ผลของ KILLBACT-SU® และกรดเปอร์อะซิติก ต่อเชื้อ *Salmonella* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*)

EFFECT OF KILLBACT-SU® AND PERACETIC ACID ON *SALMONELLA* STANLEY IN CHERRY TOMATO (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) SKIN

นางสาวสาธิตา รุ่งอรุโณทัย
SATITA RUNGARUNOTHAI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2554

KMITL-2011-AI-M-054-124

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของ KILLBACT-SU®และกรดเปอร์อะซิติก ต่อเชื้อ *Salmonella* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*)

EFFECT OF KILLBACT-SU® AND PERACETIC ACID ON *SALMONELLA* STANLEY IN CHERRY TOMATO (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) SKIN

นางสาวสาธิตา รุ่งอรุโณทัย

SATITA RUNGARUNOTHAI

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 120070
วัน, เดือน, ปี 1 ก.ย. 2555

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

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2554

KMITL-2011-AI-M-054-124

EFFECT OF KILLBACT-SU® AND PERACETIC ACID ON *SALMONELLA* STANLEY IN CHERRY TOMATO (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) SKIN

SATITA RUNGARUNOTHAI

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-054-124

COPYRIGHT 2011

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของ KILLBACT-SU®และกรดเปอร์อะซิติก ต่อเชื้อ *Salmonella* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*)
นักศึกษา	นางสาวสาธิตา รุ่งอรุโณทัย
รหัสประจำตัว	49068768
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2554
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

บทคัดย่อ

การทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ที่พบในมะเขือเทศเชอรี่ด้วยสารฆ่าเชื้อได้แก่ สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 25% 50% และ 75% สารละลายกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm เทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งเป็นน้ำกลั่นปลอดเชื้อ โดยการศึกษาเบื้องต้นด้วยวิธี agar well diffusion assay พบว่าทุกความเข้มข้นของสารละลายทั้งสองที่ใช้ศึกษาสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley ได้ โดยที่ความเข้มข้นของสารละลายที่สูงขึ้นจะพบโซนในการยับยั้งที่กว้างขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยการศึกษาในระดับหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 5 10 และ 15 นาที การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley สายพันธุ์ที่ถูกพบมาจากมะเขือเทศพันธุ์สีดา (*Lycopersicon esculentum*) พบว่าสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 25% ระยะเวลาในการบ่ม 1 5 10 และ 15 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley ได้ 3.72 – 4.01 log cfu/ml อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($P \leq 0.05$) ในขณะที่สารละลาย KILLBACT-SU® 50% และ 75% ที่ระยะเวลา 1 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อได้อย่างสมบูรณ์อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ด้วยเช่นเดียวกันสำหรับสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 20 ppm ปริมาณเชื้อเหลือรอดเมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างควบคุมไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษา ขณะที่สารละลายกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 40 ppm บ่มเป็นเวลา 1 5 10 และ 15 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 1.23 - 2.01 log cfu/ml สำหรับสารละลายกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น60 ppm ไม่พบเชื้อ *S.* Stanley เมื่อบ่มเชื้อนาน 15 นาที จากผลการทดลองเบื้องต้นในระดับหลอดทดลอง ได้เลือกระดับความเข้มข้น และระยะเวลาสัมผัสที่ดีที่สุดในการฆ่าเชื้อมาศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อ

เชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ โดยแบ่งระดับการปนเปื้อนออกเป็น 2 ระดับ คือ การปนเปื้อนที่ระดับความเข้มข้นสูง (5.42 log cfu/g) และ การปนเปื้อนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (2.94 log cfu/g) จากผลการทดลองการปนเปื้อนที่ระดับความเข้มข้นสูง พบว่าสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 5 10 และ 15 นาที ปริมาณเชื้อจะลดลง 1.71 – 3.91 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น และที่ความเข้มข้น 75% ระยะเวลาสัมผัส 1 5 และ 10 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 2.84 – 3.93 log cfu/g และไม่พบเชื้อที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ในขณะที่สารละลายกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 60 ppm ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที นำมาทำการล้างจะพบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ 3.06 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P \leq 0.05$) จากผลการทดลองการปนเปื้อนของเชื้อในระดับปริมาณต่ำ (2.94 log cfu/g) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 และ 5 นาที ปริมาณเชื้อลดลง 0.89 – 1.98 log cfu/g ในขณะผลการทดลองที่ระยะเวลา 10 และ 15 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะผลการทดลองที่ความเข้มข้น 75% ระยะเวลาสัมผัส 1 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 1.01 log cfu/g และที่ตั้งแต่ระยะเวลา 5 นาที ถึง 15 นาที สามารถทำลายเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ในขณะที่สารละลายกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 60 ppm ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ลดลง 1.95 log cfu/g ระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อและระยะเวลาในการสัมผัสเป็นปัจจัยร่วมกันซึ่งส่งผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อ *S.* Stanley เพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นด้านการยอมรับคุณภาพของมะเขือเทศหลังจากทำความสะอาดด้วยสารฆ่าเชื้อ จึงทำการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของมะเขือเทศหลังจากที่ทำการล้างด้วย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% เวลาสัมผัส 10 นาที และ 75% เวลาสัมผัส 5 นาที สารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm เวลาสัมผัส 15 นาที เปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่างควบคุม ที่ล้างด้วยน้ำประปาเวลาสัมผัส 10 นาที โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ผลการทดลองพบว่า คุณภาพเรื่องสี และลักษณะปรากฏ ของตัวอย่างมะเขือเทศซึ่งล้างด้วยวิธีการทั้ง 3 วิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการล้างด้วยน้ำประปา คุณภาพทางด้านกลิ่นพบว่า KILLBACT-SU® 75% นาน 5 นาที มีคะแนนน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำประปา แต่คะแนนการยอมรับโดยรวมยังอยู่ในเกณฑ์คุณภาพดี ในขณะที่อีก 2 วิธีการไม่มีความแตกต่างกับตัวอย่างที่ล้างด้วยน้ำประปาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

Thesis Title	Effect of KILLBACT-SU® and Peracetic acid on *Salmonella* Stanley in Cherry Tomato (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*) Skin.
Student	Miss Satita Rungarunothai
Student ID	49068768
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2011
Thesis Advisor	Asso. Prof. Dr. Adisorn Swetwiwathana

ABSTRACT

The effect of KILLBACT-SU® (25%, 50% and 75%) and peracetic acid (20, 40 and 60 ppm) on *S.* Stanley, which was reported to contaminate in Cherry tomato, compared to the control of sterile distilled water, was prior studied using agar well diffusion assay. The results revealed that all studied concentrations of both disinfectants could inhibit the growth of *S.* Stanley and the highest concentration of each disinfectant exhibited the widest inhibition zone with significantly difference in statistic ($P \leq 0.05$). To confirm this inhibitory effect of both studied disinfectants on *S.* Stanley, an in-vitro test with various concentrations of KILLBACT-SU® (25%, 50% and 75%) and peracetic acid (20, 40 and 60 ppm) against *S.* Stanley compared to the control treatment (sterile distilled water without disinfectant) was studied under the contact time for 1, 5, 10 and 15 min at room temperature. The results revealed that KILLBACT-SU® 25% could eliminate 3.72 – 4.01 log cfu/ml of *S.* Stanley within 1, 5 and 15 min, while KILLBACT- SU® 50% and 75% could completely eliminate the *S.* Stanley within 1 min ($P \leq 0.05$). When compared to the control treatment, The treatment with 20 ppm peracetic acid showed no statistically significant ($P > 0.05$) on the number of survival *S.* Stanley, while treatment with 40 ppm peracetic acid was able to reduce *S.* Stanley 1.23-2.01 log cfu/ml and treatment with 60 ppm peracetic acid could completely eliminate all *S.* Stanley cells within 15 min. Regarding to the results of aforementioned in-vitro study, the best concentration of each disinfectant (KILLBACT-SU® 50% and 75%, and peracetic acid 60 ppm) and contact time (1, 5, 10 and 15 min) were studied for the efficacy of both disinfectants on *S.* Stanley in tomato skin. The *S.* Stanley contamination in tomato was divided into two levels : high contamination level (5.42 log cfu/g) and

