การศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีการอาหาร จากสถาบันราชภัฏสวน คูสิต คณะวิทยาศาสตร์ ปีการศึกษา 2544 ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาสุขาภิบาลอาหารปี พ.ศ 2549 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2554

### ประวัติการทำงาน

มีนาคม พ.ศ. 2544

เจ้าหน้าที่ตรวจสอบและฝึกอบรมทางด้านความ ปลอดภัยของอาหารของบริษัท Johnson Wax Professional

มิถุนายน พ.ศ. 2547

ที่ปรึกษา โปรแกรมความปลอดภัยของกลุ่มธุรกิจ โรงแรมและร้านอาหารภาคพื้น IndoChina บริษัท JohnsonDiversey (Thailand), Ltd.

มีนาคม พ.ศ. 2552

ผู้จัดการทางด้านความปลอดภัย สุขอนามัยอาหาร และสิ่งแวดล้อม บริษัท Sodexo ประจำโครงการ เมืองแร่บริษัท MMG-LXML เซโปน สาธารณรัฐ ประชาธิปไตยประชาชนลาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้