ผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์กับสารละลายคิลแบคเอสยูต่อเชื้อ *Salmonella* Schwarzengrund ในผักชีฝรั่ง

Effect of Sodiumhypochlorite and KILLBACT- SU® solution on *Salmonella* Schwarzengrund in Culantro (*Eryngium foetidum* Linn.)

นางสาววราภรณ์ แก้วเที่ยง

WARAPORN KAEWTIENG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2554

KMITL-2011-AI-M-054-123

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์กับสารละลายคิลแบคเอสยูต่อเชื้อ *Salmonella* Schwarzengrund ในผักชีฝรั่ง

Effect of Sodiumhypochlorite and KILLBACT-SU® solution on *Salmonella* Schwarzengrund in Culantro (*Eryngium foetidum* Linn.)

นางสาววราภรณ์ แก้วเที่ยง

WARAPORN KAEWTIENG

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....120096
วัน, เดือน, ปี.....23 ก.พ. 2555

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

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2554

KMITL-2011-AI-M-054-123

Effectiveness of Sodiumhypochlorite and KILLBACT-SU® solution on *Salmonella* Schwarzengrund in Culantro (*Eryngium foetidum* Linn.)

WARAPORN KAEWTIENG

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 INSTITUE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2011

KMITL-2011-AI-M-054-123

COPYRIGHT 2011

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์กับสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อเชื้อ *Salmonella* Schwarzengrund ในผักชีฝรั่ง
นักศึกษา	นางสาววราภรณ์ แก้วเที่ยง
รหัสประจำตัว	49068762
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2554
ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

บทคัดย่อ

จากการตรวจหาเชื้อซัลโมเนลลา ในผักสด 7 ชนิด จำนวนทั้งสิ้น 25 ตัวอย่างได้แก่ ได้แก่ ผักชีฝรั่ง 5 ตัวอย่าง ผักชี 3 ตัวอย่าง คื่นช่าย 3 ตัวอย่าง ใบสะระแหน่ 3 ตัวอย่าง โหระพา 3 ตัวอย่าง ผักกาดหอม 3 ตัวอย่าง ผักกาดขาว 2 ตัวอย่าง กะหล่ำปลี 3 ตัวอย่าง พบว่ามีเชื้อซัลโมเนลลาปนเปื้อน 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 8) ได้แก่ ผักชีฝรั่ง 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4) และใบสะระแหน่ 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4) โดยเซโรวาร์ที่พบในผักชีฝรั่ง ได้แก่ *S.* Schwarzengrund และเซโรวาร์ที่พบในใบสะระแหน่ได้แก่ *S.* VI 45:a:e,n,z_{15} (O:45) จึงได้ใช้เชื้อ *S.* Schwarzengrund และผักชีฝรั่ง เป็นตัวอย่างในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

เมื่อทำการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในระดับหลอดทดลอง ทดสอบจากสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 10 30 50 และ 100 ppm และสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 25 50 และ 75% เทียบกับหลอดตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสารฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 5 10 และ 15 นาที พบว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 10 ppm ปริมาณเชื้อเหลือรอดเมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างควบคุม (0 ppm) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ความเข้มข้น 30 ppm จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 6.63 – 6.99 log cfu/ml ความเข้มข้น 50 ppm จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 6.60 - 6.84 log cfu/ml ในขณะที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้มากที่สุดที่เวลา 15 นาที 6.23 log cfu/ml เมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างควบคุมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สำหรับสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 25% ระยะเวลา 1 5 10 และ 15 นาที ในหลอดทดลอง สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้ 6.83 6.65 6.56 และ 6.40 log cfu/ml ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ในขณะที่สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% ระยะเวลา 5 นาที ลดจำนวนเชื้อในหลอดทดลองได้ 6.80, 6.17, 5.47 และ 5.09 log cfu/ml ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($p \leq 0.05$) และที่ความเข้มข้น 75% เวลา 5 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อได้อย่างสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากผลการทดลองในระดับหลอดทดลองจึงได้ทำการเลือกระดับความเข้มข้น และระยะเวลาสัมผัสที่ดีที่สุดในการฆ่าเชื้อมาทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่ง พบว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที เพื่อใช้ในการลด *S.* Schwarzengrund ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 7.20 log cfu/g พบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ลดลง 3.46 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ในขณะที่สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 5 10 นาที ลดจำนวนเชื้อปนเปื้อนบนผิวผักชีฝรั่งได้ 2.56 2.42 1.38 log cfu/ml ตามลำดับ และที่เวลา 15 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ ($p \leq 0.05$)

เมื่อทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ด้าน สี กลิ่น ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งโดยเปรียบเทียบผักชีฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา 10 นาที สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที และสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 5 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดช่วงระยะเวลาทดลอง 5 วัน พบว่าเมื่อทำการล้างผักชีฝรั่งด้วยน้ำประปา และสารฆ่าเชื้อจะไม่มีผลต่อคุณภาพเรื่องสี และลักษณะปรากฏ ซึ่งยังอยู่ในเกณฑ์การยอมรับจากผู้ทำการทดสอบ ส่วนคุณภาพทางด้านกลิ่น และการยอมรับโดยรวม พบว่าผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปา สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm และสารละลาย KILLBACT-SU® 50% ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$)

Thesis Title	Effect of Sodiumhypochlorite and KILLBACT-SU® solution on *Salmonella* Schwarzengrund in Culantro (*Eryngium foetidum* Linn.)
Student	Miss Waraporn Kaewtieng
Student ID	49068762
Degree	Master of Science
Program	Food sanitation
Year	2011
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Adisorn Swetwiwathana

ABSTRACT

Twenty five samples of raw vegetables sampling from whole sale market in Pathumthanee province were examined for salmonellae contamination. The vegetables consisted of the culantro (5 samples), coriander (3 samples), celery (3 samples), peppermint (3 samples), sweet basil (3 samples), lettuce (3 samples), chinese cabbage (2 samples) and cabbage (3 samples). Salmonellae were detected in two samples (8%) from culantro (1 sample) and peppermint (1 sample), respectively. *S.* Schwarzengrund (group B) was found in culantro, while *S.* VI 45:a:e,n,z_{15} (O:45) was detected in peppermint. Thus, *S.* Schwarzengrund and culantro were used as the samples for the further study.

The effect of sodium hypochlorite solution (10 30 50 and 100 ppm) and KILLBACT-SU® solution (25 50 and 75%) on *S.* Schwarzengrund compared to the control broth without any disinfectant was prior studied in the medium broth under room temperature at 1 5 10 and 15 min. The results revealed that the survival of *S.* Schwarzengrund in the broth with 10 ppm sodium hypochlorite solution compared to the control broth showed no statistically difference (P> 0.05), while the broth with 30 and 50 ppm sodium hypochlorite solution could reduce the amount of this pathogen to 6.63 - 6.99 log cfu/ml and 6.60 - 6.84 log cfu/ml, respectively. Meanwhile, the broth with 100 ppm sodium hypochlorite solution at 15 min could inhibit *S.* Schwarzengrund to 6.23 log cfu/ml and showed no statistically difference (P> 0.05) when compared to the control broth. The broth with 25% KILLBACT-SU® solution exert the reduction of *S.* Schwarzengrund to 6.83 6.65 6.56 and 6.40 log cfu/ml within 1 5 10 and 15 min, respectively. Meanwhile, broth with 50% of KILLBACT-SU® solution could reduce the number of this pathogen to 6.80 6.17 5.47 and 5.09

log cfu/ml within 1 5 10 and 15 min, respectively, and shoed statistic significantly difference ($p \leq 0.05$) when compared to the control broth. The broth with 75% KILLBACT-SU® solution could completely reduce the number of *S.* Schwarzengrund within 5 min ($p \leq 0.05$). Thus, the best concentration and time of both disinfectants in this in-vitro study (100 ppm of sodium hypochlorite solution for 15 min and 50% of KILLBACT-SU® solution for 1 5 10 and 15 min) were used for the treatment of *S.* Schwarzengrund on the fresh culantro leaves in the next study.

The use of 100 ppm sodium hypochlorite solution in washing of contaminated of *S.* Schwarzengrund on culantro 7.20 log cfu/g for 15 min informed that the amount of *S.* Schwarzengrund decreased to 3.46 log cfu / g which showed statistic significantly difference when compared to the initial load ($P \leq 0.05$), while the contaminated culantro washed with 50% KILLBACT-SU® solution under the exposure time for 1 5 10 min could reduce the amount of contaminated *S.* Schwarzengrund on the surface of culantro leaves to 2.56 2.42 and 1.38 log cfu/g, respectively, and could completely reduce the number of *S.* Schwarzengrund when exposed to this same concentration of infectant solution for 15 min ($P \leq 0.05$).

When the culantro leaves were washed with 100 ppm sodium hypochlorite solution for 15 min, 50% KILLBACT-SU® solution for 5 min compared to the samples which washed with tap water for 10 min then all samples were stored under 4 degrees Celsius for 5 days for sensory study, the results showed that the quality of color and appearance of culantro leaves were still in the acceptance criteria for panelists. The quality of the odor and overall acceptance of cilantro leaves washed with tap water, 100 ppm sodium hypochlorite solution and 50% KILLBACT-SU® solution implied no statistically difference ($P>0.05$).

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่ท่านได้กรุณาสละเวลาอันมีค่าเพื่อมาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ แนะนำการจัดทำงานวิจัยทุกขั้นตอน ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางแก้ไขปัญหา ข้อคิดเห็นพร้อมทั้งได้ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดยังช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องจนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ ดร.กิตติชัย บรรจง และ รศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่กรุณาสละเวลาให้เกียรติร่วมเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยเหลือแก้ไขตลอดจนกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมงานวิจัยบางส่วนจนสำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ที่ให้การอบรมสั่งสอนตั้งแต่เริ่มการศึกษาจนถึงปัจจุบัน ขอขอบคุณ คุณสาธิตา รุ่งอรุโณทัย คุณพิมพิกา สายสวาสดิ์ ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดจนความปรารถนาดีและกำลังใจที่มีให้เสมอ

ขอขอบพระคุณ บริษัท UENO FINE CHEMICALS INDUSTRY LTD.,Thailand. ที่ให้ความอนุเคราะห์สารละลาย KILLBACT-SU® และ บริษัท เคลมเซิร์ฟ จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ สำหรับงานวิจัยครั้งนี้

ขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และขอบใจน้องๆ สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ทำวิทยานิพนธ์และศึกษาในระดับปริญญาโท

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ที่ให้การอบรมเลี้ยงดู สนับสนุนด้านการศึกษาและเป็นกำลังใจที่ดีมาโดยตลอด

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ครูบาอาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

วราภรณ์ แก้วเที่ยง

ตุลาคม 2554

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	IX
สารบัญภาพ	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.3 วัตถุประสงค์	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ความสำคัญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในผักและผลไม้	3
2.2 ผักชีฝรั่ง	5
2.3 ความสำคัญของเชื้อ *Salmonella* spp	6
2.3.1 ลักษณะทั่วไปของ *Salmonella* spp	6
2.3.2 ความสามารถในการทำให้เกิดโรค	6
2.4 การปนเปื้อนของ *Salmonella* spp ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้สด	7
2.5 การใช้สารฆ่าเชื้อในอุตสาหกรรมผักและผลไม้	10
2.5.1 โซเดียมไฮโปคลอไรท์	10
2.5.2 โซเดียมคลอไรท์	11
2.5.3 ชนิด และคุณสมบัติของกรดอินทรีย์	12
2.5.4 กลไกของกรดอินทรีย์ในการยับยั้งจุลินทรีย์	13
2.5.5 สารฆ่าเชื้อทางการค้า	15
2.6 ข้อกำหนดในการใช้คลอรีนและสารประกอบคลอรีน	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 ระเบียบวิธีจัย.....	18
3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	18
3.2 เชื้อจุลินทรีย์.....	18
3.3 อุปกรณ์การทดลอง.....	18
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	19
3.5 สารเคมี.....	19
3.6 วิธีการทดลอง.....	19
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	27
4.1 ผลการตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. ในธรรมชาติของผักสด.....	27
4.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์..... และ สารละลายคิลแบค-เอสยูต่อการยับยั้งเชื้อ *S.*schwarzengrund ในระดับหลอดทดลอง	29
4.3 ผลของการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์..... และสารละลายคิลแบค-เอสยู ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund ที่ปนเปื้อนบนผักชีฝรั่งสด	34
4.4 ผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ..... และ สารละลายคิลแบค-เอสยูต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาผักชีฝรั่งสดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	44
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	50
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	50
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	52
บรรณานุกรม.....	53
ภาคผนวก.....	62
ก วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	63
ข วิธีการเตรียมสารละลาย.....	67

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ค การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส.....	69
ง เอกสาร MATERIAL SAFETY DATA SHEET สารละลาย KILLBACT-SU®.....	72
ประวัติผู้วิจัย.....	78

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แหล่งของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในผักผลไม้และสภาพแวดล้อมที่ส่งผล..... ต่อการรอดชีวิตและการเจริญของจุลินทรีย์	4
2.2	คุณค่าทางโภชนาการของผักชีฝรั่ง.....	6
2.3	ผักและผลไม้ที่มีการปนเปื้อน Salmonella.....	9
2.4	ชนิดของสารฆ่าเชื้อ การใช้งาน ประสิทธิภาพในการลดจุลินทรีย์ ..... และปริมาณที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร	11
2.5	ประสิทธิภาพของคลอรีนที่ความเข้มข้นต่างๆในการฆ่าเชื้อโรค.....	16
4.1	การตรวจพบซัลโมเนลลาในผักชนิดต่างๆ.....	28
4.2	เซโรวาร์ของซัลโมเนลลาที่พบในผัก.....	29
4.3	ปริมาณเชื้อ *S.*Schawazengrund (log cfu/ml)เหลือรอดในหลอด 0.1% ..... Peptone water (Control) และหลอด 0.1 % Peptone water ที่ผสมสารละลาย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 ppm 30 ppm 50 ppm และ 100 ppm	31
4.4	ปริมาณเชื้อ *S.*Schawazengrund (log cfu/ml) ที่เหลือรอด..... ในหลอด 0.1% Peptone water (Control) และหลอด 0.1 % Peptone water ที่ ผสมสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 25% 50% และ75%	33
4.5	จำนวน*S.* Schwazengrund ที่รอดชีวิตบนผักชีฝรั่งซึ่งล้างและ..... แช่ในน้ำประปา และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm	35
4.6	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่รอดชีวิตบนผักชีฝรั่งซึ่งล้างและ..... แช่ในน้ำประปา และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm	37
4.7	จำนวน *S.* Schwazengrund ที่รอดชีวิตบนผักชีฝรั่งซึ่งล้างและ..... แช่ในน้ำประปา และสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50%	40
4.8	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่รอดชีวิตบนผักชีฝรั่งซึ่งล้างและ..... แช่ในน้ำประปาและสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50%	42
4.9	ผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผักชีฝรั่งสดที่ผ่านการล้าง..... ด้วยน้ำประปา สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 ppm สารละลาย KILLBACT-SU® 50%	45

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ผักชีฝรั่ง.....	5
2.2	กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยกรดแก่.....	14
3.1	การเตรียมตัวอย่างและการสร้างการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักชีฝรั่ง..... เพื่อทดสอบประสิทธิภาพองสารฆ่าเชื้อ	23
4.1	การเปลี่ยนแปลงเชื้อ *S.* Schawazengrund (log CFU/ml) ..... ในหลอด 0.1% Peptone water ที่ผสมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10 ppm 30 ppm 50 ppm และ 100 ppm ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)	31
4.2	การเปลี่ยนแปลงเชื้อ *S.* Schawazengrund (log CFU/ml)..... ในหลอด 0.1% Peptone water ที่ผสมสารละลาย KILLBACT-SU®ความเข้มข้น 25% 50% และ75% ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)	33
4.3	ปริมาณการเหลือรอดของ*S.* Schwazengrund (log CFU/g) บนผักชีฝรั่ง..... โดยผ่านการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)	36
4.4	ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log CFU/25g) บนผักชีฝรั่ง..... โดยผ่านการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)	38
4.5	ผักชีฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ..... ความเข้มข้น 75% เวลา 1 นาที	39
4.6	ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwazengrund (log CFU/g) ..... บนผักชีฝรั่ง โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)	41
4.7	ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log CFU/g) บนผักชีฝรั่ง..... โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.8	ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งหลังจากผ่านการแช่ด้วยสารและล้าง..... ด้วยน้ำประปา 10 นาที (A) สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที (B) สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 5 นาที (C) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน	47
4.9	ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งหลังจากผ่านการแช่ด้วยสารและล้าง..... ด้วยน้ำประปา 10 นาที (A) สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที (B) สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 5 นาที (C) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน	48
4.10	ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งหลังจากผ่านการแช่ด้วยสารและล้าง..... ด้วยน้ำประปา 10 นาที (A) สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที (B) สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 5 นาที (C) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน	49

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

โดยทั่วไปผักและผลไม้นิยมนำมาบริโภคสด อาจผ่านหรือไม่ผ่านขั้นตอนการแปรรูป ที่เรียกว่าการแปรรูปขั้นต่ำ (minimally process) ผลิตภัณฑ์เหล่านี้เป็นผลิตผลทางการเกษตรจึงมักมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ จุลินทรีย์เหล่านี้เจริญได้ดีในผักและผลไม้ เนื่องจากผัก ผลไม้มีน้ำเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์สูง มีสารอาหารสมบูรณ์ และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่อนข้างปานกลาง (Wiley, 1994) จุลินทรีย์สำคัญที่สามารถก่อให้เกิดโรคจากการบริโภคผักและผลไม้สด ได้แก่ *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli., Staphylococcus aureus* เป็นต้น ซึ่งพบได้ในผักผลไม้และอาหาร ตัวอย่างเช่น ผักกาดหอม กะหล่ำปลี มะเขือเทศ แคนตาลูป โคลสลอร์ และสลัด เป็นต้น จากการที่ผู้บริโภคตระหนักถึงความสำคัญด้านสุขภาพ การบริโภคผักสดและผลไม้สดจึงได้รับความนิยมเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะผู้บริโภคกลุ่มที่ต้องการคุณค่าทางโภชนาการและการควบคุมน้ำหนัก ปริมาณการบริโภคผักและผลไม้สดที่เพิ่มขึ้นเป็นสาเหตุหนึ่งของการเพิ่มความเสี่ยงในการบริโภคผักและผลไม้สดที่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรค ผักและผลไม้สดเหล่านั้นปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลายทาง เช่น ปนเปื้อนจากแปลงปลูก ปนเปื้อนระหว่างการเก็บเกี่ยว ปนเปื้อนจากการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ระหว่างการขนส่ง กระบวนการผลิต การจัดจำหน่ายและระหว่างการเตรียมอาหาร

ด้วยเหตุนี้จึงมีการใช้สารฆ่าเชื้ออย่างกว้างขวางในกระบวนการผลิตผักและผลไม้เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ มีการแนะนำให้ใช้สารฆ่าเชื้อหลายชนิดช่วยในการล้างผัก ได้แก่ สารประกอบคลอรีน เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ โซเดียมคลอไรท์ (Zhuang และคณะ 1995; Wei และคณะ 1995) หรือสารเคมีที่ไม่ใช่กลุ่มคลอรีน ได้แก่ สารเคมีที่มีส่วนผสมของกรดอินทรีย์ เช่น Peroxyacetic acid และ Hydrogen peroxide (Taormina และ Beuchat, 1999) อย่างไรก็ดี ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อเพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนยังแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของผักและผลไม้ ชนิดของสารฆ่าเชื้อและปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ ชนิดของสาร ความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อที่ใช้ ค่าความเป็นกรด-ด่างของสภาวะแวดล้อมของการล้างนั้น ระยะเวลาที่แช่ผัก อุณหภูมิน้ำล้าง (Gelinas และคณะ, 1984) ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ตลอดจนชนิดของผัก (Takeuchi และ Frank, 2000) รวมทั้งกลไกการเกาะของจุลินทรีย์ ทำให้ไม่สามารถคาดเดาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อเหล่านั้นได้ การวิจัยในครั้งนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการลดจำนวน *Salmonella* spp. บนผักใบ โดยศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมที่ให้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุด ในหลอดทดลองและในแบบทดลองเพื่อสามารถนำไปใช้ได้จริงในการล้างผักระดับครัวเรือน

และระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อ ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการยอมรับลักษณะของผักใบที่จำหน่ายปลีก ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในการล้างผัก เพื่อให้ได้ผักที่มีความปลอดภัยต่อการบริโภคมากขึ้น

1.2 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาสายพันธุ์ *Salmonella* spp. ที่พบปนเปื้อนผักสดในกลุ่มที่มีการบริโภคสดรวมถึงศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อที่ใช้ในทางการค้า โดยศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของสารฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ สารละลายคิลแบค-เอสยู (สารละลายที่มีส่วนผสมของเอทานอลและกรดอินทรีย์) ในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่ง เพื่อที่จะสามารถนำไปใช้ในการล้างผักระดับครัวเรือนและระดับอุตสาหกรรม รวมถึงศึกษาผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลาย KILLBACT-SU® ที่มีต่อสี กลิ่น รสชาติและการยอมรับลักษณะของผักชีฝรั่ง ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เพื่อให้ได้อาหารที่สะอาดและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาสายพันธุ์ *Salmonella* spp. ที่พบในผักสด

1.3.2 ศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม ในการลดเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในหลอดทดลอง (in vitro test)

1.3.3 ศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในผักสด โดยใช้ผักชีฝรั่งเป็นแบบจำลอง

1.3.4 ศึกษาผลของสารฆ่าเชื้อต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการยอมรับของผักชีฝรั่งที่จำหน่ายปลีก

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของจุลินทรีย์ทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในผักและผลไม้

จุลินทรีย์สามารถปนเปื้อนสู่ผักผลไม้ได้ตั้งแต่ในแปลงผักหรือในสวนระหว่างการเก็บเกี่ยว การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ระหว่างกระบวนการแปรรูปและอื่นๆ โดย Beuchat (1996) ได้จำแนกแหล่งของ จุลินทรีย์ในผักผลไม้และสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญของจุลินทรีย์พบว่า อุจจาระ ดิน แหล่งน้ำในการชลประทาน ปุ๋ยคอก อากาศ สัตว์ การจัดการในฟาร์มเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่พบก่อนการเก็บเกี่ยว (ตารางที่ 2.1) ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนของจุลินทรีย์ในผักผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว นอกเหนือจากปัยจัยที่กล่าวข้างต้นแล้วยังได้แก่ อุปกรณ์การเก็บเกี่ยว ภาชนะบรรจุจากแปลงผักถึงขั้นตอนการบรรจุ น้ำที่ใช้ในโรงงาน น้ำแข็ง พาหนะขนส่ง การจัดเก็บที่อุณหภูมิหรือสภาพแวดล้อมทางกายภาพไม่เหมาะสม การบรรจุที่ไม่เหมาะสม รวมถึงเทคโนโลยีการบรรจุแบบใหม่ การปนเปื้อนข้ามจากอาหารชนิดอื่นระหว่างการเก็บ การปนเปื้อนระหว่างการเตรียมหรือแสดงสินค้า อุณหภูมิขณะจัดแสดงสินค้าไม่เหมาะสม การอยู่รอดของชนิดจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในผักผลไม้

ผักสดที่ยังไม่ผ่านการแปรรูปมีจำนวนจุลินทรีย์ตามธรรมชาติสูงกว่า 10^8 CFU/กรัม ส่วนจุลินทรีย์ในผักที่ผ่านกระบวนการแปรรูปขั้นต่ำอาจสูงถึง 10^9 CFU/กรัม ในจำนวนนี้พบจุลินทรีย์ชนิดก่อโรคเนื่องจากการบริโภคอาหารรวมอยู่ด้วย ได้แก่ *Listeria monocytogenes, Yersinia enterocolitica,Aeromonas hydrophila, Staphylococcus aureus* ,enterotoxigenic *Escherichia coli, Shigella* spp.และ *Salmonella* spp. (Hurst และ Schular,1992; Zhuang และคณะ, 1995; Odumeru และคณะ,1997; Hagenmaier และ Baker, 1998) ซึ่ง Brackett (1992)ได้สรุปชนิดของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของผักผลไม้สด แบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ *Shigella* spp., *Salmonella* spp. และ *Listeria monocytogenes* เนื่องจากมีการระบาดครั้งใหญ่จากแบคทีเรียทั้งสามชนิดในผักกาดแก้วหั่นชิ้น มะเขือเทศและโคสลอว์ ตามลำดับ (Schlech และคณะ, 1983; Davis และคณะ,1988; Unrein, 1990) นอกเหนือจาก *Clostridium botulinum* ซึ่งพบปนเปื้อนเป็นครั้งคราว (Solomon และคณะ, 1990) รวมถึงยังพบการระบาดของโรคเนื่องจากพาราสิต และไวรัส (Beuchat, 1996)

ตารางที่ 2.1 แหล่งของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในผักผลไม้และสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการรอดชีวิตและการเจริญของจุลินทรีย์

ก่อนการเก็บเกี่ยว	หลังการเก็บเกี่ยว
มูลของคนและสัตว์	มูลของคนและสัตว์
ดิน	คนงาน หรือผู้บริโภค
น้ำที่ใช้ในการชลประทาน	อุปกรณ์ในการขนส่ง เช่น ภาชนะบรรจุ
ปุ๋ยหมัก	สัตว์เลี้ยงหรือสัตว์ป่า
ฝุ่นละอองในอากาศ	แมลง
สัตว์เลี้ยง สัตว์ป่า สัตว์เลื้อยคลานและสัตว์ปีก	กระบวนการคัดแยก การบรรจุ การตัดแต่ง และอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตอื่นๆ
แมลง	น้ำที่ใช้ล้าง
คนงาน	น้ำแข็ง
	รถขนส่ง
	การเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ และปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ การบรรจุที่ไม่เหมาะสม การปนเปื้อนข้าม (จากอาหารชนิดอื่นๆ) ระหว่างการเก็บรักษา การเตรียมอาหาร

ที่มา : ดัดแปลงจาก Beuchat (1995)

2.2 ผักชีฝรั่ง

ภาพที่ 2.1 ผักชีฝรั่ง

ที่มา : http://www.dumenu.com/article/165

ชื่อ : ผักชีฝรั่ง

ชื่ออื่น : ผักชีดอย ผักหอมเป ผักชีใบเลื่อย ผักจี แมะแและเด๊าะ หอมป้อมกุลา ผักผอมห่อ ผักหอมเทศ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Eryngium foetidum* L.