low contamination level (2.94 log cfu/g). According to the high level of *S.* Stanley contamination in tomatoes (5.42 log cfu/g), the results showed that KILLBACT-SU® 50% within contact time 1, 5, 10 and 15 min could reduce 1.71 – 3.91 log cfu/g *S.* Stanley from initial loaded, while KILLBACT-SU® 75% within contact time 1, 5 and 10 min could eliminate 2.84 – 3.93 log cfu/g and completely eradicate *S.* Stanley at the same concentration within 15 min. Meanwhile, the use of peracetic acid 60 ppm with contact time 15 min showed significantly difference in reduction of *S.* Stanley for 3.06 log cfu/g ($P \leq 0.05$). The treatments of low level of *S.* Stanley contamination (2.94 log cfu/g) were implied that KILLBACT-SU® 50% within contact time 1 and 5 min could reduce 0.89-1.98 log cfu/g, while the treatments which exposed to the same concentration of this infectant for 10 and 15 min could completely eradicate the same amount of *S.* Stanley. The higher concentration of KILLBACT-SU® upto 75% for 1 min of contact time could reduce by the amount of *S.* Stanley to 1.01 log cfu / g. The same concentration of this disinfectant could completely eradicate *S.* Stanley within 5 - 15 min, while using peracitric acid 60 ppm with contact time 15 min could reduce *S.* Stanley only 1.95 log cfu/g. Thus, it can be concluded that the concentration of each disinfectant and exposure time are the factors which affect the reduction of *S.* Stanley. In order to raise the confidence concerned to the quality acceptance of tomatoes after washing step using each disinfectant, the sensory test of tomatoes after washing with 50% KILLBACT-SU® 50% for 10 min, tomatoes after washing with 75% KILLBACT-SU® for 5 min, and tomatoes after washing with 60 ppm of Peracetic acid for 15 min compared to the control sample of tomatoes after washing with tap water for 10 min and stored at 3-4^{0}C for the 7 days was conducted. The results implied that the quality of color and appearance of tomatoes among three washing treatments did not show significantly different in statistic ($P > 0.05$) compared to samples that have been washed with tap water. The samples which washed with 75% KILLBACT-SU® for 5 min showed significantly different in lowest score ($P \leq 0.05$) for odor when compared with tap water, but the score of overall acceptance r emain good, while the other two washing treatment's samples showed no significantly difference ($P > 0.05$) when compared to the samples which washed with tap water.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย ที่กรุณาให้ความรู้ แนวคิด คำปรึกษา และข้อเสนอแนะในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนการแก้ไขปัญหาต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้ รวมถึงตรวจแก้ไขรูปเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบรูณ์ อีกทั้งยังให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.กิตติชัย บรรจง ดร.อพัชชา จินดาประเสริฐ อาจารย์คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ รศ.สพ.ญ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และกรุณาให้คำแนะนำเพิ่มเติมที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องยิ่งขึ้น

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

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ ตลอดจนเพื่อนนักศึกษาสาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกให้ข้อมูล คำแนะนำ และช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัยเป็นอย่างดี สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คุณแม่เกษมสุข รุ่งอรุโณทัย คุณยายยี่บ่วย แซ่เฮง สำหรับความรักความเอาใจใส่สนับสนุนช่วยเหลือทางด้านการศึกษาและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา ประโยชน์อันใดที่ได้จากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงใคร่ขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

สาธิตา รุ่งอรุโณทัย

ปี 2554

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

กิตติกรรมประกาศ V

สารบัญ VI

สารบัญตาราง X

สารบัญภาพ XIII

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย 1

1.2 ขอบเขตของงานวิจัย 3

1.3 วัตถุประสงค์ 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะเขือเทศ 5

2.2 ชนิดของจุลินทรีย์ทำให้เกิดโรคที่พบในผักผลไม้ 5

2.3 แหล่งของจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้เกิดโรคเนื่องจากผักผลไม้เป็นพาหะ 7

2.4 ความสำคัญของเชื้อ *Salmonella* 8

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของ *Salmonella* 8

2.4.2 แหล่งที่อยู่อาศัยของ *Salmonella* 10

2.4.3 ความสามารถในการทำให้เกิดโรค 12

2.4.4 การปนเปื้อน *Salmonella* ในผักผลไม้สด 14

2.5 การศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* 16

2.6 กรดเปอร์อะซิติก (Peracetic Acid) 19

2.6.1 คุณสมบัติของกรดเปอร์อะซิติก 19

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.2 กลไกลการยั้บยั้งจุลินทรีย์ของกรดเปอร์อะซีติก 21

2.6.3 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของกรดเปอร์อะซีติก 21

2.6.3.1 ความเข้มข้น 23

2.6.3.2 ความเป็นกรด-ด่าง 26

2.6.3.3 ผลของอุณหภูมิ 26

2.6.3.4 ผลของปัจจัยอื่นๆ 27

2.6.4 การใช้กรดเปอร์อะซิติกในการฆ่าเชื้อในผักและผลไม้ 28

2.7 สารละลาย KILLBACT-SU® 29

บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย 33

3.2 อุปกรณ์การทดลอง 33

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ 33

3.4 สารเคมี 34

3.5 เชื้อจุลินทรีย์ 34

3.6 วิธีการทดลอง 34

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อที่สภาวะเหมาะสม

ต่อการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley 40

4.1.1 การศึกษาผลความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อต่อการยับ

ยั้งเชื้อ *S.* Stanley โดยวิธีการ Agar well diffusion assay 40

4.1.1.1 ผลของ KILLBACT-SU® ต่อ *S.* Stanley 40

4.1.1.2 ผลของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ต่อ *S.* Stanley 42

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อ
การยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ในหลอดทดลอง 44
4.1.2.1 ผลของสารละลาย KILLBACT-SU ต่อ *S.* Stanley
ในหลอดทดลอง 44
4.1.2.2 ผลของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ต่อ *S.* Stanley
ในหลอดทดลอง 46
4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley
บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ 48
4.2.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley ที่มีการปนเปื้อน
ของเชื้อในระดับปริมาณสูงบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ 48
4.2.1.1 ผลของสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อ *S.* Stanley
ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ 48
4.2.1.2 ผลของสารละลายกรดเปอร์อะซิติกต่อ *S.* Stanley
ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ 53
4.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley ที่มีการปนเปื้อน
ของเชื้อในระดับปริมาณต่ำบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ 56
4.2.2.1 ผลของสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อ *S.* Stanley
ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ 56
4.2.2.2 ผลของสารละลายกรดเปอร์อะซิติกต่อ *S.* Stanley
ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ 61
4.3 การศึกษาผลทางด้านประสาทสัมผัสของมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 63

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง 65

5.2 ข้อเสนอแนะ 66

บรรณานุกรม 68

ภาคผนวก

ก สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 82

ข การเตรียมสารละลายกรดเปอร์อะซิติก 86

ค การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส 89

ง เอกสาร MATERIAL SAFETY DATA SHEET สารละลายกรดเปอร์อะซิติก 92

ประวัติผู้วิจัย 99

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารประเภท ผัก ผลไม้ สลัด และส้มตำ 7
2.2 ค่าความเสถียรของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก 5% ภายใต้การเก็บรักษาที่
สภาพแวดล้อมต่างๆ 20
2.3 ประสิทธิภาพการลดสปอร์ของสารประกอบกรดเปอร์อะซีติก 22
2.4 กิจกรรมของสารประกอบกรดเปอร์อะซิติก 23
2.5 ผลของความเป็นกรด-ด่าง ต่อการเหลือรอดของจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์
(*B. subtilis* ATCC 9372) ที่ 0.03% ของกรดเปอร์อะซิติก 26
2.6 การเหลือรอดของเชื้อที่ผสมกันระหว่าง *L. monocytogenes*
และ *Pseudomonas* ในชั่วโมงที่ 4 ที่มีสารละลายนม 5% 27
2.7 ผลความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกต่อการเหลือรอด
แบคทีเรียสร้างสปอร์ (*B. subtilis* ATCC 9372) 28
2.8 การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวอุปกรณ์ประกอบอาหาร 29
2.9 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ระหว่าง
KILLBACT-SU® และ Ethanol ที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 นาที 30
2.10 ผลการล้างผักด้วย KILLBACT-SU® ต่อเชื้อ Total Plate Count (CFU/g., CFU/Piece) 31
2.11 ผลการล้างผักด้วย KILLBACT-SU® ต่อเชื้อ *E. coli* (CFU/g., CFU/Piece) 32
4.1 ผลการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ของสารละลาย KILLBACT-SU®
เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control) โดย agar well diffusion assay 41
4.2 ผลการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ของ สารละลายกรดเปอร์อะซิติก
เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น โดย agar well diffusion assay 43
4.3 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/ml) ที่เหลือรอดในหลอด สารละลายเปปโตน 0.1%
(control) และหลอดสารละลายเปปโตน 0.1% ที่ผสมสารละลาย KILLBACT-SU®
ความเข้มข้น 25% 50% และ75% 45

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.4 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/ml) ที่เหลือรอดในหลอดสารละลายเปปโตน 0.1% ผสมสารสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm 47

4.5 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 5.42 log cfu/g) 50

4.6 ปริมาณเชื้อ TPC (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ที่ผ่านการล้างด้วยล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และ สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 6.02 log cfu/g) 52

4.7 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm นาน 15 นาที ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง 55

4.8 ปริมาณเชื้อ TPC (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm นาน15 นาที ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง 55

4.9 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น50% และ 75% ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 2.94 log cfu/g) 58

4.10 ปริมาณเชื้อ TPC (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ(เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 4.11 log cfu/g) 60

4.11 ปริมาณเชื้อ S. Stanley (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm นาน15 นาที ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ 62