วงศ์ : Umbelliferae (Apiaceae)

แหล่งที่พบ : พบได้ทั่วไปทุกภาค

ประเภท : พืชล้มลุก

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ : ต้นและใบมีสีเขียวอ่อนถึงเขียวเข้ม รากหลักรูปกระสวยยาว ลำต้นสั้น อยู่ระดับดิน ใบเป็นกระจุกแบบกุซ้อน เรียงเวียน มีก้านใบสั้นหรือไม่มี ใบยาว รูปใบรีแหลมถึงรูปไข่ ขนาดกว้าง 1-4 เซนติเมตร ยาว 5-35 เซนติเมตร ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย มีหนามแหลมเล็ก ๆ ช่อดอกมีก้านยาวสีเขียว แบบซี่ร่ม ดอกมีสีเขียว เรียงเป็นช่อซ้อน กลีบดอกมี 5-7 กลีบ

ส่วนที่ใช้บริโภค : ใบอ่อนและใบแก่

สรรพคุณ : ใบ ใช้ปรุงหรือประกอบอาหารและดับกลิ่นคาวในอาหาร น้ำต้มหรือน้ำคั้นจากใบ ใช้เป็นยาระบาย แก้หวัด แก้ไข้ ช่วยกระตุ้นร่างกาย น้ำต้มจากราก ใช้ขับเหงื่อ ขับปัสสาวะ แก้ไข้ และกระตุ้นร่างกาย

การขยายพันธุ์ : เมล็ด แยกต้นอ่อน

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม : ชอบบริเวณที่ดินชุ่มชื้น และที่ชุ่มน้ำ

คุณค่าทางอาหาร : ผักชีฝรั่ง ในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม ประกอบด้วยคุณค่าทางโภชนาการดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางโภชนาการของผักชีฝรั่ง

คุณค่าทางโภชนาการ	Cal Unit	Moisture%	Protein Gm	Fat Gm	CHO Gm	Fibre Gm	Ash Gm.	Ca mg.	P mg.	Fe mg.	Vitamins				
											A I.U	B1 mg.	B2 mg	Niacin mg.	C mg.
ผักชีฝรั่ง	31	89.5	2.4	0.4	4.6	1.7	1.4	21	22	2.9	5250	0.3	0.21	0.69	38

ที่มา : http://www.suandusitcuisine.com/food4/central/veget/veget54.php

2.3 ความสำคัญของเชื้อ *Salmonella* spp.

2.3.1 ลักษณะทั่วไปของ *Salmonella* spp.

Salmonella เป็นชื่อจีนัสแบคทีเรีย อยู่ในตระกูล Enterobacteriaceae สามารถเจริญได้ทั้งสภาพที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) เจริญได้ ตั้งแต่อุณหภูมิ 5-47 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญ อยู่ในช่วง 37-38 องศาเซลเซียส แบคทีเรียชนิดนี้ไม่ทนความร้อน ถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที และไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส (Tartakow และ Vorperian, 1980) ย้อมติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น ขนาดตั้งแต่ 0.7-1.5x5 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ แหล่งที่มาของเชื้อที่สำคัญ ได้แก่ ของเสียจากการขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ คนและสัตว์เป็นแหล่งที่อาศัยตามธรรมชาติแห่งแรก(Primary habitat) การเกิดโรคอาหารเป็นพิษสืบเนื่องมาจากการบริโภคอาหารหรือน้ำดื่มที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนอยู่ (สุมณฑา วัฒนสินธุ์ ,2545) โดยสารพิษ endotoxin ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ โพลีแซคคาไรด์โพลีเปปไทด์-ลิปิดเอ ซึ่งจะปรากฏอยู่ที่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้เข้าไปในปริมาณที่สูงพอ จะเกิดโรคที่เรียกว่า Salmonellosis โดยอาการของโรคจะมีความรุนแรง หรือระยะเวลานานเท่าใดนั้น ขึ้นอยู่กับสายพันธ์ของเชื้อ Salmonella ที่ปนเปื้อน จำนวนเซลล์ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย และสภาวะของผู้ที่ได้รับเชื้อ ได้แก่ ความแข็งแรง อายุ เป็นต้น (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2544)

2.3.2 ความสามารถในการทำให้เกิดโรค

โรคติดเชื้อทางเดินอาหารที่มีสาเหตุมาจากซาลโมเนลลาเรียกว่า ซาลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) ก่อให้เกิดโรคซึ่งมีอาการแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

2.3.2.1 ไข้ไทฟอยด์ (Typhoid fever) เป็นกลุ่มที่มีอาการของโรครุนแรงที่สุด สาเหตุเกิดจาก *S.* Typhi ในผู้ป่วยซาลโมเนลโลซิสทั้งหมดในประเทศสหรัฐอเมริกา พบผู้ป่วยไทฟอยด์น้อยกว่า 2.5% แหล่งของ *S.* Typhi จะอยู่ในคนเท่านั้น ดังนั้นการติดต่อของ *S.* Typhi เกิดจากการปนเปื้อนของอุจจาระจากผู้ป่วยสู่แหล่งน้ำและอาหาร (Tauxe, 1991) อาการของไทฟอยด์ค่อนข้างรุนแรง พบการติดเชื้อในกระแสเลือด (Septicemia) มีไข้สูง ปวดหัว ท้องเสีย อาเจียนและท้องร่วง

อาจพบจุดสีแดงบนหน้าอกและคอ มีเลือดออกจากลำไส้และจมูก ผู้ป่วยจะมีอาการ 1-8 สัปดาห์ การติดเชื้อเริ่มจากเมื่อแบคทีเรียเข้ามาในระบบย่อยอาหารและผ่านมาถึงลำไส้เล็ก แบคทีเรียเจาะทะลุ epithelial cell ของ villi ในลำไส้เล็กตอนล่างเข้าสู่ lamina propria แล้วเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองของผู้ป่วย ในระบบน้ำเหลืองแบคทีเรียจะถูกเซลล์ macrophage ซึ่งเป็นเซลล์ภูมิคุ้มกันของร่างกายโอบล้อมเพื่อทำลายเซลล์แปลกปลอมซึ่งเป็นกลไกป้องกันการติดเชื้อในร่างกาย แต่ *S.* Typhi สามารถทนต่อการทำลายของเซลล์ macrophage จึงรอดชีวิตและเจริญภายในเซลล์ macrophage นั้น หลังจากแบคทีเรียเพิ่มจำนวนแล้วแบคทีเรียจะกระจายออกมาสู่กระแสเลือด แพร่กระจายไปตามตับม้าม กระเพาะปัสสาวะและอวัยวะต่างๆ จึงก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสโลหิตและอวัยวะต่างๆ

2.3.2.2 ไข้เอนเทอริก (Enteric fever) เกิดจากซาลโมเนลลา 3 ชนิด คือ *S.* Paratyphi type A, B และ C พบผู้ป่วยน้อยกว่า 0.5% ของผู้ป่วยซาลโมเนลโลซิสทั้งหมด กลุ่มอาการของไข้เอนเทอริกคล้ายคลึงกับไข้ไทฟอยด์ แต่รุนแรงน้อยกว่า มีการติดเชื้อในกระแสเลือด มีไข้ ปวดหัว และปวดท้องน้อย ผู้ป่วยจะมีอาการ 1-3 สัปดาห์

2.3.2.3 กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritidis syndrome) เป็นกลุ่มอาการที่พบมากที่สุดในประเทศสหรัฐอเมริกา สาเหตุจากซาลโมเนลลาหลายซีโรไทป์ อาการที่พบบ่อยได้แก่ ท้องร่วง ปวดท้องน้อย ตัวเย็น มีไข้ อาเจียน ขาดน้ำและปวดหัว พบอัตราการตายสูงในผู้ป่วยเด็กและคนชรา อยู่ระหว่าง 0.1-0.2% ระยะฟักตัวอยู่ในช่วง 5-72 ชั่วโมง มีอาการป่วย 1-4 วัน สาเหตุของการเกิดอาการกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ เนื่องจากแบคทีเรียซาลโมเนลลาเข้ามาในระบบย่อยอาหารในจำนวนที่มากพอจะผ่านเข้าสู่ epithelial cell ของลำไส้เล็กตอนปลาย และผ่านเข้ามาใน lamina propria แบคทีเรียเจริญในบริเวณนั้นเป็นสาเหตุให้เกิดการอักเสบ (inflammatory response) บริเวณลำไส้เล็ก แต่ไม่แพร่กระจายไปยังส่วนอื่นๆของร่างกายจึงไม่พบการติดเชื้อในกระแสเลือดและอวัยวะต่างๆ

2.4 การปนเปื้อนของ Salmonella ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้สด

การปนเปื้อนของ *Salmonella* ในผักสดเกิดจากสาเหตุที่ทำให้เกิดโอกาสเสี่ยงที่สำคัญ คือ การปนเปื้อนผักสดในระหว่างการเจริญ การปนเปื้อนในระหว่างการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว การใช้ปุ๋ยหมักจากสัตว์ (animal manure) หรือคน (night soil) รวมทั้งจากน้ำที่มีการปนเปื้อน การนิยมรับประทานผักสดโดยไม่ผ่านความร้อน หรือล้างผักไม่สะอาดเพียงพอก็เป็นสาเหตุที่สำคัญประการหนึ่ง (Robinson และ Patel 2000) ปี 1996 Beuchat ได้รวบรวมการปนเปื้อนของซาลโมเนลลาในผักและผลไม้สด ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ในระหว่างปี 1973-1987 มีรายงานการเกิดโรคระบาดเนื่องจากการบริโภคอาหารเป็น 2% ของการเกิดโรคทั้งหมด โดย 2% ของโรคระบาดทางเดินอาหารมีสาเหตุมาจากการบริโภคผักและผลไม้สด ต่อมาระหว่างปี 1988 และ 1991 สัดส่วนการเกิดโรคระบาดจากการบริโภคอาหารเพิ่มขึ้น

เป็น 5% และ 8% ตามลำดับ สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานผลไม้ที่มีการปนเปื้อน จำนวนจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่เป็นสาเหตุของโรคระบาดจากาการบริโภคผักผลไม้สดส่วนใหญ่คือแบคทีเรีย โดยเฉพาะ Salmonellae มีรายงานว่าเป็นสาเหตุของการก่อโรคระบาด เนื่องจากผักผลไม้สดเป็นพาหะมากที่สุด (Tauxe และคณะ, 1997)

Ercolani (1976) ตรวจพบ Salmonella จากผักกาดหอมที่จำหน่ายในตลาดขายปลีกในประเทศอิตาลี 120 ตัวอย่าง ถึง 68% จากเฟนเนล (fennel) 89 ตัวอย่าง 72% พบตั้งแต่ 1 ซีโรไทป์ หรือมากกว่า 5 ซีโรไทป์ ได้แก่ *S.* Schotkmueli, *S.* Typhimurium, *S.* Thompson, *S.* Dublin, *S.* Typhi และ *S.* Anatum ต่อมา Tamminga และคณะ (1978) แยก Salmonella ได้จากผัก 23 ตัวอย่างในประเทศเนเธอแลนด์และผักสดที่สั่งเข้าจากประเทศอื่นๆ จำนวน 103 ตัวอย่าง ได้แก่ มะเขือ กะหล่ำดอก พริกไทย เอ็นดีฟ และผักกาดหอม ในประเทศสเปน Garcia-Villanuva และคณะ (1987) ได้วิเคราะห์ผักจำนวน 345 ตัวอย่างที่จำหน่าย ทั้งจากฟาร์มตลาดขายส่ง และซุปเปอร์มาร์เก็ต รวมทั้งร้านค้าปลีกขนาดเล็ก พบ Salmonella ในอาร์ติโชค (Artichoke) ใบของบีท (beet) คื่นช่าย กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักชีฝรั่ง ผักกาดหอม และผักโขม เป็นต้น โดยชนิดและจำนวนตัวอย่างผักที่ตรวจพบ *Salmonella* spp. แสดงไว้ในตารางที่ 2.3

ในประเทศไทย สถาบันวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้สำรวจแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในอาหารพร้อมปรุง ได้แก่ ยำประเภทต่างๆ ผักสด แกงจืด แกงเผ็ด และอาหารทอด โดยเก็บตัวอย่างจากห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานครและนนทบุรี จำนวน 100 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* spp. ปนเปื้อนมากที่สุดถึง 57% รองลงมา ได้แก่ *Staphylococcus aureus* 32% และ *Clostridium perfringens* 22% ตามลำดับ (อรุณ, 2540)

ปี 1993 Jernlinchan และ Saitanu รายงานการสำรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์ของถั่วงอกที่ขายในตลาดสด 4 แห่งในกรุงเทพ จากตัวอย่างทั้งหมด 344 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อนซาลโมเนลลา 30 ตัวอย่างหรือ 8.3% แยกเซโรไทป์ ได้ดังนี้ *S.* Lexington(56.7%), *S.* Rion (16.7%), *S.* Senftenberg (16.7%), *S.* Tennessee (3.3%), *S.* Poona (3.3%) และ *S.* Weltevreden (3.3%) ครึ่งหนึ่งของทั้งหมดของ 30 สายพันธุ์ (15/30) ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะอย่างน้อย 1 ชนิด

ในระหว่างเดือนมกราคม 2537-มีนาคม 2537 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยกองวิเคราะห์อาหารร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้สำรวจการปนเปื้อนของซาลโมเนลลาในผักสด โดยการสุ่มตัวอย่างจากผัก 6 ชนิดจากตลาดและห้างสรรพสินค้า ได้แก่ ผักกาดหอม สะระแหน่ ใบแมงลัก ต้นหอม ผักชี และกะหล่ำปลี รวม 80 ตัวอย่าง พบซาลโมเนลลา ปนเปื้อนในผักสด 4 ชนิด (7/80 ตัวอย่าง) ได้แก่ ใบสะระแหน่ ผักกาดหอม กะหล่ำปลี และใบแมงลัก (อดิศร และ ปรีชา, 2538)

ตารางที่ 2.3 ผักและผลไม้ที่มีการปนเปื้อน Salmonella

ชนิด	ประเทศ	จำนวนที่พบ	อ้างอิง
ถั่วงอก	ไทย	30/344 (8.7%)	Jernklinchan และ Saitanu (1993)
	สหราชอาณาจักร		O'Mahony และคณะ (1990)
กระหล่ำปลี	สเปน	7/41 (17.1%)	Garcia-Villanova Ruiz และคณะ (1987b)
กระหล่ำดอก	สเปน	1/23 (4.5%)	Garcia-Villanova Ruiz และคณะ (1987b)
	เนเธอแลนด์	1/13 (7.7%)	Tamminga และคณะ (1978)
คื่นช่าย	สเปน	2/26 (7.7%)	Garcia-Villanova Ruiz และคณะ (1987b)
พริก	สุรินัม	5/16 (31.3%)	Tamminga และคณะ (1978)
พริกไทย	สวีเดน		Anderson และคณะ (1989)
มะเขือ	เนเธอแลนด์	2/13 (1.5%)	Tamminga และคณะ (1978)
ผักกาดแก้ว	อิตาลี	82/120 (68.3%)	Ercolani (1976)
	เนเธอแลนด์	2/28 (7.1%)	Tamminga และคณะ (1978)
	สเปน	5/80 (6.3%)	Gonzalez และคณะ (1987)
	กรีซ	3/157 (1.9%)	Papadakis และคณะ (1980)
ผักชีฝรั่ง	สเปน	1/23 (4.3%)	Garcia-Villanova Ruiz และคณะ (1987b)
ผักใบ	สเปน	26/346 (7.5%)	Garcia-Villanova Ruiz และคณะ (1987b)
	อิรัค	3/43 (7.0%)	Al-Hindawi และ Rished (1979)
วอเตอร์เครส	สหราชอาณาจักร		Joce และคณะ (1990)
ผักกาดเขียว	อียิปต์	1/250 (0.4%)	Satchell และคณะ (1984)
ผักโขม	สเปน	2/38 (5.2%)	Garcia-Villanova Ruiz และคณะ (1987b)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Doyle (1990); D'Aoust (1994); Beuchat (1996) โดย จิตศิริ ทองสอน (2543)

2.5 การใช้สารฆ่าเชื้อในอุตสาหกรรมผักและผลไม้

U.S. FDA (United States Food and Drug Administation) กำหนดปริมาณการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการล้างหรือใช้ร่วมกับการปอกเปลือกผักและผลไม้ด้วยด่างในปริมาณไม่เกิน 0.2% นอกจากนี้การใช้ไฮโปคลอไรท์กำหนดให้มีคลอรีนอิสระไม่เกิน 200 ppm เพื่อเป็นสารทำความสะอาดอุปกรณ์ เครื่องมือและพื้นผิวสัมผัสอาหารที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร (Wei และคณะ, 1985) สำหรับการล้างและทำความสะอาดสายพานลำเลียงผักและผลไม้สดควรใช้คลอรีนความเข้มข้น 1-5 ppm ความเข้มข้นที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ หรือใช้สารประกอบคลอรีนในรูปแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นคลอรีนอิสระ 25 ppm สำหรับลดจำนวนแบคทีเรีย และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นคลอรีนอิสระ 55-70 ppm ในการลดจำนวนแบคทีเรีย ราและยีสต์ในผักและผลไม้สด และในประเทศสหรัฐอเมริกากำหนดไม่ให้มีสารดังกล่าวตกค้างในผลิตภัณฑ์ (จริงแท้ ศิริพานิช, 2538) นอกจากนี้ประเทศญี่ปุ่นนิยมใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการล้างและลดการปนเปื้อนในผักและผลไม้สดได้แก่ แอปเปิ้ล ผักกะหล่ำ มะเขือเทศ หัวบีท แตงกวา และมันฝรั่งในการเตรียมผลิตภัณฑ์ rice caked (Park และคณะ, 1991)

ในกรณีความสามารถในการต้านทานสารฆ่าเชื้อ มีรายงานว่าสารฆ่าเชื้อหลายชนิดสามารถยับยั้งและทำลาย *E.coli* หรือ *Salmonella* spp.ได้ดี จึงมีการแนะนำให้ใช้สารฆ่าเชื้อในขั้นตอนการล้างผักผลไม้หลายชนิด ตารางที่ 4 ได้รวบรวมชนิดของสารฆ่าเชื้อที่นิยมใช้และมีการจำหน่ายแพร่หลายซึ่งมีจุดประสงค์เพื่อใช้ในการทำลายจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร

2.5.1 โซเดียมไฮโปคลอไรท์

โซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็นสารประกอบคลอรีนชนิดหนึ่ง มีสูตรทางเคมีอย่างง่าย คือ NaOCl มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงคลอรีน คือ 74.44 โซเดียมไฮโปคลอไรท์อยู่ในรูปของสารละลาย เตรียมได้จากปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์และคลอรีนในน้ำ กล่าวกันว่าเป็นกลุ่มของสารประกอบคลอรีนที่นิยมใช้กับอาหารมากที่สุด เนื่องจากมีความเป็นพิษต่ำ เกิดปฏิกิริยาได้เร็ว ทำลายจุลินทรีย์ได้หลายชนิดและราคาถูก และยังมีคุณสมบัติฟอกสี แต่มีข้อเสีย คือ กัดกร่อนโลหะบางชนิด และประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง เมื่อมี อินทรีย์สารปะปนในสารละลายโซเดียมคลอไรท์ โดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นต่ำ (Macrae และคณะ, 1993) ปัจจุบันนิยมใช้เป็นสารฟอกสี ฆ่าเชื้อโรคในแหล่งน้ำ และใช้เป็นสารฆ่าเชื้อในอุตสาหกรรมนมและอาหารอย่างกว้างขวาง (El-Kest และ Marth, 1988) รวมทั้งอุตสาหกรรมแปรรูปขั้นต่ำผักผลไม้สด (Wiley, 1994)

ตารางที่ 2.4 ชนิดของสารฆ่าเชื้อ การใช้งาน ประสิทธิภาพในการลดจุลินทรีย์ และปริมาณที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร

ชนิดของสารฆ่าเชื้อ	การใช้งาน	ประสิทธิภาพ	ปริมาณที่ใช้
1.คลอรีนและสารประกอบคลอรีน	-ใช้ในการเก็บเกี่ยว การจัดการ การล้างอุปกรณ์การผลิต ผสมน้ำที่ใช้ในการผลิต ล้างผักและผลไม้ที่ผ่านและไม่ผ่านการตัดแต่ง	1-2 log	200 ppm
	-ล้างเมล็ดผักและผลไม้	1-2 log	2000 ppm
2. ไฮโดรเจนปอร์ออกไซด์	- ล้างผักและผลไม้ที่ผ่านและไม่ผ่านการตัดแต่ง	3 log	5%
3. เปอร์ออกซีแอซีติกแอซิด	-ล้างผักและผลไม้	2 log	200 ppm
4. กรด(กรดแอซิติก, กรดแลคติก)	-ใช้ลดความเป็นกรด-เบส	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ
5. สารลดแรงตึงผิวประจุบวก	-ใช้ทำความสะอาดพื้น ท่อน้ำ อุปกรณ์การผลิต	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Cherry (1999) โดย วชิราภรณ์ เทียมทันธ์ (2545)

2.5.2 โซเดียมคลอไรท์

โซเดียมคลอไรท์มีสูตรทางเคมีอย่างง่าย คือ $NaClO_2$ มวลโมเลกุลเพิ่มขึ้น คือ 90.44 เนื่องจากประกอบด้วยออกซิเจนเพิ่มขึ้นอีกหนึ่งโมเลกุล ในระดับอุตสาหกรรมเตรียมได้โดยผ่านคลอรีนไดออกไซด์ไปในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีคาร์บอเนทและหินปูน ผลึกของโซเดียมคลอไรท์ค่อนข้างดูดความชื้น แต่ไม่จับตัวเป็นก้อน โซเดียมคลอไรท์เป็นตัวออกซิไดส์ที่รุนแรง แต่ไม่ระเบิดถ้าไม่สัมผัสกับสารที่เกิดการออกซิไดส์ ละลายน้ำได้ต่ำ คือ 39 กรัมต่อสารละลายหรือน้ำ 100 กรัม ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (Budavari, 1996) FDA ยอมรับ Acidified sodium chlorite หรือ ASC ให้ใช้เป็นสารเจือปนอาหารโดยตรงเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเนื้อสัตว์ (Federal Register, 1998) นอกเหนือจากคุณสมบัติเป็นสารฆ่าเชื้อบนพื้นผิวและเป็นสารทำความสะอาดแล้ว (Le Chevallier และคณะ, 1988) สารละลายโซเดียมคลอไรท์ถูกใช้อย่างกว้างขวางในการฟอกสีผักและผลไม้ (Beavers และ Payne, 1969)