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.12 ปริมาณเชื้อ TPC (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่
ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก
ความเข้มข้น 60 ppm นาน15 นาที ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ 62
4.13 แสดงผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของมะเขือเทศเชอรี่
ที่ผ่านการล้างน้ำประปา สารละลายกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm
สารละลาย KILLBACT-SU® 50% และ 75% 64

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 การเกิปฏิกิริยาแคตตาไลท์ของ กรดอะซิติก และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 20
4.1 ขนาดของโซนใสของการยับยั้ง *S.* Stanley ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU®
ที่ระดับความเข้มข้น 25% 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control)
โดย agar well diffusion assay 42
4.2 ขนาดของโซนใสของการยับยั้ง *S.* Stanley ด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก
ที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น
(control)โดย Agar well diffusion assay 44
4.3 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley (log CFU/g.) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่
(ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง) โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU®
ความเข้มข้น 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control)
ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที) 50
4.4 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log CFU/g) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่
(ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง) โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU®
ความเข้มข้น 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control)
ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที) 52
4.5 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley (log CFU/g) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่
(ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ) โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU®
ความเข้มข้น 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control)
ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที) 58
4.6 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log CFU/g) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่
(ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ) โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU®
ความเข้มข้น 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control)
ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที) 60

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ผักและผลไม้สด ได้รับความนิยมและมีการบริโภคเพิ่มมากขึ้น ในอาหารไทยหลากหลายเมนู นิยมรับประทานควบคู่กับผักสดหรือนำผักสดมาตกแต่งอาหาร มะเขือเทศเป็นผักที่นิยมบริโภคสด ไม่ว่าจะรับประทานเป็นแบบสลัดผัก ยำหลากหลายชนิด น้ำผักผลไม้ รวมทั้งนำไปจัดตกแต่งบนจานอาหาร เป็นต้น อย่างไรก็ตามปัญหาการระบาดของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในผักสดพร้อมบริโภคมักเกิดขึ้นได้บ่อยๆ ดังนั้นหากมีการบริโภคผักสดที่ผ่านกระบวนการไม่ถูกสุขลักษณะ เชื้อโรคที่หลงเหลือในผักสดจะก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสาธารณสุข การเจ็บป่วย และการแพร่ระบาดของเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ โดยสาเหตุส่วนใหญ่มักเกิดจากการล้างอย่างไม่ถูกวิธี มีการปนเปื้อนข้ามของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรค ซึ่งมาจากผู้ปฏิบัติงาน อุปกรณ์ เครื่องมือ และการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ติดมากับผัก ไม่ว่าจะเป็นการใช้ปุ๋ย น้ำที่ใช้รดผัก ดังนั้นจึงต้องหาวิธีการในการล้างเพื่อทำให้มั่นใจว่าผักที่จะบริโภคนั้นมีความสะอาดและปลอดภัย

เหตุการณ์การเกิดโรคระบาดซึ่งมีสาเหตุมาจากผักที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น ในปัจจุบันเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคและเป็นสาเหตุในการเกิดโรคระบาดมีทั้ง แบคทีเรีย (*Salmonella* และ *Escherichia coli*) ไวรัส (*Norwalk*-like, *hepatitis A*) และปรสิต (*Cryptosporidium, Cyclospora*) (Tauxe และคณะ, 1997) ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2547 ประเทศสหรัฐอเมริกา เกิดการระบาดของเชื้อ *Salmonella* สายพันธุ์ Javiana Typhimurium Anatum Thompson และ Muenchen โดยพบผู้ป่วย 429 คน จากทั้งหมด 9 รัฐ เนื่องจากรับประทานมะเขือเทศสดชนิด Roma ในอาหารสำเร็จรูป (CDC, 2005) ในช่วงปลายเดือนตุลาคม พ.ศ. 2549 เกิดการระบาดของเชื้อ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนมากับมะเขือเทศสด และนำมาประกอบอาหารในร้านอาหารและภัตตาคารมากกว่า 21 รัฐ ในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยพบผู้ป่วย 183 ราย (สถาบันอาหาร, 2549) และเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2551 ประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่ามีการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษจากการรับประทานมะเขือเทศสีแดงสด CDC ในปี พ.ศ. 2551 รายงานว่าจากเหตุการณ์นี้มีผู้ป่วยจำนวน 1,300 ราย จาก 43 รัฐ โดยเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษครั้งนี้ ได้แก่ เชื้อ *S.* Saintpaul และพันธุ์ของมะเขือเทศที่พบเชื้อ ได้แก่ Red Plum tomato Red Roma tomato และ Round Red Tomato เป็นต้น สาเหตุการปนเปื้อนเชื้อเนื่องจากกระบวนการเก็บเกี่ยวมะเขือเทศในช่วงอากาศร้อน ผู้เก็บเกี่ยวจะแช่มะเขือเทศในน้ำเย็นหลังจากการเก็บเกี่ยวจากต้น ซึ่งทำให้เชื้อ