การเกิดปฏิกิริยาของคลอรีนและสารประกอบคลอรีนในน้ำ

การใช้คลอรีนหรือสารประกอบคลอรีนเป็นสารฆ่าเชื้อ นิยมเตรียมให้อยู่ในรูปของสารละลายที่มีความเข้มข้นตามต้องการ โดยคลอรีนและสารประกอบคลอรีนทำปฏิกิริยากับน้ำได้กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) ดังสมการ

แก๊สคลอรีน $Cl_2 + H_2O \rightleftharpoons HOCl + H^+ + Cl^-$

หรือ

โซเดียมไฮโปคลอไรท์ $NaOCl + H_2O \longrightarrow HOCl + NaOH$

ไฮโปคลอรัสหรือ HOCl เป็นกรดอ่อน มีค่าคงที่การแตกตัวที่ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 3.2×10^{-8} และค่า pKa เท่ากับ 7.5-7.8 (Morris, 1966) ช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่างกัน จะแตกตัวให้ไฮโปคลอไรท์ไอออน (OCl^-) และไฮโดรเจนไอออน (H^+) ดังสมการ

$$Cl_2 + HOH \rightleftharpoons HOCl \rightleftharpoons OCl^- + HOH$$

$$+ \qquad +$$

$$HCl \qquad Cl^-$$

pH < 5 pH 5-8 pH > 8

การแตกตัวของไฮโปคลอรัส ขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย สภาวะที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 7 ไฮโปคลอรัสอยู่ในสภาพที่ไม่แตกตัว และที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 5 กรดไฮโปคลอรัสไม่เสถียร เนื่องจากเกิดแก๊ส Cl_2 ขึ้น แต่ถ้าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 8 ไฮโปคลอไรท์ไอออนจะมีความเสถียรมากกว่า (Hammer และคณะ, 1996) อย่างไรก็ตาม ที่ช่วงความเป็นกรด-ด่าง 5-8 จะให้กรดไฮโปคลอรัสในรูปที่ไม่แตกตัว และมีความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด (Hugo, 1971; White, 1992; Troller, 1993) เพื่อให้กรดไฮโปคลอรัสมีความเสถียรมากที่สุด ความเป็นกรด-ด่างของสารละลายควรอยู่ในช่วง 6.0-7.0 (Izumi,1999)

2.5.3 ชนิด และคุณสมบัติของกรดอินทรีย์

Stokes และ Bayne (1957) กล่าวว่า ซาลโมเนลลาไม่เจริญที่ความเป็นกรดต่ำกว่า 5.0 และถูกยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.5 (Prost และ Riemann, 1967; Rieman, 1969; Hugo, 1971) แต่ต่อมา Chung และ Goepfert (1970) พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำสุดที่ซาลโมเนลลาเจริญได้ คือ 4.05 โดยมีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องและจำกัดการเจริญของแบคทีเรีย ปัจจัยที่สำคัญได้แก่ โมเลกุลของกรด ทั้งนี้สามารถแบ่งประเภทของกรดเป็น 3 กลุ่มตามประสิทธิภาพในการทำลาย Salmonella ด้วยโมเลกุลกรด (Chung และ Goepfert, 1970) ดังนี้

2.5.3.1 กรดที่มีประสิทธิภาพต่ำ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดไฮโปคลอริกและกรดซิตริก ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่ซาลโมเนลลาเจริญได้ อยู่ในช่วง 4.05

2.5.3.2 กรดที่มีประสิทธิภาพปานกลาง ได้แก่ กรดฟูมาริก กรดกลูโคนิก กรดกลูตาริก กรดแลคติก กรดมาลิกและกรดซัคซินิก ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่แบคทีเรียเจริญได้อยู่ในช่วง 4.20-4.70 ต่างกันตามชนิดของกรด

2.5.3.3 กรดที่มีประสิทธิภาพสูง ได้แก่ กรดอะดิปิก กรดไพมิลิก กรดไขมันที่มีสายโมเลกุลสั้น กรดแอซีติกและกรดโพรพิโอนิก ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่แบคทีเรียเจริญได้คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.10 สำหรับกรดไดคาร์บอกซิลิก ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.40 และ 5.50 สำหรับกรดแอซีติกและกรดโพรพิโอนิก ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นกับความเป็นกรด-เบส (Davidson, 1997) โดยกรดที่อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวมีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์มากกว่ากรดที่อยู่ในรูปแตกตัว ดังนั้นประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอินทรีย์จึงขึ้นกับค่าคงที่การแตกตัวของกรด (pKa) และความเป็นกรด-ด่างของสารละลายนอกเซลล์ (Adams และ Hall, 1988) กรดอินทรีย์จะมีประสิทธิภาพมากที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่าค่าคงที่การแตกตัว เนื่องจากกรดอยู่ในรูปไม่แตกตัวสูง (คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่โมเลกุลไม่แตกตัว 50%) หากเพิ่มค่สความเป็นกรด-ด่าง 1 หน่วย จะลดความเข้มข้นของกรดที่ไม่แตกตัว 90% จึงลดการทำลายของจุลินทรีย์ (Harrigan และ Park, 1991) ดังนั้นการเลือกกรดอินทรีย์จึงจำเป็นต้องกำหนดให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย และค่าคงที่การแตกตัวของกรดสัมพันธ์กันและเหมาะสม

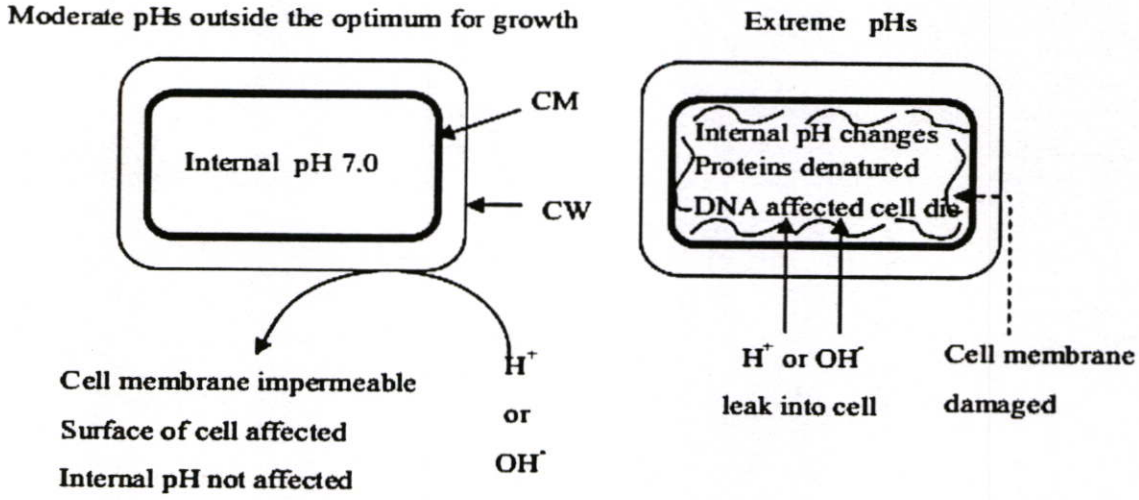
โดยทั่วไปความสัมพันธ์ของการฆ่าจุลินทรีย์ของกรดทุกชนิดจะเพิ่มขึ้นเป็นเส้นตรงตามความเข้มข้นของกรดที่ใช้ Richards และคณะ (1995) จัดลำดับประสิทธิภาพของกรดอินทรีย์ในการยับยั้ง *Salmonella* Enteritidis NCTC 5765 จากมากไปน้อย คือ กรดโพรพิโอนิกมีประสิทธิภาพมากกว่ากรดแอซีติก กรดฟอร์มิก กรดแลคติกและกรดซิตริก ตามลำดับ ต่อมา Tamblyn และ Conner (1997) รายงานว่ากรดแลคติกหรือกรดแอซีติกความเข้มข้น 4% ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถทำลาย S. Typhimurium ที่เกาะบนผิวไก่กระทงได้ 2 $\log_{10}$CFU/มล. หรือ 99.0% ภายในเวลา 2 นาที

2.5.4 กลไกของกรดอินทรีย์ในการยับยั้งจุลินทรีย์

Adams และ Hall (1988) กล่าวว่าความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์เป็นผลมาจากคุณสมบัติการเป็น lipophilic ของโมเลกุลกรดที่ไม่แตกตัว จึงสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียสภาวะสารละลายในไซโตพลาสซึมมีความเป็นกรด-ด่างสูงกว่าสารละลายภายนอกเซลล์กรดภายในเซลล์จึงแตกตัว ปล่อยโปรตรอนและจับกับเบส ขัดขวางการผ่านสารเข้าออกนอกเซลล์และไม่สามารถดำเนินกระบวนการที่เกี่ยวข้องได้ นอกจากนี้ กรดอินทรีย์จะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยทำให้เซลล์มีความเป็นกรด เซลล์จึงต้องใช้พลังงานเพื่อรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ให้

สมดุล การเติมกรดจึงมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์และระบบการขนส่งสับสเตรท (Freese และคณะ, 1973; Booth, 1985) ซึ่งต่อมา Ahamad และ Marth (1989) พบว่า กรดแอซีติก กรดซิตริก และกรดแลกติก อย่างน้อย 0.1% สามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับ Entani และคณะ (1998) ที่ใช้น้ำส้มสายชูซึ่งมีกรดแอซีติก 0.1% ยับยั้งการเจริญของ *E. coli* O157:H7, *S.* Enteritidis และ *S.* Typhimurium

กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของกรดอ่อนและกรดแก่แตกต่างกัน โดยกลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยกรดแก่แสดงดังภาพที่ 2.2 เมื่อค่ากรด-เบสของสภาวะแวดล้อมเหมาะสม (ค่ากรด-เบสปานกลาง) กรดแก่ที่แตกตัวเป็น H^+ และ OH^- ภายนอกเซลล์ไม่สามารถผ่านผนังเซลล์จุลินทรีย์ เนื่องจากกรดที่แตกตัวนั้นเป็นโมเลกุลที่มีขั้วหรือมีประจุ และบริเวณผนังเซลล์เป็นชั้นไขมันซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีขั้วจึงจับประจุของกรดที่แตกตัวไว้ ในขณะที่กรดที่ไม่แตกตัวผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่าเพราะเป็นโมเลกุลที่ไม่มีขั้ว ดังนั้นกรดแก่ที่แตกตัวจึงไม่สามารถทำลายเซลล์ได้ ในทางตรงข้ามเมื่อค่ากรด-เบสของสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น มีค่ากรด-เบสต่ำมากๆ เซลล์เมมเบรนจะถูกทำลาย ส่งผลให้กรดที่แตกตัวที่อยู่ในรูป H^+ และ OH^- สามารถผ่านผนังเซลล์จุลินทรีย์เข้าไป เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนและดีเอ็นเอภายในเซลล์ เซลล์จึงถูกทำลายในที่สุด (Garbutt, 1997)



ภาพที่ 2.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยกรดแก่

ที่มา : Grabutt (1997)

2.5.5 สารฆ่าเชื้อทางการค้า

สารละลายฆ่าเชื้อ Killbact-SU (บริษัท Ueno Fine Chemicals Industry) เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของเอทานอลและกรดอินทรีย์ ที่ความเข้มข้น 37% สามารถทำลายเชื้อ *Salmonella* Choleraesuis ภายใน 10 นาที

Park และคณะ (1991) ศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารละลายฆ่าเชื้อ Bionox (บริษัท Bionox Corp., Tucson, Arizona) ซึ่งเป็นสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ประกอบด้วยสารละลาย 2 ส่วน คือ สารละลาย A (โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.6% pH11) และสารละลาย B (กรดซิตริก เกลือโซเดียมซิเตรตและสารลดแรงตึงผิว, pH 1.8) เมื่อทำการผสมสารละลายทั้งสองส่วนก่อนการใช้งานเพื่อให้มีไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นประมาณ 3,000 ppm (คลอรีนอิสระ 1,480 ppm) สามารถทำลายจุลินทรีย์ภายใน 20 นาที Bionox สามารถลดปริมาณ *S.* Enteritidis ในผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ตัดแต่ง เนื้อปลา ผักและผลไม้ พบว่าสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ลงได้ 2-4 log10 CFU/g. ในเวลา 10-20 นาที

Mullerat และคณะ (1995) ได้ใช้ Salmide® ซึ่งเป็นสารฆ่าเชื้อชนิด Sodium-chlorite-based oxyhalogen ลดปริมาณ *Salmonella* spp. จำนวน 9 สปีชี่ส์และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ ได้แก่ ชนิดแกรมบวก (*Bacillus cerues, L. monocytogenes, S. aureus*) และชนิดแกรมลบ (*E.coli* 0157:H7, *P. aeruginosa*) พบว่า Salmide® ความเข้มข้น 10 mM. สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้ 2.5-6.0 log10 CFU/g. เมื่อบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ยกเว้น *L. monocytogenes* ATCC 19111 ที่สามารถต้านทานฤทธิ์ของ Salmide® ได้

2.6 ข้อกำหนดในการใช้คลอรีนและสารประกอบคลอรีน

การที่คลอรีนและสารประกอบคลอรีนทั้งชนิดอินทรีย์และอนินทรีย์มีคุณสมบัติในการทำลายและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ FDA จึงได้กำหนดให้คลอรีนเป็นสารประเภทที่เรียกว่า GRAS (Generally Recognized as Safe) ซึ่งมีความปลอดภัยในการนำคลอรีนและสารประกอบคลอรีนมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆ และได้รับอนุญาตในหลายประเทศให้ใช้เพื่อฆ่าจุลินทรีย์ในน้ำดื่มและอาหาร (Edwards, 1980; Wei และคณะ, 1985) ตัวอย่างสารประกอบคลอรีนที่ FDA แนะนำการใช้และกำหนดปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสม ได้แก่

<u>ไฮโปคลอไรท์</u> FDA กำหนดปริมาณการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการล้าง หรือใช้ร่วมกับการปอกเปลือกผักผลไม้ด้วยด่าง ในปริมาณไม่เกิน 0.2% นอกจากนี้ยังกำหนดการใช้ไฮโปคลอไรท์เพื่อเป็นสารทำความสะอาดอุปกรณ์ เครื่องมือและพื้นผิวสัมผัสอาหารที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร โดยกำหนดให้มีคลอรีนอิสระไม่เกิน 200 ppm (Wei และคณะ, 1985) การล้างและทำความสะอาดสายพานลำเลียงผักและผลไม้สดควรใช้คลอรีนความเข้มข้น 1-5 ppm ความเข้มข้นที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ หรือใช้สารประกอบคลอรีนในรูปของแคลเซียมไฮโปคลอ

ไรท์และโซเดียมไฮโปคลอไรท์เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ในผักผลไม้สด และในประเทศสหรัฐอเมริกากำหนดไม่ให้มีสารดังกล่าวตกค้างในผลิตภัณฑ์ (จริงแท้ ศิริพานิช , 2538) ส่วนน้ำดื่มควรมีปริมาณคลอรีนเหลือเพียง 0.025-2.0 ppm ทั้งนี้ขึ้นกับการปนเปื้อนของน้ำและปริมาณอินทรียวัตถุที่มีในน้ำ การใช้คลอรีนในน้ำหล่อเย็นกระป๋องหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนแล้วควรใช้ปริมาณใกล้เคียงกับที่ใช้ในน้ำดื่ม กล่าวคือ ความเข้มข้นของคลอรีนไม่เกิน 0.2 ppm (Wei และคณะ, 1985; Troller, 1993)

ในประเทศไทย มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกำหนดโดยกระทรวงอุตสาหกรรมอนุญาตให้มีการใช้สารประกอบคลอรีนหรือสารประกอบไฮโปคลอไรท์ในน้ำที่ใช้ในกรรมวิธีการผลิตอาหารเยือกแข็ง โดยน้ำที่ใช้สัมผัสอาหารต้องเป็นน้ำที่บริโภค และมีปริมาณคลอรีนอิสระที่เหลืออยู่ 1-2 ppm ส่วนน้ำแข็งต้องทำจากน้ำบริโภค และมีปริมาณคลอรีนอิสระที่เหลืออยู่ 1-2 ppm และน้ำทั่วไปที่ใช้ในโรงงาน ควรเป็นน้ำสะอาดผสมคลอรีน โดยมีปริมาณคลอรีนอิสระที่เหลืออยู่ 10-20 ppm หรือมากกว่าตามความเหมาะสม (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม , 2533)

ตารางที่ 2.5 ประสิทธิภาพของคลอรีนที่ความเข้มข้นต่างๆในการฆ่าเชื้อโรค

เชื้อโรค	สารละลายคลอรีนที่ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	เวลา (นาที)
แบคทีเรีย	100	10
เชื้อวัณโรค	125	3-10
เชื้อรา	100	60
เชื้อไวรัสตับอักเสบบี	500	10
เชื้อ HIV	50	10
สปอร์ของแบคทีเรีย	ทำลายไม่ได้	

ที่มา : กลุ่มพัฒนาคุณภาพน้ำบริโภค (2549)

<u>โซเดียมคลอไรท์</u> สารประกอบคลอไรท์ในรูปเกลือโซเดียมหรือโซเดียมคลอไรท์เป็นสารเคมีที่อยู่ในรายการสารเจือปนอาหารประเภท GRAS ของ FDA อนุญาตให้ใช้เป็นสารฟอกสีเชอรี่ในน้ำเกลือที่ความเข้มข้นไม่เกิน 0.75% ตามด้วยการล้างในน้ำเย็น เพื่อชะล้างสารตกค้าง (Beavers และ Payne, 1969) และอนุญาตให้ใช้เป็นสารฆ่าราเมือกในการผลิตกระดาษ หรือภาชนะที่สัมผัสอาหาร โดยกำหนดความเข้มข้นที่เหมาะสมในช่วง 125-250 ppm (Federal Register, 1980)

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

นอกจากนี้ยังอนุญาตให้ใช้สารละลายโซเดียมคลอไรท์ที่ปรับสภาพเป็นกรด (Acidifidsodium chlorite หรือ ASC) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของแบคทีเรียในเนื้อสัตว์ (Federal Register, 1998)

Adams และคณะ (1989) ได้รายงานว่าการใช้ไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นสูงล้างผักและผลไม้ อาจเป็นสาเหตุให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีคล้ำ และอาจเกิดปัญหากัดกร่อนอุปกรณ์ นอกจากนี้สารละลายคลอรีนรวมถึงสารชนิดต่างๆ ได้แก่ กรดไฮโปคลอรัสและไฮโปคลอไรท์ มีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่รับกลิ่น (Odor threshold) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่รับรสได้ (Taste threshold) ต่ำ หรืออีกนัยหนึ่งคือให้กลิ่น แม้ที่ความเข้มข้นในสารละลายต่ำมาก โดยเฉพาะกรดไฮโปคลอรัสมีความเข้มขั้นต่ำสุดที่รับกลิ่นและรสต่ำกว่าไฮโปคลอไรท์ไอออน กรดไฮโปคลอรัสมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่รับกลิ่นและรส เท่ากับ 0.28 และ 0.24 ตามลำดับ ส่วนไฮโปคลอไรท์ไอออนมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่รับกลิ่นและรส เท่ากับ 0.36 และ 0.30 และทั้งคู่ให้รสและกลิ่นระเหยของคลอรีนเช่นกัน (Krasner และ Barrett, 1984)

ด้านความเป็นพิษของสารประกอบคลอรีน พบว่า สารประกอบคลอรีนที่ระดับความเข้มข้นสูงมาก อาจก่อให้เกิดสารมะเร็งในสัตว์ทดลอง (Ames, 1979) สำหรับการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ พบว่า สารนี้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในยีนของ *S.* Typhimurium โดยการแทนที่เบสใน DNA หรือ RNA ทำให้สารพันธุกรรมเหล่านี้ผิดไปจากปกติ (Wlodkowski และ Rosenkranz, 1975) แต่เมื่อนำสารนี้มาทดสอบกับสัตว์ทดลอง ที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm กลับไม่พบความเป็นพิษเกิดขึ้น (Cunningham, 1980)

120096

บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 ผักชีฝรั่ง ซื้อจากตลาดในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล โดยก่อนนำมาใช้ในการทดลองต้องทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 เชื้อ *S.* Schwarzengrund ที่ได้จากการตรวจพบในผักชีฝรั่ง

3.3 อุปกรณ์การทดลอง

3.3.1	หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)	SS-245	Tomy	Japan
3.3.2	เครื่องชั่งชนิดละเอียด	Dragon3002	Mettler Toledo	China
3.3.3	ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Air Flow)	BS24 9BP	Bio safety	UK
3.3.4	ตู้บ่มเพาะเชื้อ	D06060		
		Model 400	Memmert	Germany
3.3.5	ตู้อบแห้ง Hot air oven	Type 6000	Heraeus	Germany
3.3.6	วอร์เทกซ์ มิกเซอร์	G-560 E	Scientific	U.S.A
3.3.7	ตู้เย็น	Express cool		
		Gr-282MVF	LG	Korea
3.3.8	เครื่องไมโครเวฟ	R 351	Sharp	Japan
3.3.9	เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส			
	(pH meter)	CG841	Schott gerate	Germany
3.3.10	เครื่องแก้ว			
3.3.11	เข็มและห่วงเขี่ยเชื้อ needle and loop			
3.3.12	จานเพาะเชื้อพลาสติก			
3.3.13	เวอเนียร์แคลลิปเปอร์			

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.4.1	Tryticase Soy Agar (TSA)	Merck	Germany
3.4.2	Tryticase Soy Broth (TSB)	Merck	Germany
3.4.3	Xylose Lysine Desoxycholate	Merck	Germany
3.4.4	Triple Sugar Iron Agar (TSI)	Merck	Germany
3.4.5	Lysine Iron Motility Medium (LIM)	Merck	Germany
3.4.6	Buffered Peptone Water	Merck	Germany
3.4.7	Diluent (0.1%BPW)	Merck	Germany

3.5 สารเคมี

3.5.1	สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์	Chemserve	Thailand
3.5.2	สารละลายฆ่าเชื้อคิลแบค เอสยู (Killbact-SU)	ได้รับอนุเคราะห์จาก UENO FINE CHEMICALS INDUSTRY LTD.	Thailand
3.5.3	แอลกอฮอล์ (Alcohol) ความเข้มข้น 70% และ 95%	Sigma	Malaysia

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 ตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. ในธรรมชาติของผักสด

3.6.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างผักสด 8 ชนิด จากร้านค้าในตลาดไท ตลาดสี่มุมเมือง และตลาดสะพานใหม่ รวม 25 ตัวอย่าง ได้แก่ ผักชีฝรั่ง 5 ตัวอย่าง ผักชี 3 ตัวอย่าง คื่นช่าย 3 ตัวอย่าง ใบสะระแหน่ 3 ตัวอย่าง โหระพา 3 ตัวอย่าง ผักกาดหอม 3 ตัวอย่าง ผักกาดขาว 2 ตัวอย่าง กะหล่ำปลี 3 ตัวอย่าง โดยวิธีการเก็บใช้ถุงพลาสติกที่สะอาดและปราศจากเชื้อ และควบคุมสภาวะการจัดเก็บระหว่างการเดินทางไปยังห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจสอบภายหลังจากเก็บตัวอย่างภายในเวลา 6 ชั่วโมง(ดัดแปลงจาก วชิราภรณ์ เทียมทันธ์, 2545) โดยนำตัวอย่างผักสดทั้ง 25 ตัวอย่างตรวจสอบ *Salmonella* spp. ด้วยวิธีวิเคราะห์ของ Bacteriogical Analytical Manual (2008)

3.6.1.2 การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. (ดัดแปลงมาจาก อรุณ บ่างตระกูลนนท์และคณะ, 2540)

นำตัวอย่างผักสดแต่ละรายการ แบ่งส่วนมาจำนวน 25 กรัม ใส่ในภาชนะปิดที่ปลอดเชื้อ เติม pre-enrichment medium สารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) เขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที และนำไปบ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ลูปเขี่ยเชื้อบริเวณโคลโลนีเดี่ยวลงใน Trypicase Soy Broth (TSB) 10 มิลลิลตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose Lysine esoxycholate Agar (XLD) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตรวจดูปริมาณของเชื้อ *Salmonella* spp. และเลือกโคโลนีที่ให้ลักษณะเฉพาะ *Salmonella* ไปทำการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีโดยใช้เข็มเขี่ยโคโลนีที่สงสัยไปเพาะลงใน Triple Sugar Iron Agar (TSI), Lysine Indole Motile (LIM) และ Trypicase Soy Agar (TSA) นำหลอดอาหารไปบ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผล TSI, LIM และTSA นำไปทดสอบซีรั่มวิทยา ส่งตรวจยืนยันผลและหาสายพันธุ์ของซัลโมเนลลาที่ S.A.P Laboratory ซึ่งสายพันธุ์ที่ตรวจพบได้แก่ *S.* Schwarzengrund จึงได้นำสายพันธุ์นี้มาใช้ในการทดลอง

3.6.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อที่สภาวะเหมาะสมต่อการลดเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในหลอดทดลอง

3.6.2.1 การเตรียมสารละลายเชื้อ *S.* Schwarzengrund

เตรียมเชื้อบริสุทธิ์ *S.* Schwarzengrund สำหรับการทดลองแต่ละครั้ง โดยนำหลอด TSA slant ที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB โดยถ่ายเชื้อ 1 ลูป จากหลอด TSA slant ลงใน TSB 10 มิลลิลิตร เพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น ปิเปตสารละลายที่มีเซลล์เจริญปริมาตร 1 มิลลิลตร ลงใน TSB 99 มิลลิลิตร ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ (inoculum) และใช้ในการสร้างการปนเปื้อน (artificially contamination) ก่อนการทดลองนำมาทำให้เจือจางโดยใช้สารละลายเปปโตน 0.1% จนได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ (ดัดแปลงมาจาก มนทกานต์ บุญยการ , 2545)

ทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธี Spread Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA สุ่มตรวจยืนยันโคโลนีที่ขึ้นอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงจำเพาะ XLD agar โดยวิธี Spot assay บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S.* Schwazengrund ที่เจริญบน XLD

3.6.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในหลอดทดลองของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และสารละลายคิลแบค-เอสยู

เตรียมสารละลายเปปโตน 0.1% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อปรับให้มีความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มการทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 สารละลายเปปโตน 0.1% เป็นกลุ่มควบคุม (ไม่เติมสารฆ่าเชื้อ)

กลุ่มที่ 2 สารละลายเปปโตน 0.1% ที่มีสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10 ppm ,30 ppm ,50ppm และ 100ppm

กลุ่มที่ 3 สารละลายเปปโตน 0.1% ที่มีสารละลายคิลแบค-เอสยู ความเข้มข้น 25%, 50% และ 75%

ทำการเตรียมเชื้อ *S.* Schwarzengrund (จากข้อ3.6.2.1) ปริมาตร 1 ml ปิเปตลงในแต่ละหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 0.1% ปรับระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อตามกลุ่มทดลองดังกล่าว และตัวอย่างควบคุม โดยทุกสภาพการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อและตัวอย่างควบคุมให้มีปริมาณเซลล์ตั้งต้น 10^6CFU/ml บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0 1 5 10 และ 15 นาที (ดัดแปลงมาจาก จิราวรรณ ยี่สิบแสน, 2552)

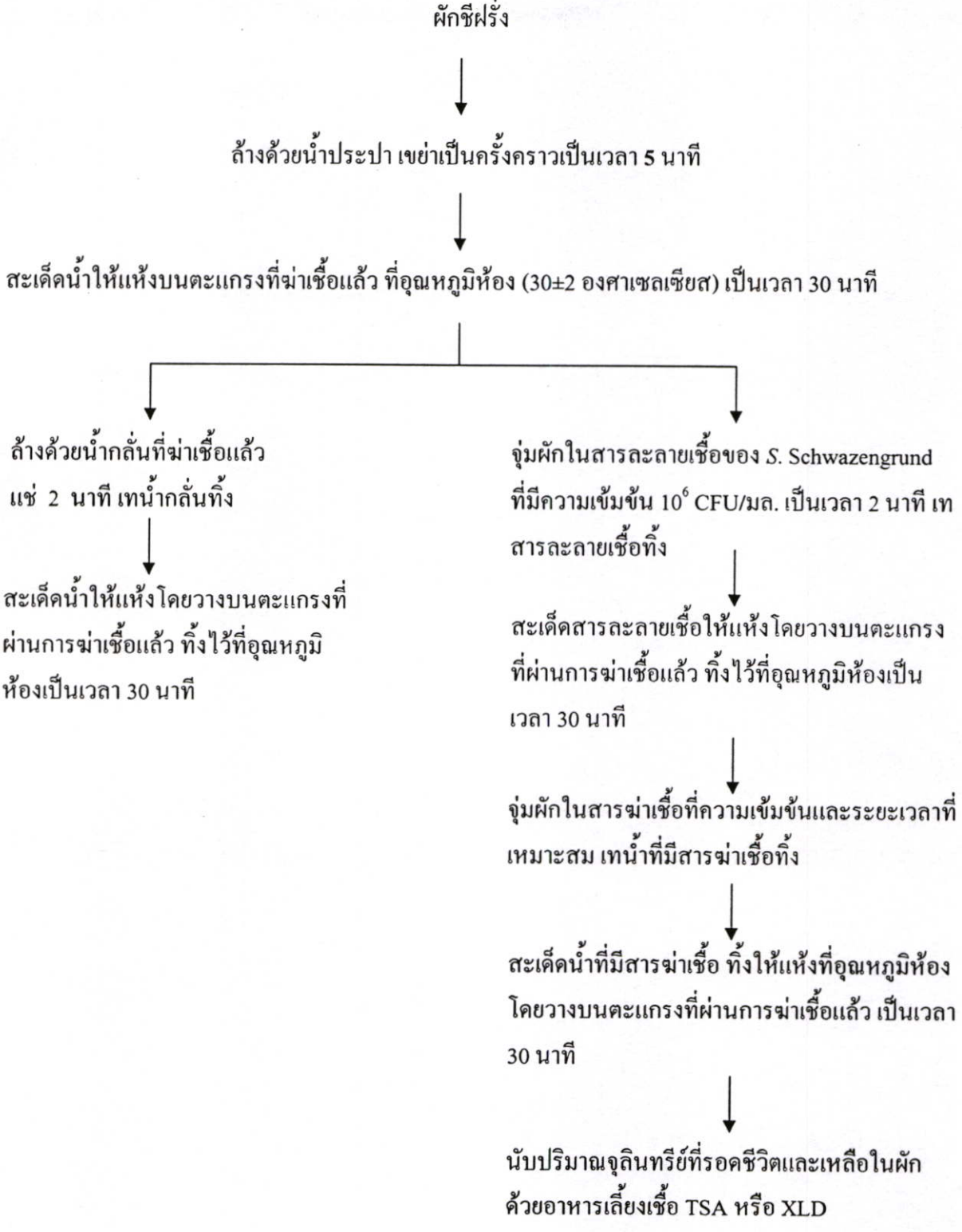
จากนั้นทำการตรวจสอบการเจริญของเชื้อด้วยวิธี Pour Plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA สุ่มตรวจยืนยันโคโลนีที่ขึ้นอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงจำเพาะ XLD agar โดยวิธี Spot assay บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S.* Schwarzengrund สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา สำหรับหลอดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อได้ทำการทดสอบเพื่อยืนยันผลโดยการดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เลือกความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดจำนวนเชื้อ

การศึกษาการทดลองเพื่อหาความเข้มข้น และระยะเวลา ที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ระยะเวลา และความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในหลอดทดลอง วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) จัดการทดลองแบบแฟคทอเรียลโดยมีปัจจัยคือความเข้มข้น และระยะเวลา โดยจำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund เป็นตัวแปรตอบในการศึกษา และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS

3.6.3 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อบางชนิดต่อเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในผักชีฝรั่งสด

3.6.3.1 การเตรียมตัวอย่างผักชีฝรั่งให้มีการปนเปื้อน *S.* Schwarzengrund ในผักชีฝรั่ง ดัดแปลงจาก วชิราภรณ์ เทียมพันธุ์(2545)

ผักชีฝรั่ง ซื้อจากตลาดสด คัดเลือกผักชีฝรั่งโดยใช้ทั้งใบที่มีความอ่อนแก่เท่ากัน ขนาดของใบและลำต้นใกล้เคียงกัน ดึงใบที่เน่าเสียออก ตัดส่วนปลายรากให้เหลือประมาณ 1 ซม.จากโคนต้น ล้างด้วยน้ำประปาเป็นเวลา 5 นาที สะเด็ดน้ำให้แห้งบนตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเป็นเวลา 30 นาที ในตู้ lamina air flow นำผักชีฝรั่งสดบรรจุใส่ถุงโพลีเอทิลีน ขนาด 9x14 นิ้ว จากนั้นถ่ายสารละลายเชื้อ *S.* Schwarzengrund ที่เตรียมจากข้อ 3.6.2.1 เพื่อสร้างการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่งสดเลียนแบบการปนเปื้อนตามธรรมชาติ (artificial contamination) ให้มีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อ 10^6CFU/g ในอัตรส่วนผักต่อสารละลายเชื้อ 1:10 เขย่าถุงเบาๆ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำผักไปสะเด็ดสารละลายเชื้อให้แห้งโดยวางบนตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วิธีการล้าง การทำแห้ง และการเติมจุลินทรีย์ ดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 การเตรียมตัวอย่างและการสร้างการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักชีฝรั่งเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ

3.6.3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่ง

เตรียมกลุ่มตัวอย่างผักชีฝรั่งที่ผ่านการแช่ในสารละลายกล้าเชื้อ *S.* Schwarzengrund ตามข้อ 3.6.3.1 ให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้นบนผักชีฝรั่งที่ 10^6CFU/g จากนั้นเตรียมการล้างระหว่างผักชีฝรั่งต่อน้ำล้างที่ผสมสารฆ่าเชื้อในความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.2.2 โดยแบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 ผักที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยไม่เติมสารใดๆ เป็นกลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ 2 ผักที่ล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm เวลา 15 นาที

ใช้อัตราส่วนระหว่างผักชีฝรั่งต่อน้ำ 1 : 20 (กรัม/มล.) เขย่าถุงผักชีฝรั่งนาน 2 นาที และแช่ผักชีฝรั่งไว้ในระยะเวลาที่เหมาะสมตามข้อ 3.6.2.2 จากนั้นเทน้ำทิ้งและเติมน้ำกลั่นเพื่อล้างออกด้วยอัตราส่วนเดียวกันเป็นเวลา 2 นาที นำผักไปสะเด็ดน้ำบนตะแกรงฆ่าเชื้อในตู้ในตู้ lamina air flow ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ทำการตรวจนับเชื้อด้วยเทคนิคการตีป่นใช้ผักชีฝรั่ง 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติมสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 225 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที ที่อัตราเร็วในระดับปานกลาง ปิเปตสารละลายผักที่ผ่านการตีป่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองซึ่งมีสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ ตรวจสอบจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ด้วยวิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA สุ่มตรวจยืนยันโคโลนีที่ขึ้นอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงจำเพาะ XLD agar โดยวิธี Spot assay บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S.* Stanley สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา สำหรับหลอดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อได้ทำการทดสอบเพื่อยืนยันผลโดยการดูดตัวอย่างมา 1 ml ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 10 ml บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เลือกความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดจำนวนเชื้อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลา และความเข้มข้นที่เหมาะสม ต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในผักชีฝรั่ง วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) ในการล้างทดลอง 3 ซ้ำ โดยจำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund เป็นตัวแปรตอบในการศึกษา และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new muitiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS

3.6.3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของของสารละลาย KILLBACT-SU® เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมต่ออการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่ง

เตรียมกลุ่มตัวอย่างผักชีฝรั่งที่ผ่านการแช่ในสารละลายกล้าเชื้อ *S.* Schwarzengrund ตามข้อ 3.6.3.1 ให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้นบนผักชีฝรั่งที่ 10^6CFU/g จากนั้นเตรียมการล้างระหว่างผักชีฝรั่งต่อน้ำล้างที่ผสมสารฆ่าเชื้อในความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.2.2 โดยแบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 ผักที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยไม่เติมสารใดๆ เป็นกลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ 2 ผักที่ล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เวลา 5 นาที

ใช้อัตราส่วนระหว่างผักชีฝรั่งต่อน้ำ 1 : 20 (กรัม/มล.) เขย่าถุงผักชีฝรั่ง นาน 2 นาที และแช่ผักชีฝรั่งไว้ในระยะเวลาที่เหมาะสมตามข้อ 3.6.2.2 จากนั้นเทน้ำทิ้งและเติมน้ำกลั่นเพื่อล้างออกด้วยอัตราส่วนเดียวกันเป็นเวลา 2 นาที นำผักไปสะเด็ดน้ำบนตะแกรงฆ่าเชื้อในตู้ ในตู้ lamina air flow ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ทำการตรวจนับเชื้อด้วยเทคนิคการตีป่น ใช้ผักชีฝรั่ง 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติมสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 225 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที ที่อัตราเร็วในระดับปานกลาง ปิเปตสารละลายผักที่ผ่านการตีป่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองซึ่งมีสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ โดยทำการตรวจสอบจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ด้วยวิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA สุ่มตรวจยืนยันโคโลนีที่ขึ้นอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงจำเพาะ XLD agar โดยวิธี Spot assay บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S.* Schwarzengrund สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อยืนยันผล นอกจากนี้สารละลายฆ่าเชื้อที่ผ่านการล้างมะเขือเทศในทุกความเข้มข้น และทุกช่วงระยะเวลา รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างควบคุม ได้ทำการตรวจสอบการฟื้นตัวกลับของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างโดยทำการทดสอบด้วยการสุ่มน้ำล้างในช่วงเวลาต่างๆ ไปเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB และบ่มเป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

การศึกษาประสิทธิภาพของสารละลาย KILLBACT-SU® เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระยะเวลา และความเข้มข้นที่เหมาะสม ต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่ง วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) ในการล้างทดลอง 3 ซ้ำ โดยจำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund เป็นตัวแปรตอบในการศึกษา และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS

3.6.4 การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

3.6.4.1 การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund

การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund จากผักชีฝรั่งโดยใช้เทคนิคตีป่น ดัดแปลงมาจาก มนทกานติ์ บุญยการ (2543) คือ นำตัวอย่างผักใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (Stomacher bag) 25 กรัม เติมสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 225 มล. เติมสารละลายเปปโตน 0.1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที ที่อัตราเร็วในระดับปานกลาง ปิเปตสารละลายผักที่ผ่านการตีป่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ดำเนินการด้วยเทคนิค pour plate ตั้งจานเพาะเชื้อทิ้งไว้ให้เย็น จึงกลับจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อ ที่อยู่ระหว่าง 25 - 250 โคโลนี ดำเนินการสุ่มตรวจยืนยันโคโลนีที่ขึ้นอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงจำเพาะ XLD agar ด้วยวิธี Spot assay โดยทำการนำไม้จิ้มฟันที่ผ่านการฆ่าเชื้อเขี่ยโคโลนีที่สงสัยลงบน XLD จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S.* Schwarzengrund สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา

3.6.5 การศึกษาผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการยอมรับของผักชีฝรั่งที่จำหน่ายปลีก

แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มการทดลอง ได้แก่

กลุ่มที่ 1 ผักที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยไม่เติมสารใดๆ เป็นกลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ 2 ผักที่ล้าง/จุ่ม ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm เวลา 15 นาที

กลุ่มที่ 3 ผักที่ล้าง/จุ่ม ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เวลา 5 นาที

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่สัมผัสสารใดๆ เป็นกลุ่มควบคุม ส่วนกลุ่มที่2-4 นำมาสัมผัสสารตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสม (โดยเลือกใช้สารที่มีประสิทธิภาพดีจากข้อ 3.6.2.2) นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นสังเกตุดูการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ นำมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทางด้าน สี กลิ่น และการยอมรับของผักชีฝรั่ง ด้วยแบบทดสอบ Hedonic scale 1-9 จาก คะแนน 1 (ไม่ชอบมากที่สุด) ถึง 9 (ชอบมากที่สุด) โดยผู้ทดสอบโดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน ในวันที่ 1 3 และ5 วัน (ดัดแปลงมาจากดวงกมล สระน้ำ, 2549)

ในการศึกษาผลทางด้านประสาทสัมผัสของตัวอย่างผักชีฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมวางแผนการทดลองแบบบล็อคสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการตรวจสอบ *Salmonella* spp. ในธรรมชาติของผักสด

จากการตรวจปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่เดิมตามธรรมชาติบนผักสดที่สุ่มจากตลาดสด 3 แห่งที่ประกอบด้วย ตลาดไท ตลาดสี่มุมเมือง และตลาดสะพานใหม่ รวม 25 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ตรวจพบเชื้อซาลโมเนลลา 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 8) โดยที่ผักชีฝรั่งตรวจพบ 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4 ของตัวอย่างทั้งหมด) และสะระแหน่ตรวจพบ 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4 ของตัวอย่างทั้งหมด) ซึ่งการตรวจพบดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ อดิศรและปรีชา(2538)ที่ได้ทำการสำรวจการปนเปื้อนของซัลโมเนลลาในผักสด ระหว่างเดือนมกราคม 2537 - มีนาคม 2537 โดยการสุ่มตัวอย่างจากผัก 6 ชนิด จากตลาดและห้างสรรพสินค้าประกอบไปด้วย ผักกาดหอม สะระแหน่ ใบแมงลัก ต้นหอม ผักชีและกะหล่ำปลี รวมทั้งสิ้น 80 ตัวอย่าง พบซัลโมเนลลาปนเปื้อนในผักสด 4 ชนิด ได้แก่ ใบสะระแหน่ ผักกาดหอม กะหล่ำปลี และใบแมงลัก พบว่าในใบสะระแหน่ตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อ ซัลโมเนลลา สูงกว่าผักชนิดอื่น เนื่องจากสรีระทางพฤกษศาสตร์ของสะระแหน่ เป็นพืชพุ่มเตี้ย ใบแบนราบไปกับผิวดินหรือเหนือดิน และเช่นเดียวกับใบผักชีฝรั่งที่มีโครงสร้างของสรีระทางพฤกษศาสตร์ที่ใกล้เคียงกัน คือ มีลักษณะของต้นขึ้นเป็นกระจุก โคนต้นฝังอยู่ในดิน ขอบใบหยักและเป็นติ่งหนามผิวขรุขระเล็กน้อย จึงเป็นโอกาสอันดีที่ให้เชื้อซัลโมเนลลาจากดิน ปุ๋ย หรือน้ำที่ใช้ในการเกษตรกรรมปนเปื้อนสะสมอยู่ตามใบของสะระแหน่ รวมถึงผักชีฝรั่งในขณะรดน้ำ (National Research Council, 1985; Silliker และคณะ.,1980)

ตารางที่ 4.1 การตรวจพบซัลโมเนลลาในผักชนิดต่างๆ

ชนิดผัก	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนที่พบ (%)
ผักชีฝรั่ง	5	1 (4.0)
ผักกาดหอม	3	Not detected
ผักกาดขาว	2	Not detected
กระหล่ำปลี	3	Not detected
คื่นช่าย	3	Not detected
ใบโหระพา	3	Not detected
ใบสระระแหน่	3	1 (4.0)
ผักชี	3	Not detected
Total (%)	25	2 (8.0)

เมื่อตรวจยืนยันผลและหาสายพันธุ์ของซัลโมเนลลาที่ตรวจพบ (ตารางที่4.2) พบว่าเซโรวาร์ของซัลโมเนลลาที่พบจากผักชีฝรั่งและสะระแหน่ ได้แก่ *S.* Schawazengrund และ *S.* VI 45:a:e,n,z_{15} (O:45) ตามลำดับ โดยซัลโมเนลลาที่แยกได้จากผักชีฝรั่งอยู่ใน Group B และในใบสะระแหน่ อยู่ใน Group (O:45) ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าว ยิ่งทำให้เชื่อมั่นว่า ผักชีฝรั่งและสะระแหน่มีโอกาสตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลาสูงกว่าตัวอย่างผักชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับ Babic และ Watada (1996) พบว่าผักชีฝรั่งมีโอกาสที่จะปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สูง เนื่องจากต้นเจริญอยู่ในระดับพื้นดิน ลักษณะใบผักชีฝรั่งเป็นใบซ้อนและมีขนาดใหญ่ซึ่งเหมาะต่อการยึดติดและเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และมีรายงานการตรวจพบซัลโมเนลลาจากการสำรวจผักชีฝรั่ง 23 ตัวอย่าง ในประเทศสเปน พบ ซัลโมเนลลาปนเปื้อน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 4.3) (Garcia-Villanova Ruiz และคณะ, 1987; Campbell และคณะ , 2001) พบว่า การระบาดของโรคทางเดินอาหารเป็นผลมาจากการบริโภคผักสมุนไพรสดที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการปรุงอาหาร เช่น ผักชีฝรั่ง พาสเลย์ ซึ่งมีการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลลา และจากการรวบรวมข้อมูลขององค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (FDA) ในปี 1999 และ 2000 พบว่าผักชีฝรั่งเป็น 1 ใน 3 รายการของผักนำเข้าที่มีความเสี่ยงสูงที่จะพบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดก่อโรค เช่น *Salmonella* spp., *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes* (FDA, 2001)

ตารางที่ 4.2 เซโรวาร์ของซัลโมเนลลาที่พบในผัก

ชนิดผัก	Serovar of salmonellae (Group)
ผักชีฝรั่ง	*S.* Schwazengrund (B)
ใบสะระแหน่	*S.* VI 45:a:e,n,z_{15} (O:45)

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงเลือกใช้ *S.* Schwazengrund เพื่อศึกษาความเข้มข้นของการใช้สารละลาย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลาย KILLBACT-SU® ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

4.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และ สารละลายคิลแบค-เอสยูต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในระดับหลอดทดลอง

4.2.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียมไฮโปคลอไรท์ต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในระดับหลอดทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 10 ppm 30 ppm 50 ppm และ 100 ppm เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น ผลการยับยั้งแสดงดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.1 พบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในระดับหลอดทดลอง จะลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 10 ppm ระยะเวลาสัมผัส 1- 15 นาที ปริมาณเชื้อลดลง 3.72 – 4.01 log cfu/ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อในกลุ่มตัวอย่างควบคุม(0.1% Peptone water)ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ที่ความเข้มข้น 30 ppm ปริมาณเชื้อลดลง 0.35-0.57 log cfu/ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อในกลุ่มควบคุม ($P\leq0.05$) จำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ณ เวลาสัมผัสสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 30 ppm ที่ 1 5 10 และ 15 นาที จะมีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 6.85 6.84 6.76 และ 6.63 log cfu/ml ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 50 ppm จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 0.36 – 0.6 log cfu/ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อในกลุ่มควบคุม ($P\leq0.05$) จำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ณ เวลาสัมผัสสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ระยะเวลาสัมผัส 1 5 10 และ 15 นาที จะมีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 6.84 6.77 6.63 และ 6.60 log cfu/ml ที่ความเข้มข้น 100 ppm ที่ 1 5 และ 10 นาที จะมีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 6.5 6.45 และ 6.34 log cfu/ml ตามลำดับ และที่เวลา 15 นาที สามารถลดจำนวนจาก 7.20 log cfu/ml เหลือ 6.23 log cfu/ml (หรือลดลงได้ 0.97 log cfu/ml) เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อในกลุ่มควบคุม ($P\leq0.05$) ทั้งนี้สังเกตุได้ว่าปริมาณของเชื้อ *S.*Schwarzengrund มีค่าลดลงตามระดับความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่เพิ่มขึ้น ดังภาพที่ 4.1 ทำการยืนยันผลการทดสอบด้วยการบ่มตัวอย่างที่ไม่ตรวจพบเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความขุ่นเกิดขึ้นที่เวลาสัมผัสสารที่ระดับความเข้มข้น 100