Salmonella spp. ซึมผ่านผิวสู่ด้านในเนื้อของมะเขือเทศได้ (สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ, 2551)

นอกจากนี้การเกิดโรคระบาดในผักและผลไม้ที่มีสาเหตุมาจาก *S.* Stanley มีความสำคัญดังนี้

ในปี ค.ศ. 2007 ประเทศสวีเดน alfalfa sprouts เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคระบาดของเชื้อ *S.* Stanley มีผู้ป่วยจำนวน 51 ราย โดยมีแหล่งที่มาจากหลากหลายร้านค้า และร้านอาหาร ซึ่งถูกกระจายมาจากสถานที่ผลิตขนาดใหญ่ในตอนใต้ของสวีเดน (Werner, 2007) ในปี ค.ศ. 1995 การระบาดของเชื้อ *S.* Stanley ใน alfalfa sprouts ที่เกิดขึ้นในประเทศฟินแลนด์และประเทศสหรัฐอเมริกาในระหว่างเดือนมีนาคมจนถึงเดือนมิถุนายนของปีมีการเพิ่มขึ้นของการเจ็บป่วยในรัฐ Arizona, Michigan และประเทศฟินแลนด์ จนถือได้ว่าโรคนี้มีการระบาดอยู่ในระดับนานาชาติ (Mahon และคณะ, 1997)

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์โดยสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 14 แห่งทั่วประเทศ ได้ทำการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในมะเขือเทศสด จากตลาดสด 36 แห่งทั่วทุกภาคของประเทศ จำนวน 172 ตัวอย่าง พบปนเปื้อนเชื้อนี้เพียง 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.58 (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2008) อรุณ และคณะ (2551)ได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในมะเขือเทศโดยทำการเก็บตัวอย่างมะเขือเทศ 3 พันธุ์ คือ ราชินี ท้อ และสีดา อย่างละ 30 ตัวอย่าง จากห้างสรรพสินค้า 10 แห่ง ตลาดสด 10 แห่ง และตลาดนัด 10 แห่ง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ใช้อากาศสูงกว่าข้อกำหนด (>6 log) 14 15 และ15 ตัวอย่าง ตามลำดับ และพบ *S.* Stanley ในพันธุ์สีดา จากตลาดสด 1 ตัวอย่าง

การล้างทำความสะอาดผักจะเป็นการช่วยลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค แต่กระบวนการล้างผักสดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียวอาจยังไม่เพียงพอในการที่จะลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จึงมีผู้ศึกษาการใช้สารเคมีโดยสารเคมีที่มักนิยมใช้ ได้แก่ สารประกอบคลอรีนเช่น แก๊สคลอรีน (Cl_2) แคลเซียมไฮโปรคลอไรท์ ($CaOCl_2$) โซเดียมไฮโปรคลอไรท์ (NaOCl) และคลอรีนไดออกไซด์ (ClO_2) แต่พบว่า สารประกอบคลอรีนมีข้อจำกัดบางประการ กล่าวคือ ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนจะลดลงในสภาวะที่เป็นด่าง เมื่อรวมตัวกับสารอินทรีย์ในอาหารทำให้เกิดสารประกอบที่เป็นพิษขึ้น เช่น สารไตรแฮโลมีเธน (Lin และคณะ, 1996) และเป็นสารเคมีตกค้างในน้ำเสียที่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนต่อสิ่งแวดล้อม (Cherry, 1999) นอกจากนี้ สารประกอบคลอรีนมีฤทธิ์กัดกร่อน และเป็นอันตรายต่อผิวหนัง จึงมีการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้ง และทำลายจุลินทรีย์จากสารเคมีชนิดอื่นๆ แทนการใช้สารประกอบคลอรีน เช่น กรดอินทรีย์ (Thomson และคณะ, 1976) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Lillard และ Thomson, 1985) เป็นต้น ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ที่ปนเปื้อนบนมะเขือเทศ โดยเลือกใช้สารละลายกรดเปอร์อะซิติก และสารละลาย