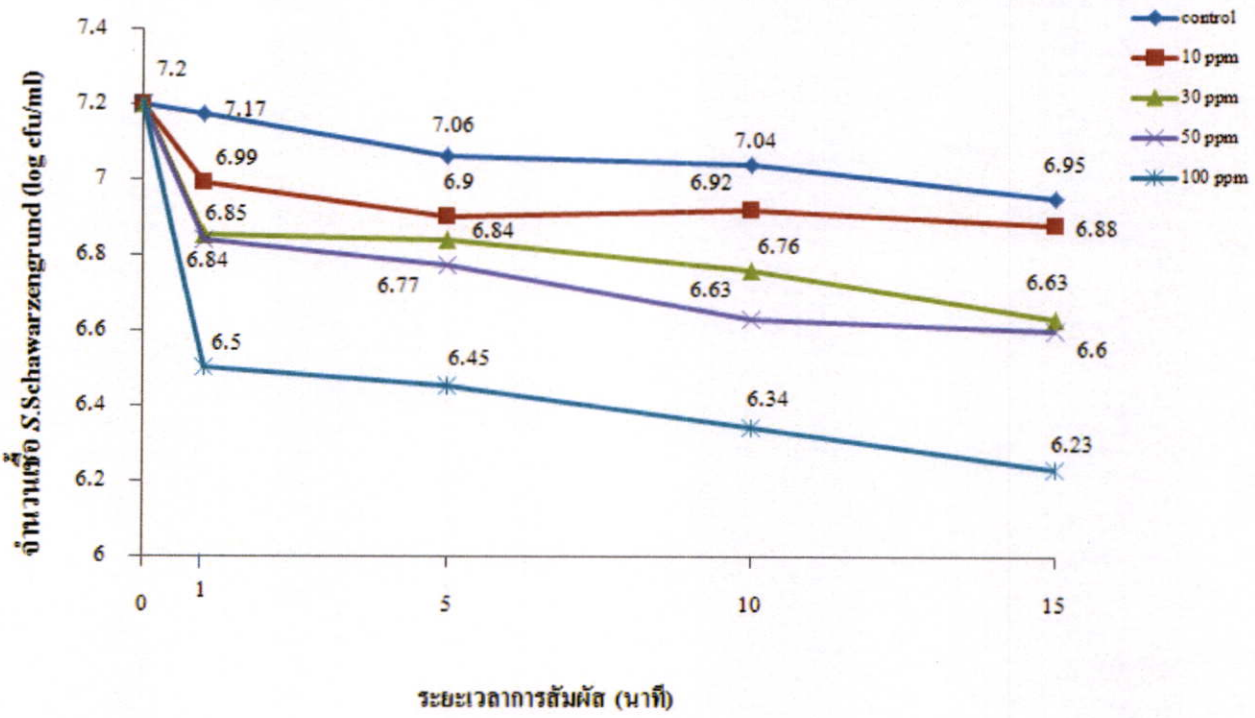
ppm 15 นาที ตามตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ระยะเวลา 1 นาที พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับระยะเวลา 5 10 และ 15 นาที ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน และที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เวลา 15 นาที พบว่าปริมาณเชื้อที่เหลือรอดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จากผลการศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในระดับหลอดทดลองจึงได้ทำการเลือกความข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm เวลา 15 นาที เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่งต่อไป ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Beuchat และคณะ (1998) รายงานว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 200 และ 2000 ppm พบว่าที่เวลา 0 1 3 5 หรือ 10 นาที ในการล้างและแช่ผักผลไม้ที่ปนเปื้อน *Salmonella* spp. สามารถลดจำนวน *Salmonella* spp. ได้ดี ในผักกาดหอมพบว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 200 ppm สามารถลดจำนวน *Salmonella* spp. ได้ประมาณ 1 log10CFU/cm^2 ที่เวลา 1 นาที แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์เป็น 10 เท่า คือ 2,000 ppm พบว่ามีประสิทธิภาพในการทำลายแบคทีเรียดีกว่าที่ 200 ppm แต่อย่างไรก็ดีประสิทธิภาพของคลอรีนที่ความเข้มข้นนี้จะทำลายแบคทีเรียได้ดีที่เวลาเพียง 1 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาในการแช่ผักนานขึ้น ขณะที่ Golden และคณะ (1987) รายงานว่าสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีคลอรีนอิสระความเข้มข้น 100 ppm มีผลในการลดจุลินทรีย์ลงเพียงเล็กน้อยในพริกหยวก (Bell peppers) มะเขือเทศ พืช และแคนตาลูป Wei และคณะ (1995) รายงานว่าการล้างผักโดยใช้น้ำประปาที่มีสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm พบว่าไม่สามารถลดปริมาณเซลล์ *S.* Montevideo ปริมาณเริ่มต้นประมาณ 3 log CFU/cm^2 ได้หมดในเวลา 2 นาที จะเห็นได้ว่าในผักต่างชนิดกัน อาจต้องใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้นอย่างน้อยสูงกว่า 100 ppm จึงจะสามารถทำลายเซลล์แบคทีเรียในกลุ่ม Enterbacteriaceae ได้ El-Kest และ Math (1988) พบว่า สารประกอบคลอรีน เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์จะมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของคลอรีนอิสระเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มปริมาณคลอรีนอิสระจาก 1 ppm เป็น 100 ppm สามารถลดปริมาณ *Shigella sonnei* ในผักชีฝรั่งได้ 4.34 log10 CFU/cm^2 (Wu และคณะ, 2000)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อ *S.*Schwarzengrund (log cfu/ml) เหลือรอดในหลอด 0.1% Peptone water (Control) และหลอด 0.1 % Peptone water ที่ผสมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 10 ppm 30 ppm 50 ppm และ 100 ppm (เชื้อเริ่มต้นก่อนการทดลองอยู่ในช่วง 7.20 log cfu/ml)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund (log cfu/ml) ในหลอดทดลอง			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	7.17 ^{a}±0.38	7.06 ^{ab}±0.48	7.04 ^{ab}±0.32	6.95 ^{ab}±0.14
10 ppm	6.99 ^{abc}±0.14	6.90 ^{ab}±0.32	6.92 ^{ab}±0.38	6.88 ^{abc}±0.48
30 ppm	6.85 ^{abc}±0.14	6.84 ^{abc}±0.11	6.76 ^{bcd}±0.80	6.63 ^{cde}±0.80
50 ppm	6.84 ^{abc}±0.16	6.77 ^{bcd}±0.10	6.63 ^{cde}±0.15	6.60 ^{cde}±0.00
100 ppm	6.50 ^{cdef}±0.01	6.45 ^{def}±0.66	6.34 ^{ef}±0.95	6.23 ^{f}±0.76*

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$ ทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบโดย Duncan's new multiple range test(DMRT)

* ข้อมูลที่เป็น 0.00±0.00 ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของ *S* Schwarzengrund ใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ



ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงเชื้อ *S.* Schwarzengrund (log CFU/ml) ในหลอด 0.1% Peptone water ที่ผสมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 10 ppm 30 ppm 50 ppm และ 100 ppm

4.2.2 ผลของความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในระดับหลอดทดลอง

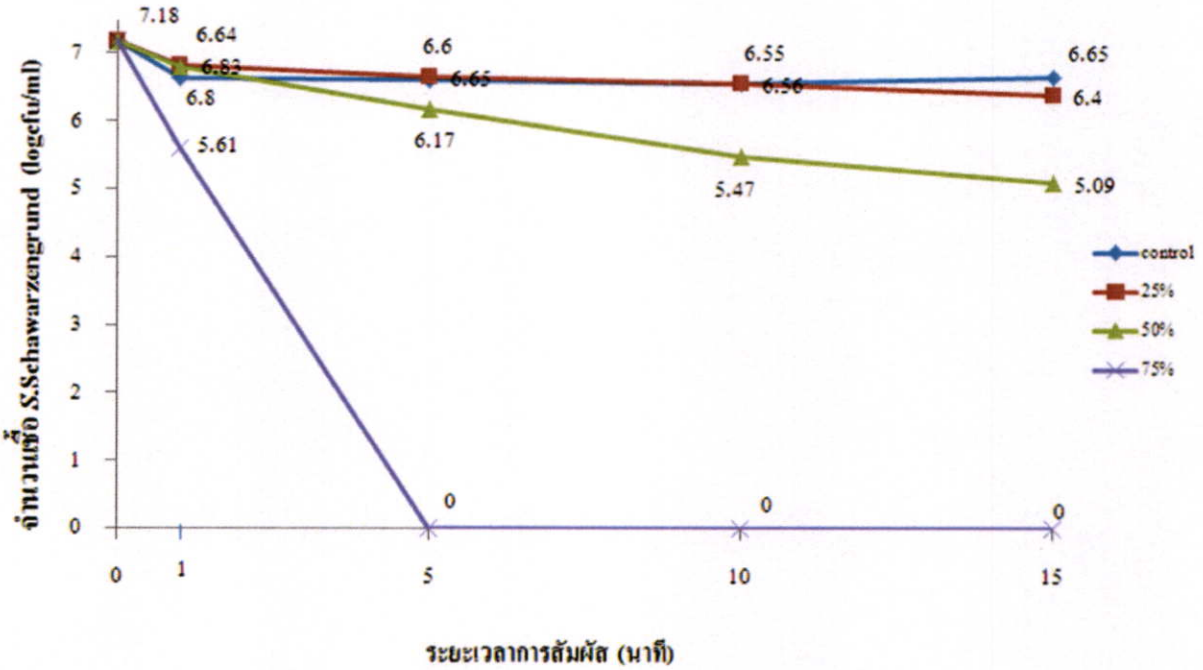
จากการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ใน 0.1% Peptone water ที่ปรับความเข้มข้นด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® 3 ระดับ คือ ความเข้มข้น 25% 50%และ 75% ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.2 จะพบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Schwarzengrund จะลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® เพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 25% ระยะเวลาสัมผัส 1-15 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง จะมีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 6.83 6.65 6.56 และ 6.40 log cfu/ml ตามลำดับ ปริมาณเชื้อลดลง 0.78 log cfu/ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อในกลุ่มตัวอย่างควบคุม ($P \leq 0.05$) สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1- 15 นาที สามารถลดเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 5 นาที จะมีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 6.80 6.17 5.47 และ 5.09 log cfu/ml ตามลำดับ สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 75% สามารถลดเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 5 นาที โดยลดจำนวนจาก 7.18 log cfu/g เหลือ 0 (หรือลดลงได้ 7.18 log cfu/g) ปริมาณของเชื้อ *S.* Schwarzengrund จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพสารละลาย KILLBACT-SU®ในหลอดทดลองพบว่าความเข้มข้นที่มากขึ้นจะยิ่งมีผลต่อการลดปริมาณของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในหลอดทดลอง เวลาในการสัมผัสสารที่นานขึ้นจะช่วยให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อเพิ่มมากขึ้น ทำการยืนยันผลการทดสอบด้วยการบ่มตัวอย่างที่ตรวจไม่พบเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง พบว่ากลุ่มตัวอย่างควบคุมและสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 25% มีความขุ่นเกิดขึ้นในหลอด TSB ที่ทุกช่วงเวลาบ สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% ที่เวลา 1 นาที มีความขุ่นเกิดขึ้นในหลอด TSB แต่สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% ที่เวลา 5-15 นาที และที่ความเข้มข้น 75% เวลา 1-15 นาที ไม่มีความขุ่นเกิดขึ้นในหลอด TSB โดยที่ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อในกลุ่มตัวอย่างควบคุมและสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 25% ที่ระยะเวลาต่างกัน 1 5 10 และ 15 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน และเมื่อเทียบกับระยะเวลา 1 5 10 และ 15 นาที ในระดับความเข้มข้น50% และ 75% พบว่าปริมาณเชื้อที่เหลือรอดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และจากผลการศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในระดับหลอดทดลอง จึงได้ทำการเลือกความข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมโดยสารละลาย KILLBACT-SU® จะใช้ความเข้มข้นที่ 75% ที่ระยะเวลา 5 นาที เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่งต่อไป

ตารางที่ 4.4 ปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund (log cfu/ml) ที่เหลือรอดในหลอด 0.1% Peptone water (Control) และหลอด 0.1 % Peptone water ที่ผสมสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 25% 50% และ75% (เชื้อเริ่มต้นก่อนการทดลองอยู่ในช่วง 7.18 log cfu/ml)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund (log cfu/ml) ในหลอดทดลอง			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	6.64 ^{ab}±0.00	6.6 ^{ab}±0.00	6.55 ^{ab}±0.00	6.65 ^{ab}±0.00
25%	6.83 ^{a}±0.78	6.65 ^{ab}±0.02	6.56 ^{ab}±0.16	6.40 ^{bc}±0.02
50%	6.80 ^{a}±0.12	6.17 ^{c}±0.35*	5.47 ^{d}±0.42*	5.09 ^{c}±0.32*
75%	5.61 ^{d}±0.33*	0.00 ^{f}±0.00*	0.00 ^{f}±0.00*	0.00 ^{f}±0.00*

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Duncan's new multiple range test (DMRT)

* ข้อมูลที่เป็น 0.00±0.00 ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของ *S.* Schwarzengrund ใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ



ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงเชื้อ *S.* Schwarzengrund (log CFU/ml) ในหลอด 0.1% Peptone water ที่ผสมสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 25% 50% และ75% ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

สารละลาย KILLBACT-SU®เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Coliforms และ Lactic acid bacteria ประกอบด้วยสารประกอบหลัก เช่น เอทานอล 44.7 – 49.4% (w/w) และ กรดแลคติก 0.4 %(w/w) ผลการยับยั้ง *S.* Schwarzengrund ของสารละลาย KILLBACT-SU® สอดคล้องกับผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ โดยตรวจสอบไม่พบเชื้อ *Staphylococcus aureus* เมื่อใช้ สารละลาย KILLBACT-SU® 55% ที่ระยะเวลาฆ่าเชื้อนาน 10 นาที ไม่พบเชื้อ *S.* Choleraesuis เมื่อใช้ สารละลาย KILLBACT-SU® 37% ที่ระยะเวลาฆ่าเชื้อนาน 10 นาที นอกจากนี้การใช้ความเข้มข้นตั้งแต่ 10% - 80% นาน 1 นาที สามารถทำให้ปราศจากเชื้อ *Salmonella* spp.ได้ (UENO FINE CHEMICALS INDUSTRY LTD, 2551) ผลการตรวจสอบในเชื้ออื่นๆ เช่น ไม่พบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ที่มีเชื้อตั้งต้น 7.3 x 10^6 cfu/ml โดยใช้ความเข้มข้น 20% ฆ่าเชื้อนาน 1 และ 3 นาที ไม่พบเชื้อ *Vibrio cholera* ที่มีเชื้อตั้งต้น 1 x 10^7 cfu/ml โดยใช้ความเข้มข้น 50% ฆ่าเชื้อนาน 1 และ 3 นาที ไม่พบเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่เชื้อตั้งต้น 5 x 10^8 cfu/ml โดยใช้ความเข้มข้น 50% ฆ่าเชื้อนาน 3 นาที และ ความเข้มข้น 100% ฆ่าเชื้อนาน 1 นาที (UENO FINE CHEMICALS INDUSTRY LTD, 2550)

4.3 ผลของสารละลายฆ่าเชื้อที่มีต่อ *S.* Schwarzengrund และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักชีฝรั่งสด

4.3.1 ผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักชีฝรั่งสด

เมื่อนำผักชีฝรั่งที่มีปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund เริ่มต้น 7.20 log CFU/g และ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 7.36 log cfu/g มาล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm เปรียบเทียบกับผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ พบว่าการล้างผักชีฝรั่งด้วยน้ำประปาที่เติมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 1-15 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ลงได้ 3.37-3.74 log cfu/g และที่เวลา 15 นาที *S.* Schwarzengrund ลดจำนวนจาก 7.20 log cfu/g เหลือ 3.46 log cfu/g (หรือลดลงได้ 3.74 log cfu/g)ไม่สามารถลดลงได้หมดที่เวลา 15 นาที เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น (P>0.05) จากการทดลองพบว่าเมื่อระยะเวลาในการสัมผัสสารหรือแช่ผักเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อนี้ก็เพิ่มขึ้นด้วย ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P >0.05) เมื่อเทียบกับเชื้อตั้งต้น และกลุ่มตัวอย่างควบคุม ผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ ลดจำนวน *S.* Schwarzengrund ลงได้ 0.04-0.65 log cfu/g (ตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.3) และไม่สามารถลดลงได้หมดที่เวลา 15 นาที ปริมาณของเชื้อ *S.* Schwarzengrund จะลดลงเมื่อผักชีฝรั่งมีเวลาในการ

สัมผัสสารฆ่าเชื้อเพิ่มมากขึ้น ส่วนการล้างผักชีฝรั่งด้วยน้ำประปาที่เติมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 1-15 นาที สามารถลดจำนวจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้ 3.22- 4.36 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น (ตารางที่ 4.8) ลดจำนวนจาก 7.36 log cfu/g เหลือ 3 log cfu/g (หรือลดลงได้ 4.36 log cfu/g) และผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ ไม่สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้หมด จุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงจาก 7.36 เหลือ 5.13 log cfu/g (ลดลงได้2.23 log cfu/g) ซึ่งแต่ละเวลาที่สัมผัสสารสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm จะมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเชื้อตั้งต้น และกลุ่มตัวอย่างควบคุม แต่พบว่าปริมาณการเหลือรอดของเชื้อของเชื้อ *S.* Schwarzengrund และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในกลุ่มตัวอย่างควบคุมจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P>0.05$)

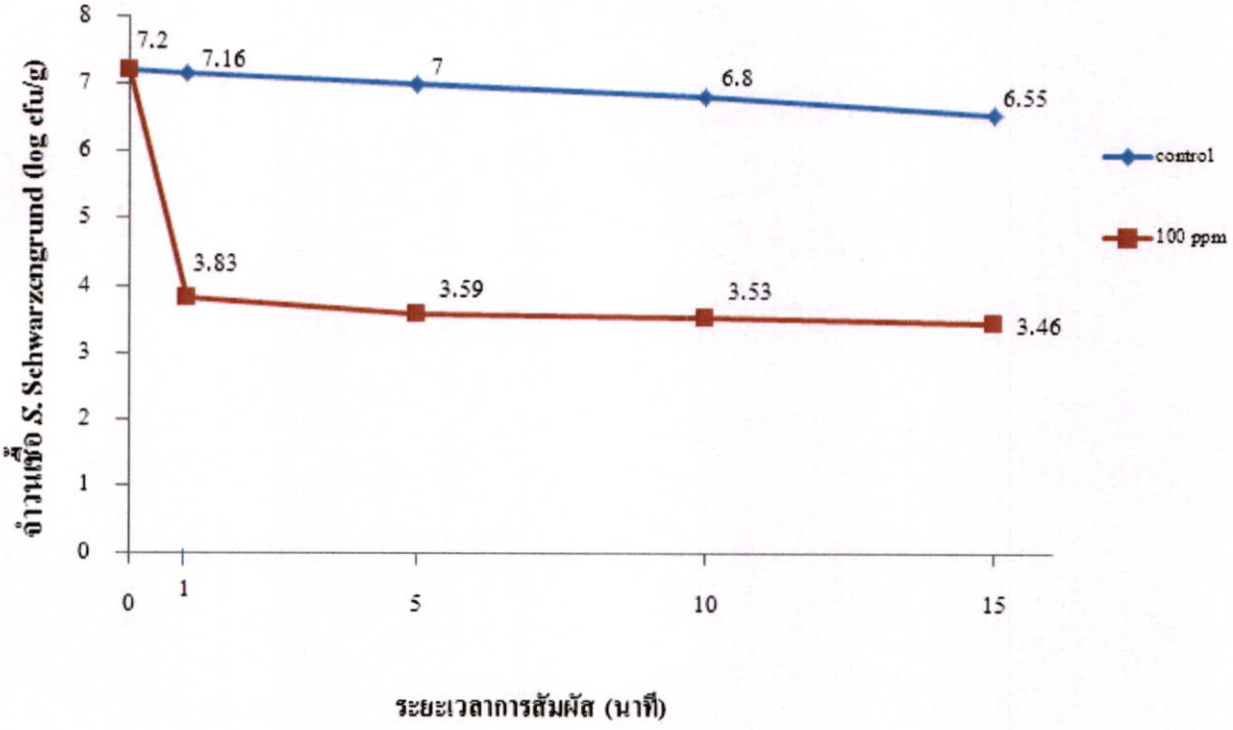
ตารางที่ 4.5 จำนวน *S.* Schwarzengrund ที่รอดชีวิตบนผักชีฝรั่งซึ่งล้างและแช่ในน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 7.20 log cfu/g)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwarzengrund (log cfu/g)**			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	$7.16^{a} \pm 0.28$	$7.00^{ab} \pm 0.07$	$6.80^{bc} \pm 0.28$	$6.55^{c} \pm 0.28$
NaOCl (100 ppm)	$3.83^{d} \pm 0.35$	$3.59^{de} \pm 0.01$	$3.53^{e} \pm 0.05$	$3.46^{e} \pm 0.11$*

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Duncan's new multiple range test (DMRT)

* ข้อมูลที่เป็น 0.00 ± 0.00 ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของ *S.* Schwarzengrund ใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

** จำนวน *S.* Schwarzengrund ตรวจสอบด้วยอาหาร XLD



ภาพที่ 4.3 ปริมาณการเหลือรอดของ *S.* Schwarzengrund (log CFU/g) บนผักชีฝรั่ง โดยผ่านการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppmเทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

นอกจากนี้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ผ่านการล้างผักชีฝรั่ง ในทุกความเข้มข้นและทุกช่วงระยะเวลา รวมทั้งน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ (กลุ่มตัวอย่างควบคุม) ได้ทำการตรวจสอบการฟื้นตัวของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในน้ำล้างผักโดยทำการทดสอบด้วยการบ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.5) พบว่าในน้ำล้างที่มีสารละลายสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่เวลา 1-10 นาที มีความขุ่นเกิดขึ้นในหลอด TSB แต่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่เวลา 15 นาที ไม่มีความขุ่นเกิดขึ้นและจะพบความขุ่นที่เกิดขึ้นในหลอด TSB ของกลุ่มตัวอย่างควบคุมที่ทุกช่วงเวลาซึ่งแสดงให้เห็นว่าในน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆเชื้อสามารถกลับมาเจริญได้ใหม่อีกครั้ง แสดงว่าสารที่ใช้ในการศึกษาสามารถฆ่าเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm จะสามารถทำลายเชื้อดังกล่าวได้ที่เวลา 15 นาที อย่างไรก็ตามไม่สามารถลดเชื้อ *S.* Schwarzengrund ลงได้หมด ขณะที่การล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ (กลุ่มตัวอย่างควบคุม) ไม่สามารถลดการปนเปื้อนของ *S.* Schwarzengrund ได้ Adams และคณะ (1989) พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณคลอรีนอิสระในน้ำที่ใช้ล้างผักกาดแก้วจาก 0.2 ppm เป็น 100 ppm สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดให้เหลือเพียง 2-3.7% เมื่อเทียบกับผักกาดแก้วที่ไม่ผสมคลอรีน

จากผลการศึกษาสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Jaquette และคณะ (1996) ซึ่งรายงานว่าเมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 และ 290 ppm แช่เมล็ด alfalfa เป็นเวลา 5 หรือ 10 นาที สามารถฆ่า *S.* Stanley (10^2-10^3 CFU/g) ได้ดี Liao และ Sapers (2000) ได้ทดลองใช้โซเดียมฮโปคลอไรท์ 176% หรือ 1,760,000 ppm เพื่อลดจำนวน *S.* Chester ที่สร้างการปนเปื้อน 8.17 $\log_{10}$ CFU/ml บนแอปเปิ้ลแผ่น (เส้นผ่านศูนย์กลาง 14 มิลลิเมตร และหนา 3-4 มิลลิเมตร) สามารถลดจำนวน ได้ 1-2 logs วชิราภรณ์ เทียมทันธ์ (2545) พบว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ปรับความเป็นกรด-เบส 4 ด้วยกรดแอซีติกที่ความเข้มข้น 100 ppm ล้างและแช่ผักเป็นเวลา 30 นาที กลับสามารถทำลาย *S.* Typhimurium (ปริมาณเริ่มต้น 4.25 $\log_{10}$ CFU/mL) ได้เพียง 1.05 $\log_{10}$ CFU/mL แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 200 ppm พบว่าที่เวลา 15 นาที สามารถทำลาย *S.* Typhimurium ได้เพิ่มขึ้นเป็น 2.71 $\log_{10}$ CFU/mL และเมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 400 ppm เป็นเวลาเพียง 15 นาที สามารถทำลายแบคทีเรียชนิดนี้ได้หมด (เป็น 3.54 $\log_{10}$ CFU/mL) เมื่อความเข้มข้นหรือระยะเวลาในการสัมผัสสารหรือแช่ผักเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อชนิดนี้ก็เพิ่มขึ้นด้วย