KILLBACT-SU® มาใช้ในการล้างผักเพื่อให้ผักมีคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด เนื่องจากสาร 2 ชนิดนี้ ได้มีการอนุญาตให้ใช้สัมผัสกับพื้นผิวของอาหาร หรือพื้นผิวของวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ผลิตและประกอบอาหาร ไม่มีคุณสมบัติในการกัดกร่อนแสตนเลส อลูมิเนียม ย่อยสลายได้เองไม่เป็นพิษในอาหารและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ไม่ก่อให้เกิดสารก่อมะเร็งที่ตกค้างอยู่บนพื้นผิวผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อม

1.2 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 20 40 และ 60 ppm และสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 25 50 และ 75% ระยะเวลา 1 5 10 และ 15 นาที ต่อปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ที่เชื้อเริ่มต้น 10^6CFU/ml ในระดับหลอดทดลอง หลังจากนั้นนำผลข้อมูลที่ได้เบื้องต้นไปทำการศึกษาวิธีการล้างตัวอย่างมะเขือเทศที่ซื้อจากห้างสรรพสินค้าโดยทำการบ่มเชื้อเริ่มต้นที่ 10^6 CFU/g (การปนเปื้อนเชื้อในระดับสูง) และ 10^3 CFU/g (การปนเปื้อนเชื้อในระดับต่ำ) ล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก และสารละลาย KILLBACT-SU® ตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมด้วยวิธีการจุ่มพร้อมเขย่าถุงเบาๆ ทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อเหลือรอดบนผิวมะเขือเทศและน้ำที่ผ่านการล้างก่อนจะปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก พร้อมทั้งศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสของมะเขือเทศหลังผ่านการล้าง

1.3 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก และสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อการฆ่าเชื้อ *S.* Stanley ในระดับหลอดทดลอง
2. ศึกษาประสิทธิภาพความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อและระยะเวลาที่คัดเลือกต่อเชื้อ *S.* Stanley ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศ
3. ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสของมะเขือเทศ หลังผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก และสารละลาย KILLBACT-SU®

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนเชื้อ *S.* Stanley ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศ ทำให้เกิดความปลอดภัยในการรับประทานมะเขือเทศโดยการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® และ สารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ระยะเวลาและความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านประสาทสัมผัส

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะเขือเทศ

มะเขือเทศเชอร์รี่มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* มะเขือเทศเป็นพืชล้มลุกวงศ์มะเขือ นำเข้าในประเทศไทยจึงได้ชื่อว่ามะเขือเทศ มีลำต้นตั้งตรง มีลักษณะเป็นพุ่ม มีขนอ่อนๆ ปกคลุมลำต้น ใบ เป็นใบประกอบแบบสลับ ใบย่อยมีขนาดไม่เท่ากัน บางใบเล็กรียาว บางใบกลมใหญ่ ปลายใบแหลม ขอบใบเป็นหยักลึกคล้ายฟันเลื่อยมีขนอ่อนคลุม ดอก เป็นช่อหรือดอกเดี่ยว บริเวณซอกใบ ดอกมีสีเหลือง มีกลีบเลี้ยงสีเขียว ผล เป็นผลเดี่ยว มีขนาดรูปร่างและสีต่างกัน รูปร่างมีทั้งกลม หรือกลมรี เปลือกผล บางเป็นมัน ผลดิบมีสีเขียว หรือเขียวอมเทา เมื่อสุกจะมีสีเหลือง สีส้ม หรือสีแดง เนื้อภายในฉ่ำด้วยน้ำมีรสอมเปรี้ยว มีเมล็ดจำนวนมาก มะเขือเทศเชอร์รี่มักใช้กินเป็นอาหารว่างหรือใส่ในอาหารจานสลัดมะเขือเทศที่มีผลรูปไข่และมีขนาดโตขึ้นมาอีกหน่อยก็เป็นส่วนประกอบที่ขาดไม่ได้ของส้มตำอาหารไทยยอดฮิต มะเขือเทศเป็นแหล่งธาตุโพแทสเซียม สารโฟเลต วิตามินเอ ซี และ อี ที่ดี มีปริมาณโพแทสเซียมและโฟเลตในปริมาณใกล้เคียงกับผักยอดนิยมหลายชนิด แต่มีวิตามินซี และอัลฟ่าโทโคฟีรอลมากกว่าผักอื่นๆ นอกจากประโยชน์ด้านสารอาหารแล้ว มะเขือเทศยังมีสารประกอบทุติยภูมิที่มีประโยชน์ต่อร่างกายคือ กลุ่มคาโรทีนอยด์ และโพลีฟีนอล สารเด่นในกลุ่มคาโรทีนอยด์คือ ไลโคพีน และบีตาแคโรทีน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ นอกจากนี้ มะเขือเทศมีสารฟลาโวนอยด์มากในรูปของกลุ่มฟลาโวนอล โดยพบมากที่สุดในผิวมะเขือเทศเป็นร้อยละ 98 ของฟลาโวนอลทั้งหมด ในผลมะเขือเทศสารที่พบคือ เควอร์เซติน (quercetin) และแคมป์ฟีรอล (kaempferol) ส่วนสารไลโคพีนนั้นพบในมะเขือเทศมากกว่าผักผลไม้อื่น นักวิจัยเชื่อว่าสารประกอบทุติยภูมิเหล่านี้มีส่วนช่วยลดอุบัติการของโรคหลอดเลือดหัวใจและมะเร็งต่อมลูกหมาก (สุธาทิพ, 2552)