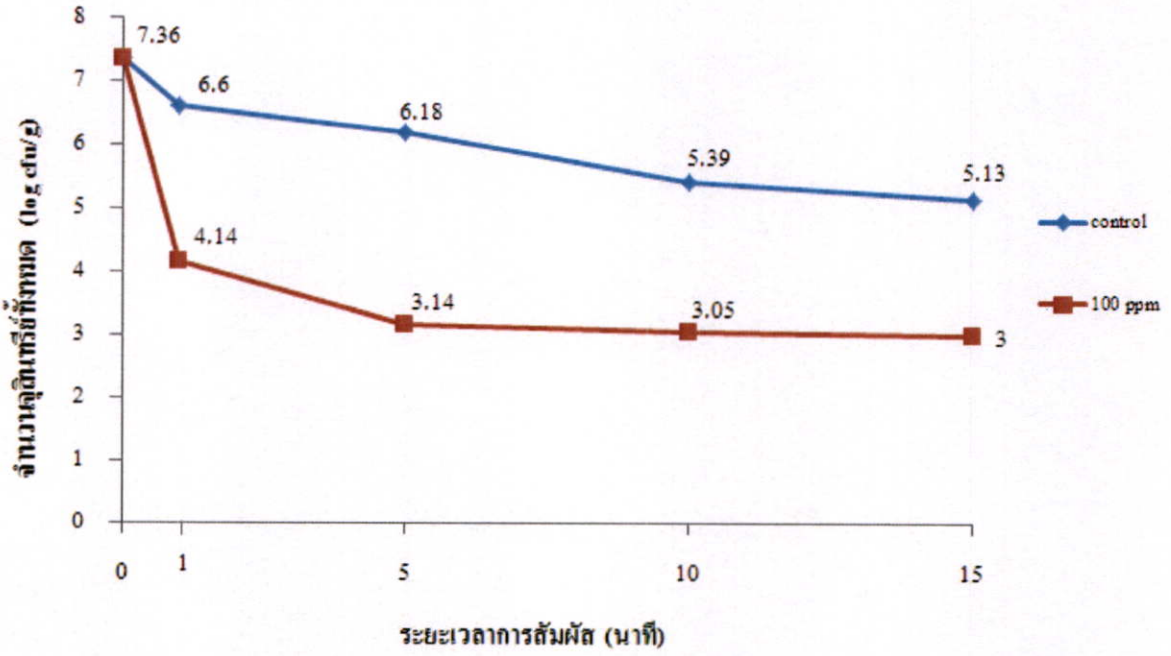
ตารางที่ 4.6 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่รอดชีวิตบนผักชีฝรั่งซึ่งล้างและแช่ในน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 7.36 log cfu/g)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g)**			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	6.60 ^{a}±0.54	6.18 ^{a}±0.09	5.39 ^{b}±0.43	5.13 ^{b}±0.04
NaOCl (100 ppm)	4.14 ^{c}±0.04	3.14 ^{d} ±0.00	3.05 ^{d}±0.02	3.00 ^{d}±0.02*

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Duncan's new multiple range test (DMRT)

* ข้อมูลที่เป็น 0.00±0.00 ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของ *S.* Schwarzengrund ใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

** จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ตรวจสอบด้วยอาหาร TSA



ภาพที่ 4.4 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log CFU/g) บนผักชีฝรั่ง โดยผ่านการล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

คลอรีนทำให้คุณสมบัติการเลือกผ่านสารของเยื่อหุ้มเซลล์เสียไป จึงไม่สามารถควบคุมการผ่านเข้าออกของสารได้ เป็นเหตุให้กรดไฮโปคลอรัสซึมผ่านเข้าไปในเซลล์และทำปฏิกิริยาต่อส่วนอื่นๆในเซลล์ (Krik และ Mitchell, 1980; Cheremisinoff และคณะ, 1981) และการที่เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย ทำให้เซลล์ไม่สามารถส่งผ่านอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรทหรือกรดอะมิโนที่จำเป็นในการดำรงชีพเข้าไปในเซลล์ เป็นเหตุให้เซลล์ขาดอาหาร หยุดการเจริญ และตายในที่สุด (Campers และ McFeters, 1979) แต่ในกรณีโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เนื่องจากเป็นสารออกซิไดซ์ที่รุนแรง (Trueman, 1971) สารประกอบคลอรีนชนิดนี้จะยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการออกซิไดซ์หมู่ -SH ของเอนไซม์เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ไม่สามารถผันกลับได้ รวมทั้งป้องกันการเกิดใหม่ของเอนไซม์ (enzyme regeneration) นอกจากนี้ยังมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของกลูโคส ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถนำกลูโคสไปใช้ได้ จึงขาดอาหารและตายในที่สุด (Green และ Stumpt, 1946) ความสามารถในการต้านทานต่อสารฆ่าเชื้อของจุลินทรีย์ต่างชนิดกันเป็นผลจากความ สามารถในการเกาะติดของเชื้อจุลินทรีย์ยังบริเวณต่างๆบนผักและผลไม้แตกต่างกัน บริเวณที่เชื้อจุลินทรีย์เข้าไปยึดเกาะมีผลต่อความสามารถในการต้านทานสารฆ่าเชื้อของจุลินทรีย์อย่างยิ่ง Takeuchi และคณะ (2000) พบว่าเมื่อสร้างการปนเปื้อนของเชื้อผสมระหว่าง *E. coli* o157:H7 *S.* Typhimurium และ

L. monocytogenes ในบริเวณที่แตกต่างกันของผักกาดแก้วพบว่าเซลล์ *E. coli* o157:H7 และ *L. monocytogenes* เกาะติดบริเวณรอยตัดได้ดีกว่าบริเวณผิว ซึ่งอธิบายได้ว่า *E. coli* o157:H7 สามารถเกาะเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายที่เป็นพวก non wax cuticle ได้ดี เนื่องจากเซลล์มีผิวที่เป็น nonhydrophobic (Mafu และคณะ , 1991; Dewanti และ Wong, 1995) ซึ่งแตกต่างจาก *S.* Typhimurium ที่สามารถเกาะติดบริเวณผิวและรอยตัดได้ในปริมาณที่น้อยกว่า *E. coli* O157:H7 ความสามารถของการเกาะติดบนผักและผลไม้ที่บริเวณแตกต่างของเซลล์แบคทีเรียเหล่านี้ทำให้สารฆ่าเชื้อเข้าไปทำลายจุลินทรีย์แต่ละชนิดได้มากน้อยต่างกัน Nguyen-the และ Carlin (1994) รายงานว่าคลอรีนไม่สามารถสัมผัสเซลล์จุลินทรีย์ได้ในบริเวณผิวของผักและผลไม้ที่มีรอยแยกหรือรอยแตกหรือผิวที่เปิดอยู่แล้วโดยธรรมชาติ เช่น เลนติเซล(lenticel) หรือปากใบ (Stomata) การม้วนใบหรือลักษณะธรรมชาติของใบที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) หรือผิวที่มีการเคลือบไข (wax) ก็มีส่วนสำคัญที่จะช่วยป้องกันไม่ให้คลอรีนสัมผัสผิวของผัก Park และคณะ (1991) ศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อ Bionox (Bionox Corp., Tucson, AZ) ซึ่งเป็นสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีกรดซิตริกเป็นองค์ประกอบ เพื่อควบคุมการปนเปื้อนแบคทีเรีย *S.* Enteritidis พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดจำนวนแบคทีเรียในตัวอย่างอาหาร โดยจำนวนซาลโมเนลลาในไก่ ผักและผลไม้ ลดลง 2-4 log10 CFU/g

4.3.2 ผลของสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักชีฝรั่งสด

เนื่องจากการใช้สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้นสูง(75%) ถึงแม้ว่าจะมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์ได้มากที่สุดในหลอดทดลองที่เวลาการแช่และล้างน้อยกว่าที่ความเข้มข้นต่ำลง แต่มีผลทำให้เกิดกลิ่นและลักษณะปรากฏเปลี่ยนเป็นเหี่ยว ผักช้ำและขอบใบมีสีน้ำตาล ในผักที่ผ่านการล้าง (ภาพที่ 4.5)

ภาพที่ 4.5 ผักชีฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 75% เวลา 1 นาที

ดังนั้นในการศึกษานี้จึงลดความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® ลงเป็น 50% เวลา 5 นาที ในการศึกษาขั้นตอนนี้เพื่อเปรียบเทียบกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm และกลุ่มตัวอย่างควบคุมที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ เพื่อดูผลการยับยั้ง *S.* Schwarzengrund เริ่มต้น 7.20 log CFU/g และ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 7.36 log cfu/g เมื่อนำผักชีฝรั่งล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® เปรียบเทียบกับผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ เวลาในการแช่และล้าง 0 -15 นาที พบว่าการล้างผักชีฝรั่งด้วยน้ำประปาที่เติมสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เป็นเวลา 0-15 นาที ลดจำนวน *S.* Schwarzengrund ลงได้ 4.64-7.20 log cfu/g ไม่พบการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาทีเมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P \leq 0.05$) *S.* Schwarzengrund ลดจำนวนจาก 7.20 log cfu/g เหลือ 0 (หรือลดลงได้ 7.20 log cfu/g) และผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆลดจำนวน *S.* Schwarzengrund ลงได้ 0.04-0.65 log cfu/g (ตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.6)และไม่สามารถลดลงได้หมดที่เวลา 15 นาที ปริมาณของเชื้อ *S.* Schwarzengrund จะลดลงเมื่อผักชีฝรั่งมีเวลาในการสัมผัสสารฆ่าเชื้อเพิ่มมากขึ้น ระดับความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และกลุ่มตัวอย่างควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการสัมผัสระหว่างสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Schwarzengrund โดยดูจากผลการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ พบว่าที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 0-15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน แต่ที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 และ 5 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

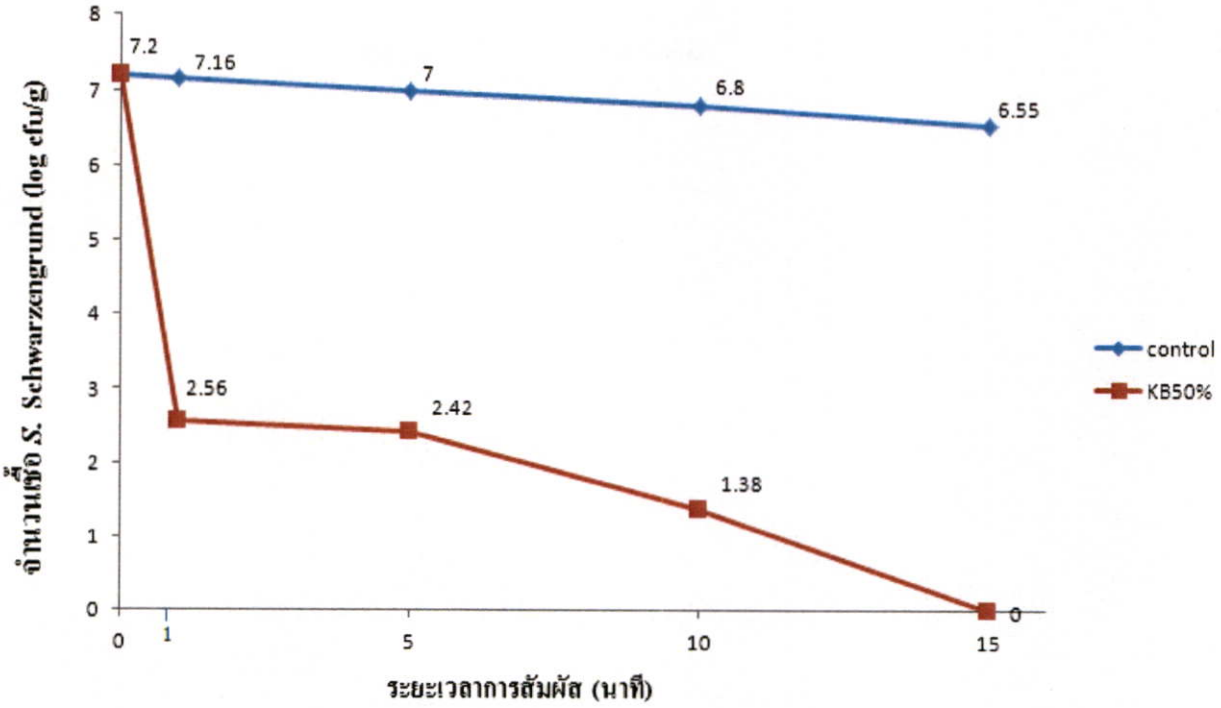
ตารางที่ 4.7 จำนวน *S.* Schwazengrund ที่รอดชีวิตบนผักชีฝรั่งซึ่งล้างและแช่ในน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆและสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50%
(เชื้อเริ่มต้นก่อนการทดลองอยู่ในช่วง 7.20 log cfu/g)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwazengrund (log cfu/g)**			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	7.16 ^{a}±0.28	7.00 ^{ab}±0.07	6.80 ^{bc}±0.28	6.55 ^{c}±0.28
KILLBACT (50%)	2.56 ^{b}±0.77	2.42 ^{b}±0.11*	1.38 ^{c}±1.20*	0.00 ^{d}±0.00*

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Duncan's new multiple range test (DMRT)

* ข้อมูลที่เป็น 0.00±0.00 ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของ *S.* Schawazengrund ใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

** จำนวน *S.* Schwazengrund ตรวจสอบด้วยอาหาร XLD



ภาพที่ 4.6 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwazengrund (log CFU/g) บนผักชีฝรั่ง โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

ส่วนการล้างผักชีฝรั่งด้วยน้ำประปาที่เติมสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เป็นเวลา 0-15 นาที สามารถลดจำนวจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้ 4.75-7.36 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น (ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.7)ไม่พบการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาทีเมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P \leq 0.05$) ลดจำนวนจาก 7.36 log cfu/g เหลือ 0 (หรือลดลงได้ 7.36 log cfu/g) และผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ ไม่สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้หมด จุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงจาก 7.36 เหลือ 5.13 log cfu/g (ลดลงได้2.23 log cfu/g) ซึ่งสอดคล้องกับสุดาพร เทียบจตุรัส (2545) จากการแช่และล้างข้าวโพกฝักอ่อนและหน่อไม้ฝรั่งด้วยน้ำประปา กล่าวได้น้ำประปาลดจำนวนจุลินทรีย์ในผักได้น้อยกว่า 1 log cfu/ml เนื่องจากการล้างด้วยน้ำเป็นเพียงการลดการปนเปื้อนทางกายภาพอาจจะชะล้าง ดิน ทราย และเซลล์จุลินทรีย์อื่นๆออกจากผักและผลไม้เท่านั้น แต่ไม่สามารถกำจัดจุลินทรีย์ออกได้หมด การทดลองของ Beuchat และคณะ (1998) พบว่าน้ำประปาจะลด *E. coli* และ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนแอปเปิ้ล มะเขือเทศ และผักกาดหอมลงได้เพียง 0.2 log cfu/ml เท่านั้น นอกจากนี้สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ผ่านการล้างผักชีฝรั่ง ในทุกความเข้มข้น และทุกช่วงระยะเวลา รวมทั้งน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ (กลุ่มตัวอย่างควบคุม) ได้ทำการตรวจสอบการฟื้น

ตัวของเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในน้ำล้างผักโดยทำการทดสอบด้วยการบ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% ที่เวลา 1 นาที มีความขุ่นเกิดขึ้นในหลอด TSB แต่สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% ที่เวลา 5-10 นาที ไม่มีความขุ่นเกิดขึ้นและจะพบความขุ่นที่เกิดขึ้นในหลอด TSB ของกลุ่มตัวอย่างควบคุมที่ทุกช่วงเวลาซึ่งแสดงให้เห็นว่าในน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆเชื้อสามารถกลับมาเจริญได้ใหม่อีกครั้ง แสดงว่าสารที่ใช้ในการศึกษาสามารถฆ่าเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% จะสามารถทำลายเชื้อดังกล่าวได้ที่เวลา 5 นาที และจะทำลายเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้หมดภายในเวลา 15 นาที ขณะที่การล้างด้วยน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆ (กลุ่มตัวอย่างควบคุม) ไม่สามารถลดการปนเปื้อนของ *S.* Schwarzengrund ได้

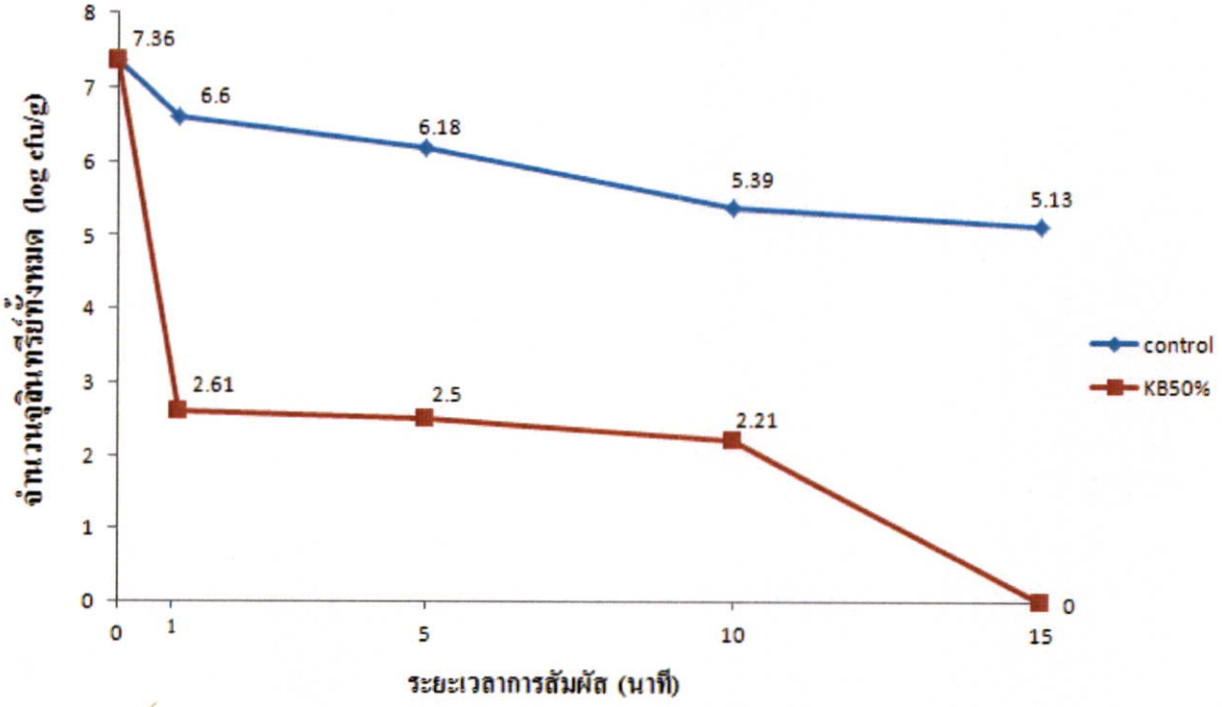
ตารางที่ 4.8 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่รอดชีวิตบนผักชีฝรั่งซึ่งล้างและแช่ในน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆและสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50%
(เชื้อเริ่มต้นก่อนการทดลองอยู่ในช่วง 7.36 log cfu/g)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Schwazengrund (log cfu/g)**			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	6.60±0.54[a]	6.18±0.09 [a]	5.39±0.43 [b]	5.13±0.04 [b]
KILLBACT-SU® (50%)	2.61±0.35 [c]	2.50±0.25* [c]	2.21±0.04* [c]	0.00±0.00* [d]

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Duncan's new multiple range test (DMRT)

* ข้อมูลที่เป็น 0.00±0.00 ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของ *S.* Schawazengrund ใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

** จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ตรวจสอบด้วยอาหาร TSA



ภาพที่ 4.7 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log CFU/g) บนผักชีฝรั่ง โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำประปาที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยไม่เติมสารใดๆต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

จากผลการศึกษาสอดคล้องกับผลของบริษัท UENO FINE CHEMICALS INDUSTRY LTD.(2551) เมื่อล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 100% ระยะเวลาสัมผัสนาน 30 วินาที พบว่าในผักชีฝรั่งสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* จาก 1.1 x 10^4 cfu/g เหลือ 6.5 x 10 cfu/g ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสเดียวกันในผักชีฝรั่งสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* จาก 1.1 x 10^6 cfu/g เหลือ 3.2x10^3cfu/g แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลการลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่งและการทดสอบในระดับหลอดทดลอง (จากข้อ 4.2) พบความไม่สอดคล้องของผลการทดลองโดยที่สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% เวลาสัมผัสนาน 1 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้อย่างสมบูรณ์ในระดับหลอดทดลอง ซึ่งแตกต่างจากในผักชีฝรั่งสด ที่จะต้องใช้ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้นที่ความเข้มข้นในระดับเดียวกัน หรือใช้ความเข้มข้นมากขึ้นในระยะเวลาสัมผัสเท่ากัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในหลอดทดลองมีการสัมผัสกับสารฆ่าเชื้อโดยตรง จึงมีผลต่อประสิทธิภาพการทำลายเซลล์ของสารละลาย KILLBACT-SU® ส่วนบนผิวผักชีฝรั่งเชื้อ *S.* Schwarzengrund อาจจะมีการเกาะตัวอยู่ที่บริเวณส่วนก้านใบทีมีการซ้อนทับของผักชีฝรั่ง ทำให้โอกาสที่สารฆ่าเชื้อเข้าไปทำลายเชื้อทั้งหมดได้ยากกว่า ได้น้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Park และ Beuchat (1999) ศึกษาผลของสารฆ่า

เชื้อในการทำลาย *E. coli* O157:H7, Salmonella spp. และจุลินทรีย์ที่มีตามธรรมชาติในแคนตาลูป และแตงฮันนี่ดิว พบว่าหลังจากล้างผลไม้ด้วยสารฆ่าเชื้อเป็นเวลา 3 นาที ตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์รอดชีวิตในแตงฮันนี่ดิวน้อยกว่าในแคนตาลูป คณะวิจัยรายงานได้ว่าเพราะผิวของฮันนี่ดิวมีลักษณะเรียบกว่าแคนตาลูป ดังนั้นเซลล์สามารถยึดเกาะและถูกชะล้างออกไปได้ง่ายกว่า

สำหรับสารละลาย KILLBACT® เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Coliforms และ Lactic acid bacteria ประกอบด้วยสารประกอบหลักเช่น เอทานอล 44.7 – 49.4% (w/w) และ กรดแลคติก 0.4% (w/w) สารละลาย KILLBACT® การเพิ่มประสิทธิภาพในการลดจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ในกระหล่ำปลีอาจทำได้ โดยการเติมสารลดแรงตึงผิวประเภท detergent หรือเอทานอล ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยลด hydrophobicity บนผิวของผักได้ร่วมกับสารละลายฆ่าเชื้อ (มณฑกานติ์, 2545) Adam และคณะ (1989) ใช้สารลดแรงตึงผิวได้แก่ Tween 80 ร่วมกับสารละลายคอรีนพบว่าช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผักกาดหอมได้ 99.6% ขณะที่การใช้สารละลายคลอรีนเพียงอย่างเดียวในการล้างสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ในผักกาดหอมได้ 98% สามารถนำไปใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผักสดได้โดยทำการ จุ่มผักประเภท ใบ/ผลอ่อน ลงในสารละลาย KILLBACT® 100% เป็นเวลา 30 วินาที หรือจุ่มผักประเภท ผล/ราก/หัว เป็นเวลา ≥ 30 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำ ก็จะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ (UENO FINE CHEMICALS INDUSTRY LTD, 1988)

4.4 ผลของสารละลายสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผักชีฝรั่งสด

นำผลการศึกษาของสารที่มีประสิทธิภาพดีในการฆ่าเชื้อ *S.* Schwarzengrund จากข้อ4.2 มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสดังนี้ ทำการเตรียมตัวอย่างผักชีฝรั่ง โดยผ่านการล้างด้วยน้ำประปา 10 นาที สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 5 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ศึกษาผลทางด้านประสาทสัมผัสในวันที่ 1 3 และ5

พบว่าผลการทดสอบทางด้านสีของผักชีฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ และน้ำประปาในวันที่ 1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) แต่จะมีสีแตกต่างกันทางสถิติในวันที่ 3 และ 5 ($P\leq0.05$) กลิ่นของผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm ในวันที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกัน($P>0.05$) และเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ล้างด้วยน้ำประปาจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) กลิ่นของผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปา สารละลาย KILLBACT-SU® 50% และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm ในวันที่ 3 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกัน($P>0.05$)

ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปาและสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm ในวันที่ 1 3 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกัน($P>0.05$) แต่ลักษณะของผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® 50% จะมีลักษณะแตกต่างกันทางสถิติ ($P\leq0.05$) โดยขอบใบของผักชีฝรั่งมีสีน้ำตาลและใบเหี่ยวลงเล็กน้อย (ดังแสดงในตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.8-4.10)

การยอมรับผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 100 ppm และน้ำประปาในทุกทุกวันที่ทำการทดสอบจะไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) ในวันที่1 จะมีความแตกต่างระหว่างผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปา และผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยสารฆ่าเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) การยอมรับผักชีฝรั่งในวันที่ 3 และ 5 จะมีความแตกต่างของผลคะแนนการทดสอบทางด้านการยอมรับระหว่างผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปา ผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm อย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$)

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผักชีฝรั่งสดที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 ppm สารละลาย KILLBACT-SU® 50%

วันที่	ประเภทสารฆ่าเชื้อ	ผลการทดสอบ (คะแนน)			
		สี	กลิ่น	ลักษณะปรากฏ	การยอมรับ
1	น้ำประปา	7.53 ^{a}	7.06 ^{a}	7.43 ^{b}	7.53 ^{b}
	สารละลาย KILLBACT-SU® 50%	6.60 ^{b}	6.76 ^{b}	6.13 ^{a}	6.13 ^{a}
	สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์	6.96 ^{c}	6.64 ^{c}	7.36 ^{b}	7.00 ^{a}
3	น้ำประปา	7.36 ^{a}	7.00 ^{a}	7.36 ^{b}	7.03 ^{a}
	สารละลาย KILLBACT-SU® 50%	6.60 ^{b}	6.76 ^{b}	5.36 ^{c}	6.03 ^{c}
	สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์	6.86 ^{c}	6.43 ^{c}	7.00 ^{a}	7.00 ^{b}
5	น้ำประปา	6.73 ^{a}	7.00 ^{a}	6.03 ^{a}	6.76 ^{a}
	สารละลาย KILLBACT-SU® 50%	6.00 ^{c}	5.66 ^{c}	4.80 ^{b}	5.90 ^{b}
	สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์	6.43 ^{a}	6.43 ^{b}	6.00 ^{a}	6.00 ^{b}

หมายเหตุ $^{a-c}$ = ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ยบโดยเมื่อเปรียบเทียบ Duncan's new multiple range test (DMRT)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อพิจารณาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส จากการสังเกตุพบว่าผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปาและสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 100 ppm ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางด้านสี เนื้อสัมผัสและไม่พบว่ามีกลิ่นคลอรีนในผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปาเติมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่สภาวะดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Golden และคณะ (1987) รายงานว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm ไม่มีผลกระทบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ทางกายภาพและคุณภาพของ พริกหยวก มะเขือเทศ พีช และแคนตาลูป

(A)

(B)

(C)

ภาพที่ 4.8 ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งหลังจากผ่านการแช่ด้วยสารและล้างด้วยน้ำประปา 10 นาที (A) สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที (B) สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 5 นาที (C) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน

(A)

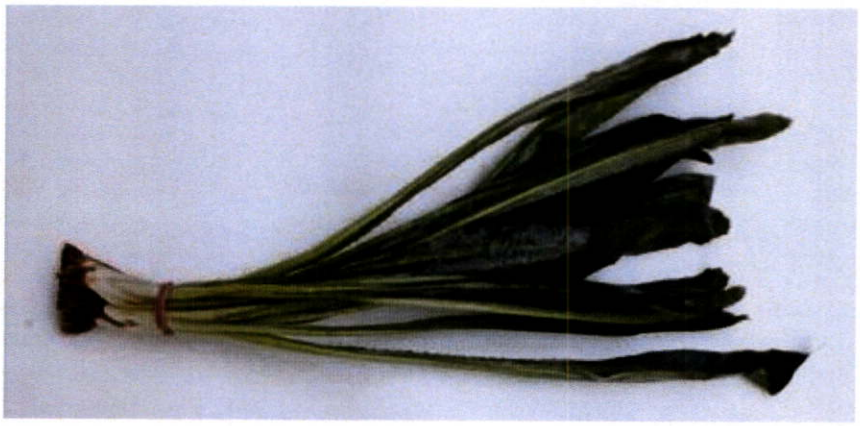
(B)

(C)

ภาพที่ 4.9 ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งหลังจากผ่านการแช่ด้วยสารและล้างด้วยน้ำประปา 10 นาที (A) สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที (B) สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 5 นาที (C) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน

(A)

(B)



(C)

ภาพที่ 4.10 ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งหลังจากผ่านการแช่ด้วยสารและล้างด้วยน้ำประปา 10 นาที (A) สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 100 ppm นาน 15 นาที (B) สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 5 นาที (C) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียใน Salmonella จากตัวอย่างผักสด 8 ชนิด 25 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อในกลุ่มซัลโมเนลลาจาก 2 ตัวอย่าง คือ ผักชีฝรั่ง และใบสะระแหน่ Salmonella ที่แยกได้จากผักชีฝรั่งอยู่ใน Group B เซโรวาร์ที่พบได้แก่ *S.* Schwarzengrund และในใบสะระแหน่ อยู่ใน Group (O:45) เซโรวาร์ที่พบในใบสะระแหน่ได้แก่ *S. VI 45:a:e,n,z*$_{15}$ *(O:45)* โดย Salmonella จากใบสะระแหน่ไม่สามารถบ่งชี้เซโรวาร์ที่แน่นอนได้ จึงเลือกผักชีฝรั่งและ *S.* Schwarzengrund มาเป็นตัวแทนในการศึกษาครั้งนี้ และจากการตรวจพบเชื้อแบคทีเรียใน Salmonella บ่งชี้ให้เห็นถึงความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของ Salmonella ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นในการบริโภคผักสดชนิดต่างๆจากตลาดสดหรือห้างสรรพสินค้า ควรล้างให้สะอาดก่อนบริโภคหรือก่อนนำไปปรุงประกอบอาหาร เพื่อป้องกันอันตรายที่อาจเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนอยู่

เมื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และสารละลาย KILLBACT-SU®ต่อการลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ในหลอดทดลองพบว่าปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund จะมีค่าลดลงตามระดับความเข้มข้นของสารละลายฆ่าเชื้อแต่ละชนิด โดยที่สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® 75% ที่อุณหภูมิห้อง จะสามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 5 นาที ในขณะที่สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ที่ระยะเวลาสัมผัส 1 5 และ 10 นาที จะสามารถลดเชื้อ *S.* Schawazengrund ได้ 0.7 – 0.86 log cfu/ml และที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน ที่ระยะเวลา 15 นาทีสามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Schwarzengrund ได้มากที่สุด คือ 0.97 log cfu/ml แต่ยังไม่สามารถลดจำนวนเชื้อดังกล่าวได้มากกว่า 1 log cfu ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากส่วนประกอบในสารละลายเปปโตนที่เข้าทำลายประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนจึงทำให้ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนลดลง

เมื่อนำผลความเข้มข้นและระยะเวลาของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Schwarzengrund ข้างต้น คือ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที และ สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ระดับความเข้มข้น 75% และ 50% เวลาสัมผัสนานถึง 15 นาทีขึ้นไป มาศึกษาการลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund บนผักชีฝรั่ง ที่มีระดับการปนเปื้อนเชื้อบนผักชีฝรั่ง 7.20 log cfu/g พบว่า สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ระดับความเข้มข้น 75% ไม่

สามารถนำมาปฏิบัติจริงในการล้างผักชีฝรั่งได้ เนื่องจากการล้างเพียง 1 นาที มีผลทำให้ใบผักชีฝรั่งเหี่ยวและเป็นสีน้ำตาลไหม้ จึงทำการศึกษาเฉพาะสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์และสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ระดับความเข้มข้น 50% พบว่า สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ จะมีประสิทธิภาพในการทำลาย *S.* Schwarzengrund ได้ดีที่ความเข้มข้น 100 ppm เวลา 15 นาที คือ ปริมาณเชื้อลดลง 3.74 log cfu/g และสามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้ 4.36 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามสารฆ่าเชื้อชนิดนี้ยังคงไม่สามารถลดจำนวน *S.* Schwarzengrund และ เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักชีฝรั่งได้ โดยไม่ทำให้ลักษณะของผักชีฝรั่งเปลี่ยนแปลง

สำหรับสารละลาย KILLBACT-SU® พบว่าที่การปนเปื้อนของเชื้อในปริมาณ 7.20 log cfu/g บนผักชีฝรั่ง เมื่อทำการล้างที่ระดับความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 – 10 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 2.56, 2.42 และ 1.38 log cfu/g ตามลำดับ และไม่พบการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาทีเมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P\leq0.05$) และที่ระดับความเข้มข้น 50% นาน 15 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Schwarzengrund และเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดลงได้อย่างสมบูรณ์ แต่จะทำให้ลักษณะทางกายภาพของผักชีฝรั่งเปลี่ยนแปลง คือ มีกลิ่นฉุน เกิดรอยสีน้ำตาลที่ขอบใบ และใบเหี่ยวเล็กน้อยหลังล้าง

การศึกษาคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของตัวอย่างผักชีฝรั่ง พบว่า เมื่อทำการล้างด้วยน้ำประปาและสารฆ่าเชื้อจะไม่มีผลต่อคุณภาพเรื่องกลิ่นและลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่ง ซึ่งจะมีความแตกต่างในเรื่องของสีผักชีฝรั่งในผักชีฝรั่งในวันที่ 3 และ 5 แต่ก็คงยังอยู่ในเกณฑ์การยอมรับจากผู้ทำการทดสอบ ส่วนคุณภาพทางด้านกลิ่นของผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm ในวันที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกัน($P>0.05$) และเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ล้างด้วยน้ำประปาจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) กลิ่นของผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปา สารละลาย KILLBACT-SU® 50% และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm ในวันที่ 3 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) การยอมรับ ผักชีฝรั่งในวันที่ 1 จะมีความแตกต่างระหว่างผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปา และผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยสารฆ่าเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) การยอมรับ ผักชีฝรั่งในวันที่ 3 และ 5 จะมีความแตกต่างระหว่างผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปา กับผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm อย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) เมื่อพิจารณาลักษณะของผักชีฝร่ง พบว่า สี กลิ่น ลักษณะปรากฏของผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 100 ppm มีการเปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างกับผักชีฝรั่งที่ล้างด้วยน้ำประปา ส่วนสารละลาย KILLBACT-SU® 50% ทำให้ผักชีฝรั่งมีลักษณะใบเหี่ยวและขอบใบเป็นสีน้ำตาลอ่อนเล็กน้อย แต่ก็ยังอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ ดังนั้น การใช้สารฆ่าเชื้อ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 100 ppm สารละลาย

KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% ผสมร่วมในน้ำเพื่อล้างผักชีฝรั่งที่ใช้ศึกษา จะดีกว่าการล้างน้ำประปาเพียงอย่างเดียว นอกจากจะไม่มีผลในเรื่องของคุณภาพผักชีฝรั่งหลังการล้างและการเก็บนาน 5 วันแล้ว ยังช่วยในเรื่องความปลอดภัยจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *S.* Schawazengrund และเชื้ออื่น ๆ ที่อาจติดมากับผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Schawazengrund ถึงแม้ว่าผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เวลา 15 นาที จะให้ผลที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ แต่ก็ยังไม่สามารถทำลาย *S.* Schawazengrund ได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปควรมีการใช้สารลดแรงตึงผิวหรือกรดอินทรีย์ร่วมด้วยเพื่อช่วยให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ดีขึ้น เนื่องด้วย ความเป็นกรด-เบส เป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อของคลอรีนและสารประกอบคลอรีน เมื่อความเป็นกรด-เบสมากกว่า 10 คลอรีนและสารประกอบคลอรีนจะมีประสิทธิภาพลดลง สารประกอบคลอรีนจะมีประสิทธิภาพดีในการทำลายจุลินทรีย์เมื่ออยู่ในสภาวะเป็นกรด เนื่องจากกรดไฮโปคลอรัสซึ่งเป็นสารที่มีประสิทธิภาพดีในการทำลายจุลินทรีย์มีความคงตัวที่ความเป็นกรด-เบสต่ำ และมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่าไฮโปคลอไรท์ไอออน (Murray และคณะ, 1994)

จากข้อมูลผลการศึกษาชี้ให้เห็นข้อมูลพื้นฐานในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Schawazengrund ที่อยู่บนผิวผักชีฝรั่งด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลาย KILLBACT-SU®ให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งควรทำการศึกษากับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผักผลไม้ชนิดอื่นๆ เพื่อให้เกิดประโยชน์ในด้านความปลอดภัยของอาหารมากขึ้น

ควรมีการนำระบบ GAP (การปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืช)เข้ามาประยุกต์ใช้ในขั้นตอนการเพาะปลูก ตามข้อกำหนดของกรมวิชาการเกษตรเพื่อช่วยในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ และส่งเสริมให้โรงคัดบรรจุสินค้าเกษตรได้รับการรับรองกระบวนการผลิต GMP (Good Manufacturing Practice)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Schwarzengrund ถึงแม้ว่าผลของสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 75% จะให้ผลที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแต่ในเรื่องของผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสจะต้องหาวิธีการลดกลิ่นที่ติดมากับผักเพื่อให้เกิดความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในจริงในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

บรรณานุกรม

กลุ่มพัฒนาคุณภาพน้ำบริโภค. 2549. [Online]. เข้าถึงได้จาก :
http://www.cco.moph.go.th/hp_group/nana/chlorine.html

จริงแท้ ศิริพานิช. 2538. **สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้.** โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 396 น.

จิตศิริ ทองสอน. 2543. "ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนร่วมกับกรดอินทรีย์ในการลด *Salmonella* Typhimurium ในผักสด." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

จิราวรรณ ยี่สิบแสน. 2552. "การลด *Salmonella* Enteritidis บนผิวเปลือกไข่ด้วยน้ำส้มสายชูหมัก." วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ดวงกมล สระน้ำ. 2549. "ผลของการใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และโอโซนต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และอายุการวางจำหน่าย." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. **จุลชีววิทยาทั่วไป.** พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. 115 น.

มนทกานติ์ บุญยการ. 2545. "การลดการปนเปื้อนข้ามของ *Salmonella* Typhimurium ระหว่างการเตรียมผักสลัดโดยสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รุ่งทิวา อิศรางพร. 2541. "การเพิ่มประสิทธิภาพของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการลดปริมาณเชื้อ Salmonella Typhimurium." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วชิราภรณ์ เทียมทันธ์. 2545. "การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อเพื่อลดจำนวน *Escherichia coli* และ *Salmonella* Typhimurium ปนเปื้อนบนผักกาดหอม." วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533. **กำหนดสุขลักษณะสำหรับอาหารแช่เยือกแข็ง.** มอก. 928-2533.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** กรุงเทพฯ. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ ปรีชา จึงสมานกุล. 2538. ซาลโมเนลลาและลิสทีเรียในผักสด. **อาหาร** 25(3): 185-189.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์, นพรัตน์ หมานริม และ ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์. 2540. การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารและผลิตภัณฑ์ : ผลการสำรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในประเทศไทย, น. 1-60. ใน **รายงานการสัมมนาเรื่องความก้าวหน้าในการตรวจหาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ** 14 ตุลาคม 2540. โรงแรมเซ็นทรัลพลาซ่า, กรุงเทพฯ

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ สุมณฑา วัฒนสินธุ์ และชัยวัฒน์ พูลศรีกาญจน์. 2551. ***Salmonella.*** [Online]. เข้าถึงได้จาก http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_7_001c.asp?info_id=1312

อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี. 2008. "KILLBACT®." กรุงเทพฯ : เอกสารอัดสำเนา.

อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี. 2007. "ประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของ KILLBACT-SU® ที่ส่งตรวจห้องปฏิบัติการนอก." กรุงเทพฯ : เอกสารอัดสำเนา.

Adams, M.R. and Hall, C.J. 1988. "Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures." **Int. J. Food Sci and Techol.** 23 (3): 287-292.

Adams, M.R., Hartley, A.D. and Cox, L.J. 1989. "Factors affecting the of washing procedures used in the production of prepared salads." **Food Microbiol.** 6 (2): 69-77.

Ahamad, N. and Marrth, E.H. 1989. "Behavior of *Listeria monocytogenes* at 7 , 13, 21 and 35°C in tryptose broth acidified with acetic, citric or lactic acid." **J. Food Prot.** 52 (10): 688-695.

Ames, B.N. 1979. "Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer, p.111. *Cited by* C.I. Wei, D.L. Cook and J.R. Kirk. Use of chlorine compounds in the food industry." **Food Technol.** 39 (1): 107-115.

Babic, I., and Waatada, A. E. (1996). "Microbial populations of fresh-cut spinach leaves affected by controlled atmospheres." **Postharvest Biology and Technology**. 9:187-193.

Beavers, D.V. and Payne, C.H. 1969. "Secondary bleaching of brined cherries with sodium chlorite." **Food Technol.** 23 (4): 573-575.

Beuchat, L.R. 1996. "Pathogenic microorganisms associated with fresh produce." **J. Food Prot.** 59 (2): 204-216.

Beuchart, L.R., Nail, B.V., Adler, B.B. and Clavero, M.R.S. 1998. "Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes and lettuce." **J. Food Prot.** 61 (10): 1305-1311.

Booth, I.R. 1985. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria, p. 209. Cite3d by R.M.E. Richards, D.K.L. Xing and T.P. King. "Activity of *p*-aminobenzoic acid compared with other organic acids against selected bacteria." **J. Appl Bacteriol.** 78 (3): 209-215.

Brackett, R.E. 1992. "Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation disinfection." **J. Food Prot.** 55: 808-814

Budavari, S. 1996. **The Merck Index : An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals**. 12th ed., Whitehouse Station, New Jersey. Various pagings.

Butterfield. C.T., Wattie, E., Megregian, S. and Chambers, C.W. 1943. "Influence of pH and temperature on the survival of coliforms and enteric pathogens when exposed to free chlorine, p. 524. *Cited by* El-Kest, S.E. and Marth, E.H. Inactivation of *Listeria monocytigenes* by chlorine." **J. Food Prot.** 51 (7): 520-524.

Campbell, J. V., Mohle-Boetani, J., Reporter, R., Abbott, S., Farrar, J., Brandl, M. 2001. "An outbreak of *salmonella* serotype *thompson* associated with fresh cilantro." **J. Infect. Disease**.183, 984-987.

Campers, A.K. and McFeters, G.A. 1979. "Chlorine injury and the enumeration of waterborne coliform bacteria." **Appl. Environ. Microbiol.** 37: 633-641

Chung, K.C. and Goepfert, J.M. 1970. "Groeth of Salmonella at low pH." **J.Food Sci.** 35 (3): 326-328.

Cunningham, H.N. 1980. "Effect of sodium hypochlorite on growth of rats and guinea pigs" p.111. *Cited by* Wei, C.I., Cook, D.L. and Kirk, J.R. "Use of chlorine compounds in the food industry." **Food Technol.** 39 (1): 107-115.

Davidson, P.M. 1997. "Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds" pp. 520-577. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and Montville, T.J. (eds.). **Food Microbiology : Fundamentals and Frontiers.** ASM Press, Washington D.C.Edwards, G.F. 1980. Antimicrobial Food Additives Characteristics Uses Effects (English translation from the German). Springer-Verlag, New York. 280 p.

Davis, H., Taylor, J.P., Perdue, J.N., Stelma, G.N., Humphreys, J.M., Rowntree, R. and Greene, K.D. 1988. "A shigellosis outbreak traced to commercially distributed lettuce." p. 808. In: Brackett, R.E. "Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection." **J. Food Prot.** 55(10): 808-814.

Dewanti, R. and Wong, A.C.L. 1995. "Influence of cultire conditions on biofilm formation by *Escherichia coli* 0157:H7." **Int. Food Microbiol.** 26: 147-164.

Edwards, G.F. 1980. **Antimicrobial Food Additives Characteristics Uses Effects (English translation from the German)**. Springer-Verlag, New York. 280 p.

El-Kest, S.E. and Marth, E.H. 1988. "Inactivation of *Listeria monocytogenes* by chlorine." **J. Food Prot.** 51 (7): 520-524.

Ercolani, G.L. 1976. "Bacteriological quality assessment of fresh marketed lettuce and fennel." **Appl. Environ. Microbiol.** 31 (6): 847-852.

Federal Register. 1980. "Indirect food substances affirmed as generally recognized as safe [GRAS] ; sodium chlorite. Food and Drug Administration." **Fed. Register**. 45: 16469-16470.

Federal Register. 1998. " Secondary direct food additives permitted in food for human consumption, p. *Cited by* A.Castillo, L.M. Lucia, G.K. Kemp and G.R. Acuff. Reduction of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella* Typhimurium on beef carcass surface using acidified sodium chlorite." **J. Food Prot.** 62 (6) : 580-584.

Food and Drug Administration. 2001. **FDA survey of imported fresh produce. FY 1999 field** Assignment. http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/produsurv.html.Accessed 01.02.08.

Freese, E., Sheu, C.W. and Galliers, E. 1973. "Function of lipophilic acids as antimicrobial food Additive." pp. 694-695. *Cited by* Ahamad, N. and Marth, E.H. "Behavior of *Listeria monocytogenes* at 7, 13, 21 and 35oC in tryptose broth acidified with acetic, citric or lactic acid." **J. Food Prot.** 52 (10): 688-695.

Garbutt, J. 1997. **Essentials of Food Microbiology**. Arnold, London.

Garcia-villanova Ruiz, B., Galvez-Vargas, R. and Garcia-Villonova, R. 1987. "Contamination on fresh vegetables during cultivation and marketing." **Int. J. Food Microbiol.** 4(4): 285-291.

Garcia-Villanova Ruiz, B., Cueto Espinas, A. and Bolonos, M.J. 1987. "A comparative study of *Salmonella* isolated from irrigation waters, vegetables and human infections" pp. 271-276. *Cited by* Beuchat, L.R. "Pathogenic microorganisms associated with fresh produce." **J. Food Prot.** 59 (2): 204-216.

Garcia-Villanova Ruiz, B., Galvez-Vargas, R. and Garcia-Villonova, R. 1987. "Contamination on fresh vegetables during cultivation and marketing." **Int. J. Food Microbiol.** 4 (4): 285-291.

Gelinas, P., Goulet, J., Tastayre, G.M. and Picard, G.A. 1984. "Effect of temperature and contact time on the activity of eight disfectants-a classification." **J. Food Prot.** 47 (11): 841-847.

Green, D.E. and Stumpf, P.K. 1946. "The mode of action of chlorine" p. 107. *Cited by* Wei, C.I., Cook, D.L. and Kirk, J.R. "Use of chlorine compounds in the food industry." **Food Technol.** 39(1): 107-115.

Hammer, M.J. and Hammer, Jr. M.J. 1996. **Water and Wastewater Technology**. 3rd ed., Prentice Hall, Ohio. 519 p.

Hagenmaier, R.D. and Baker, R.A. 1998. "A survey of the microbial population and ethanol content of bagged salad." **J. Food Prot.** 61(3): 357-359.

Harrigan, W.F. and Park, R.W.A. 1991. **Making Safe Food : A Management Guide for Microbiological Quality**. Academic Press, London. 178 p.

Hugo, W.B. 1971. **Inhibition and Destruction of the Microbial Cell**. Academic Press, London. 819 p.

Hurst, W.A. and Schular, G.A. 1992. "Fresh produce processing : An industry perspective." **J.Food Prot.** 55: 824-827.

Izumi, H. 1999. "Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables." **J. Food Sci.** 64 (3): 536-539.

Jaquette, C.B., Beuchat, L.R. and Mahon, B.E. 1996. "Efficacy of chlorine and heat treatment in killing Salmonella Stanley inoculated onto alfalfa seeds and growth and survival of the pathogen during sprouting and storage." **Appl. Environ. Microbiol.** 62 (6): 2212-2215.

Jernlinchan, J. and Saitanee, K. 1993. "The occurrence of salmonellae in bean sprout in Thailand" p 114-118 *Cited by* Beuchat, L.R. "Pathogenic microorganisms associated with Fresh produce." **J.Food Prot.** 59(2): 204-216.

Kirk, J.R. and Michell, S.K. 1980. "Risks and benefits associated with chlorine in the food industry." pp. 284-304. In: Jolley, R.L., Burngs, W.D., Cumming, R.B. and Jacobs, V.A. Editors, **Water Chlorination Environmental Impact and Health Effect.** Ann Arbor Science, Michigan.

Krasner, S.W. and Barret, S.E. 1984. "Aroma and flavor characteristics of free chlorine and chloramines" pp. 115-116. Cited by M.J. Saxby. **Food Taints and off-flavour**. Blackie Academic & Professional, Glasgow. 326 p.

Le Chevallier, M.W., Cawthon, C.D. and Lee, R.G. 1988. "Inactivation of biofilm bacteria." **Appl. Environ. Microbiol.** 54 (10): 2492-2499.

Liao, C.H. and Saper, G.M. 2000. "Attachment and growth of *Salmonella* Chester on apple fruits and vivo response of attachment bacteria to sanitizer treatment." **J. Food Prot.** 63: 876-883

Macrae, R., Robinson, R.K. and Sadler, M.J. 1993. **Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition Vol. 6 pH-Soya Milk.** Academic Press, San Diego. 4242 p.

Mafu, A.A., Roy, D., Goulet, J. and Savoie, L. 1991. "Characterization of physiochemical forces involved in adhesion of *Listeria monocytogenes* to surface." **Appl. Environ. Microbiol.** 57: 1969-1973

Mullerat, J., Sheldon, B.W. and Klapes, N.A. 1995. "Inactivation of *Salmonella* species and other food- borne pathogens with Salmide®, a sodium chlorite-based oxyhalogen disinfectant." **J.Food Prot.** 58(5): 535-540.

Murray, P.R., Kobayashi, G.G., Pfaller, M.A. and Rosenthal, K.S. 1994. **Medical Microbiology**. 2d ed., Mosby-year Book, London. 755 p.

National research Council. 1985. **An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients**. National Academy Press, Washington D.C.

Nguyen-the, C. and Carlin, F. 1994. "The microbiology of minimally processed fresh fruits andvegetables." **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 34: 371-401

Odumeru , J.A., Mitchell, S.J., Aleves, D.M., Lynch, J.A., Yee, A.J., Wang, S.L., Styliadis, S. and Farber, J.M. 1997. "Assessment of the microbiological quality of ready-to-use vegetables for health-care food service." **J.Food Prot.** 60(8): 954-960.

Odlaug, T.E. 1981. "Antimicrobial activity of halogens." **J. Food Prot.** 44 (8): 608-613.

Park, D.L., Rua, S.M. Jr. and Acker, R.F. 1991. "Direct application of a new hypochlorite santizer for reducing bacterial contamination on foods." **J. Food Prot.** 54 (12): 960-965.

Prost E. and Rieman, H. 1967. "Food borne salmonellosis" p. 326. *Cited by* Chung, K.C. and Goepfert, J.M. "Growth of *Salmonella* at low pH." **J. Food Sci.** 35 (3): 326-328.

Richards, R.M.E., Xing, D.K.L. and King, T.P. 1995. "Activity of *p*-aminobenzoic acid compared with other organic acids against selected bacteria." **J. Appl Bacteriol.** 78 (3) : 209-215.

Rieman, H. 1969. **Food Processing and Preservation Effect, p. 22. *Cited by* H.D. Graham. The Safety of Foods**. 2nd ed ., AVI Publishing Company, Connecticut. 774 p.

Robinson, R.K., Balt, C.A. and Patel, P.D. 2000. **Encyclopedia of Food Microbiology.** Acdemic Press, New York.

Sheu, C.W., Salomon, D. J., Simmons, L., Sreevalsan, T. and Freese, E. 1975. "Inhibitory effects of lipophilic acids and related compounds on bacteria and mammalian cells" p. 524. *Cited by* Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and T.J. Montville. **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers.** ASM Press, Washington D.C. 768 p.

Schlech, W.F., Lavigen, P.M., Bostolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J., Hightower, A.W., Johnson, S.E., King, S.H., Nicholls, E.S. and Broome, C.V. 1983. "Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food" p. 203-206. *Cited by* Beuchat, L.R. "Pathogenic microorganisms associated with fresh produce." **J.Food Prot.** 59(2): 204-216.

Silliker, J.H., Elliott, R.P., Baird-Parker, A.C., Bryan, F.L., Christian, J.H.B., Clark, D.S., Olson, J.C. Jr. and Roberts,.T.A. 1980. **Microbial ecology of foods. Volume II.** Food Commodities. Academic Press.

Solomon, H.M., Kautter, D.A., Lilly, T. and Rhodehamel, E.J. 1990. "Outgrowth of *Clostridium botulinum* in shredded cabbage at room temperature under modified atmosphere." **J. Food Prot.** 53:831.

Stokes, J.L. and Bayne, H.G. 1957. "Growth rates of *Salmonella* colonies" p. 326. *Cited by* Chung, K.C. and Goepfert, J.M. "Growth of *Salmonella* at low pH." **J. Food Sci.** 35 (3): 326-328.

Tamblyn, K.C. and Conner, D.E. 1997. "Bactericidal activity of organic acids against *Salmonella typhimurium* attached to broiler chicken skin." **J. Food Prot.** 60 (6): 629-633.

Takeuchi, K. and Frank, J.F. 2000. "Penetration of *Escherichia coli* O157:& into lettuce tissues as affected by inoculum size and temperature and the effect of chlorine treatment on cell viability." **J. Food Prot.** 63: 434-440.

Takeuchi, K., Hassan, A.N. and Frank, J.F. 2001. "Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into lettuce as influenced by modified atmosphere and temperature." **J. Food Prot.** 64(11): 1820-1823

Tamminga, S.K., Beumer, R.R. and Kampelmacher, E.K. 1978. "The hygienic quality of vegetables grown in or imported into the Netherlands : A tentative survey" p. 143-154. *Cited by* Beuchat, L.R. "Pathogenic microorganisms associated with fresh produce." **J. Food Prot.** 59 (2): 204-216.

Taormina, P.J. and Beuchat, L.R. 1999. "Comparisopn of chemical treatments to eliminate enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfafa seed." **J.Food Prot.** 62(4): 318-327.

Taxe, R.V. 1991. " *Salmonella* : A postmodern pathogen." **J. Food Prot.** 54 (7) : 563-568.

Tauxe, R., Kruse, H., Hedberg, C., Potter, M., Madden, J. and Wachsmuth, K. 1997. "Microbial hazards and emerging issues associated with produce : A preliminary report to the national advisory committee on microbiologic criteria for foods." **J. Food Prot**. 60 (11): 1400-1408.

Troller, J.A. 1993. **Sanitation in Food Processing.** 2d ed., Academic Press, California. 478 p.

Trueman, J.R. 1971. The Halogens, pp. 137-183. In Hugo, W.B. (ed.). **Inhibition and Destruction of the Microbial Cell.** Academic Press, Inc., London.

Unrien, J. 1990. "Tainted tomato source to be named" p. 808. *Cited by* Brackett, R.E. "Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection." **J. Food Prot.** 55(10): 808-814.

Wei, C., Cook, D.L. and Kirk, J.R. 1985. "Use of chlorine compounds in the food industry." **Food Technol.** 39 (1): 107-115.

Wei, C.I., Huang, T.S., Kim, J.M., Lin, W.F., Tamplin, M.L. and Bartz, J.A. 1995. "Growth and survival of *Salmonella montevideo*on tomatoes and disinfection with chlorinated water." **J. Food Prot.** 58 (8): 829-836

White, G.C. 1992. **The Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants.** 3rd ed. Van Nostrand Reinhold, New York. 1308 p.

Wiley, R.C. 1994. **Minimally Processed Refrigerated Fruit&Vegetables.** Chapman&Hall, London. 368 p.

Wlodkowski, T.J. and Rosenkranz, H.S. 1975. "Mutagenicity of sodium hypochlorite for *Salmonella typhimurium*" p. 111. *Cited by* Wei, C.I., Cook, D.l. and Kirk, J.R. "Use of chlorine compounds in the food industry." **Food Technol.** 39 (1): 107-115.

Zhuang, R.Y., L.R. Beuchat and F.J. Angulo. 1995. "Fate of *Salmonella montevideo* on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine." **Appl Environ Microbiol.** 61 (6): 2127-2131.

http://www.dumenu.com/article/165/ Accessed date on September 2011.

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

http://www.suandusitcuisine.com/food4/central/veget/veget54.php Accessed date on November 2011.

ภาคผนวก ก
สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ก
สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Trypticase Soy Broth (TSB, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Casein Peptone	17.0 กรัม
Soymeal Peptone	3.0 กรัม
D (+) Glucose	2.5 กรัม
Sodium Chloride	5.0 กรัม
Di-Potassium Hydrogen Phosphate	2.5 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมด โดยต้มให้เป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายอาหารลงในขวดรูปชมพู่หรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. Tryptic Soy Agar (TSA, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Casein Peptone	15.0 กรัม
Soymeal Peptone	5.0 กรัม
Sodium Chloride	5.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมด โดยต้มให้เป็นเนื้อเดียวกัน ถ่ายอาหารลงในขวดรูปชมพู่หรือขวดที่มีจุกสำลีหรือฝาปิด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar (XLD, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Yeat Extract	3.0 กรัม
L-Lysine HCL	5.0 กรัม
Xylose	3.75 กรัม
Lactose	7.5 กรัม
Sucrose	7.5 กรัม
Sodium Deoxycholate	1.0 กรัม

Sodium Chloride	5.0 กรัม
Sodium Thiosulfate	6.8 กรัม
Ferric Ammonium Citrate	0.8 กรัม
Agar	12.5 กรัม
Distilled Water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ 55 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มน้ำให้เดือดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน อาหารเลี้ยงเชื้ออาจตกตะกอน ไม่มีผลต่อการทำงาน ห้ามนำเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ

4. Buffered Peptone Water (BPW, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Peptone	10.0 กรัม
Sodium Chloride	5.0 กรัม
Diosodium Hydrogen	3.5 กรัม
Potassium Dihydrogen Phosphate	1.5 กรัม
pH	7.2 $\pm$ 0.2
Distilled Water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายอาหาร 25.5 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. Triple Sugar Iron Agar (TSI, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Meat Extract	4.3 กรัม
Yeat Extract	3.0 กรัม
Peptone	18.0 กรัม
Sodium Chloride	5.0 กรัม
Sodium Thiosulfate	0.3 กรัม
Lactose	10.0 กรัม
Sucrose	10.0 กรัม
Dextrose	1.0 กรัม
Ferric Ammonium Citrate	0.2 กรัม
Agar	14.0 กรัม
Distilled Water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายอาหาร 65.6 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร แบ่งใส่หลอด หลอดละประมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที นำมาเอียงให้มีความลึกก่อนถึงผิวเอียง ประมาณ 1 นิ้ว

6. Lysine Iron Motility Medium (LIM, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Yeat extract	3.0 กรัม
Peptone	5.0 กรัม
L-Lysine HCL	10.0 กรัม
Dextrose	1.0 กรัม
Sodium Thiosulfate	0.2 กรัม
Ferric Ammonium Citrate	0.3 กรัม
Bromcresol Purple	0.3 กรัม
Agar	14.0 กรัม
Distilled Water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายอาหาร 23.0 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร แบ่งใส่หลอดๆ ละประมาณ 5 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

7. Diluent (0.1%BPW, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Buffer Peptone Water	0.036 กรัม
น้ำกลั่น	1.0 ลิตร

ละลายสารในน้ำกลั่นให้เข้ากัน เทใส่หลอดทดลอง หลอดละ 9 มิลลิลิตร หรือขวดสารละลายเจือจางขวดละ 225 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข
สารละลายที่ใช้ในการทดลอง

ภาคผนวก ข
สารละลายที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

การเตรียมแอลกอฮอล์ (เอทานอล) 70 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เตรียมจากเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ โดยตวงแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 74 มิลลิลิตร ลงในขวดเชิงปริมาตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ก็จะได้เอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ตามที่ต้องการ

2. สารละลายคิลแบคเอสยู 50 เปอร์เซ็นต์

การเตรียมสารละลายคิลแบคเอสยู 50 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เตรียมจากสารละลายคิลแบคเอสยู 100 เปอร์เซนต์ โดยตวงสารละลายคิลแบคเอสยู 100 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในขวดเชิงปริมาตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ก็จะได้สารละลายคิลแบคเอสยู 50 เปอร์เซ็นต์ตามที่ต้องการ

3. สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์

การคำนวณเพื่อหาปริมาณโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ต้องใช้ผสมในน้ำเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ สามารถคำนวณได้ดังนี้

ถ้าต้องการเตรียมน้ำที่มีโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 1 ลิตร โดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 10% (คำนวณได้จากข้อ 1)

เปลี่ยนความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ 10% ให้เป็นหน่วย ppm

$$10\% = \frac{100 \times 1{,}000{,}000}{100} = 1{,}000{,}000 \text{ ppm}$$

คำนวณปริมาณคลอรีนที่ใช้โดยใช้สูตร

$$M1V1=M2V2$$

แทนค่าในสูตร

$$1{,}000{,}000 \text{ ppm} \times V1 = 100 \text{ ppm} \times 1 \text{ ลิตร}$$

$$V1 = 0.0001 \text{ ลิตร หรือ } 0.1 \text{ มิลลิลิตร}$$

ดังนั้นจะต้องเติมโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.1 มิลลิลิตร ลงในน้ำ 1 ลิตร จะได้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 100 ppm

ภาคผนวก ค
การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

ภาคผนวก ค
การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

นำผักชีฝรั่งมาทดสอบทางประสาทสัมผัสในเรื่อง สี กลิ่น ลักษณะปรากฏ และการยอมรับ

การเตรียมตัวอย่าง

1. สุ่มรหัสตัวเลขจากตารางเลขสุ่มเพื่อใช้เป็นตัวแทนของตัวอย่างที่จะทำการทดสอบ
2. ติดรหัสตัวเลขที่ได้กับถุงที่ใส่ตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ
3. จัดวางตัวอย่างลงในภาชนะ
4. เสริฟตัวอย่างอาหารและแผ่นให้คะแนน (score sheet) ให้ผู้ที่จะทดสอบ และตัดสินผลการทดสอบในแผ่นให้คะแนน
5. นำแผ่นให้คะแนนมาถอดรหัสตัวเลขและตรวจสอบผลการทดสอบที่ได้
6. รวบรวมผลคะแนนที่ได้จากแต่ละตัวอย่าง และวิเคราะห์ผลข้อมูล

แบบทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์ : ผักชีฝรั่งสด (Fresh Culantro Test)

ชื่อผู้ทดสอบ.....

วันที่.....

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยให้คะแนนความชอบในข้อที่ท่านคิดว่าเหมาะสมกับแต่ละตัวอย่าง ตามความรู้สึกทางด้านประสาทสัมผัสของท่าน โดยมีระดับคะแนนดังต่อไปนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบมาก 5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ 8 = ชอบมาก

3 = ไม่ชอบปานกลาง 6 = ชอบเล็กน้อย 9 = ชอบมากที่สุด

ลักษณะ	รหัส 221	รหัส 543	รหัส 875
สี			
กลิ่น			
ลักษณะปรากฏ			
ความชอบโดยรวม			

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

ขอบคุณค่ะ

ภาคผนวก ง

เอกสาร MATERIAL SAFETY DATA SHEET

สารละลาย KILLBACT-SU®

ภาคผนวก ง

เอกสาร MATERIAL SAFETY DATA SHEET

สารละลาย KILLBACT-SU®

1. Product & Company Identification

1.1 Product trade name :	KILLBACT-SU
1.2 Emergency contact :	Quality Assurance Section
	Phone no. 0-23240412 ~ 3 , 0-27093438 ~ 9
	Fax no. 0-2324-0411

2. Information on ingredient

2.1 Ethanol

2.2 Organic Acid

2.3 Sodium lactate

2.4 Mono and diglyceride

3. Hazardous identification

3.1 Adverse human health effects:	Works as an anesthesia with inhalation. Repeated inhalation of the gas causes stimulation of mucous membrane, dizziness and/or headache.
3.2 Environmental effects:	Not available
3.3 Physical and chemical hazards:	Inflammability increases in high temperature. The Mixture of ethanol vapor and air within 3.3-19.0v/v% is explosive.
3.4 Specific hazards:	Not in particular
3.5 Classification of the product:	Not applicable to the standard classification, ATEmix = >2,951 mg/kg.

4. First – aid Measures

4.1 Inhalation:	Remove a patient to the place with fresh air and take arrest. Practice artificial respiration, and have a medical check-up immediately as required.
4.2 Skin contact:	Wash out with plenty of water first, and then use soap.
4.3 Eye contact:	Rinse thoroughly for more than 15 mimutes with plenly of running water immediately, and get medical attention.

4.4 Ingestion:	Gargle with water well, then dilute by drinking of afew cups of water. Induce vomiting if possible and have a medical checkup immediately.
4.5 Important Sympoms (detail of symptoms and effects should be given under heading 11):	In case of inhalation in high concentration, the paralysis of the central nerve , the cyanosis, the cold sense of the limbs, the acceleration of heartbeat, the respiratory stimulation, and the loss of consciousness may be occurred. In the serious case, the lung edema may be occurred.
4.6 Protection of first – aides:	Wear the respiratory protector to avoid the inhalation of the high concentration vapor
4.7 Note to a physician:	Not available

5. Fire Fighting Measures

5.1 Extinguishing media:	In early stage, extinguish all at once with water, powder extinguisher, carbon dioxide or sand. In small amount, the fire is extinguishable by the spraying of water. Due to the antifoaming function of ethanol, the common foam extinguishers without the alcohol-resistant type are not suitable.
5.2 Specific method:	Extinguish with an extinguishing agent and cool down by water spray to avoid the spread of a fire. To prevent the secondary disaster, being the nature of permeability and volatility, remove a victim the flammable substances in the neighborhood immediately.
5.3 Protection of firefighters:	Fireproof or protective clothes, respirators or circulatory oxygen masks rubber gloves and rubber boots

6.Accidental release measures

6.1 Personal precaution:	Wipe or wash out floors to prevent the slipping. If much vapor, put them down by the water spray.
6.2 Environmental precautions:	Prevent flowing into the river to avoid the environmental influence. When diluted with plenty of water, treat without environmental pollution

6.3 Methods for cleaning up:	- small amount: Wash out with plenty of water -Large amount: Keep in banking to prevent outflow and collect.

7. Handling and Storage

7.1Handling:

-Technical measures (prevention of user exposure and prevention of fire and explosion	Wear the suitable protective equipments (mask, gloves, and goggles) to avoid inhalation, direct contact to skin and eyes. Keep out without staffs. Take anti-static measures for equipment and machines.
-Precautions for safe handling of the chemical product	Use the closed equipments and machines or use the on-site ventilator. Handle at a well-ventilated place.
-Safe handling advice	Keep away from the fire and the possible source of heat. Do not heat and vaporize.

7.2 Storage

-Technical measures and storage conditions	Store in a cool, dark and and well-ventilated place. Keep off the fire and the source of heat.

8. Exposure control & Personal protection

8.1 Engineering measures to reduce exposure	Use the closed equipments and the machines or the on-site ventilator. Install shower-booth, washstand and eye-cleaning facility.
8.2 Control parameters	Not fixed.
8.3 Personal protective equipment	
- Respiratory protection	Protective mask while spraying.
- Hand protection	Normal: Impermeable rubber gloves and apron, safety shoes.
- Eyes protection	In high concentration: rubber gloves and apron, safety shoes.
- Skin and body protection	Goggles and gas mask.
8.4 Hygiene measures	No information

9. Physical and Chemical Properties

9.1 Physical state	
- Appearance	Transparent liquid
- Color	Colorless
- Odor	Aromatic
9.2 pH	3.9 ~ 4.5
9.3 Specific temperature	Not available
- Boiling point/Melting Point	
9.4 Decomposition temperature	Not available
9.5 Explosion properties and Flash Point	Not available
9.6 Specific gravity	0.915-0.933
9.7 Solubility	Soluble in water and ether

10. Stability and Reactivity

10.1 Conditions to avoid	Stable in normal works. Inflammability increases in high temperature. Explosive by heating.
10.2 Materials to avoids	Weakly corrosive with Iron, Copper, Blass

11. Toxicological Information

Any data on KILLBACT-SU is not available.

100% Ethanol	LD_{50} (Man, Oral): 1,400 mg/kg
	LD_{50} (Rats, Oral): 7,060 mg/kg

12. Ecological information

Any data on KILLBACT-SU is not available.

12.1 Mobility	No information is available.
12.2 Persistence / Degradability	Ethanol: - BOD5; 0.93-1.67 mg/mg (as 100%) - COD5; 1.99-2.11 mg/mg (as 100%) Lactic acid: - 48Hr-EC50-Daphnia magna; 240 mg/L

	- IC50 72h Algae; 3,500 mg/L
	- COD5; 0.90 mg O2/mg
	- BOD5; 0.45 mg O2/mg
	- Biodegradable
	Sodium Lactate:
	- 48Hr-EC50-Daphnia magna; >10,000 mg/L
	- Biodegradable
	Gulcono-delta-lactone;
	- Expected to be readily biodegradability.
	Glycerol monocaprylate;
	- No data but expected good biodegradability.
	Glycerol monocaprate;
	- No data but expected good biodegradability.
12.3 Bioaccumulation	Sodium lactate: None under normal condition.
12.4 Environmental impact/Ecotoxicity	Ethanol:
- Toxicity to fish	- 96LC50; 18-13.4 g/L (crap, as 100%)

13 Disposal conciderations

13.1 Waste from residues	Incinerate by fire in the incinerator with afterburner and scrubber. Take care to ignite as high in flammability. Treat under an activated sludge method before disposal.
13.2 Contaminated packing	-

14 Transportation information

(Codes and classifications)

14.1 International regulations - UN category	Class 3 (High flash point inflammable liquid, Package class; 3)
14.2 UN Number	1993
14.3 Specific precautionary transport measures and conditions	Make sure that a container and packing is not wet. Place with careful attention to keep a right position.

15. Regulation information

15.1 Regulation specifically applicable to the chemical product	Pollutant release and transfer register (PRTR) : Not applicable Article 57-2 of Industrial Safety and Health Law : Ethanol have
15.2 Hazard and safety information as written on the label	

ประวัติผู้วิจัย

นางสาววราภรณ์ แก้วเที่ยง เกิดเมื่อวันที่ 20 มกราคม 2525 ที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร ปีการศึกษา 2546 ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาสุขาภิบาลอาหารปี พ.ศ. 2549 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2554

ประวัติการทำงาน

ธันวาคม พ.ศ. 2547	เจ้าหน้าที่ฝ่ายประกันคุณภาพ บริษัทเซ็นทรัล ฟู้ด รีเทล จำกัด
พฤศจิกายน พ.ศ. 2551	Technical manager – Produce บริษัทเอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเทม จำกัด
การนำเสนอผลงาน	วราภรณ์ แก้วเที่ยง และรศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักจากตลาดค้าส่งในจังหวัดปทุมธานี การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ประจาปี พ.ศ. 2554 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์