2.2 ชนิดของจุลินทรีย์ทำให้เกิดโรคที่พบในผักผลไม้

ในระยะเวลาสองทศวรรษที่ผ่านมา การบริโภคผักและผลไม้สดที่ผ่านการแปรรูปขั้นต้น (Minimally processed produce) ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องจากผู้บริโภคตระหนักถึงความสำคัญต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์หาซื้อได้ง่ายและสะดวกต่อการเตรียมอาหาร แต่ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคติดต่อในประเทศสหรัฐอเมริกา หรือ CDC (Centers for Disease Control) รายงานว่าระหว่างช่วงปี

ค.ศ. 1973-1987 และ ค.ศ. 1988-1991 พบการระบาดของโรคเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า และพบจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 เท่า (Tauxe และคณะ, 1997) โดยในปี ค.ศ. 1982 พบผู้ป่วยโรคทางเดินอาหารที่มีสาเหตุจากการรับประทานผักและผลไม้จำนวน 25 ราย จากผู้ป่วยโรคทางเดินอาหารทั้งหมด 279 ราย หรือคิดเป็น 9% (Doyle, 1990) ซึ่งสาเหตุของโรคทางเดินอาหารดังกล่าวเกิดจากการรับประทานผักผลไม้ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคจากแหล่งต่างๆ

ผักสดที่ยังไม่ผ่านการแปรรูป มีจำนวนจุลินทรีย์ตามธรรมชาติสูงกว่า 10^6 CFU/g. ส่วนจุลินทรีย์ในผักที่ผ่านกระบวนการแปรรูปขั้นต่ำอาจสูงถึง 10^9 CFU/g. ในจำนวนนี้พบจุลินทรีย์ชนิดก่อให้เกิดโรคเนื่องจากการบริโภคอาหารรวมอยู่ด้วย ได้แก่ *Listeria monocytogenes, Yesinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila, Staphylococcus aureus,* enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Shigella* spp. และ *Salmonella* spp. (Hurst และ Schuler, 1992; Zhuang และคณะ,1995; Odumeru และคณะม 1997; Hagenmaier และ Baker,1998) ซึ่ง Brackett (1992) ได้สรุปชนิดของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของผักผลไม้สด แบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Shigella* spp., *Salmonella* spp. และ *L. monocytogenes* เนื่องจากมีการระบาดครั้งใหญ่ในแบคทีเรียทั้งสามชนิดในผักกาดแก้วหั่นชิ้น มะเขือเทศและโคลสลอว์ ตามลำดับ (Schlech และคณะ, 1983; Davis และคณะ, 1988; Unrein, 1990) นอกเหนือจาก *Clostridium botulinum* ซึ่งพบปนเปื้อนเป็นครั้งคราว (Solomon และคณะ, 1990) นอกจากนี้ยังพบการระบาดของโรคเนื่องจากพาราสิต รวมทั้งไวรัส ซึ่งมักพบการปนเปื้อนบ่อยๆ (Beuchat, 1996)

ในประเทศไทยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้มีประกาศ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร โดยมีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 26 กันยายน 2553 ของอาหารประเภท ผักผลไม้ สลัด และส้มตำ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารประเภท ผัก ผลไม้ สลัด และสัมตำ

จุลินทรีย์	เกณฑ์มาตรฐาน
จำนวนจุลินทรีย์/กรัม	น้อยกว่า 1×10^6
จำนวนรา/กรัม	น้อยกว่า 500
จำนวนยีสต์/กรัม	น้อยกว่า 1×10^4
MPN *E. Coli*/กรัม	น้อยกว่า 100
S. aureus/กรัม	น้อยกว่า 100
Salmonella spp./25 กรัม	ไม่พบ
L. monocytogenes/25 กรัม	ไม่พบ

ที่มา: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2010)

2.3 แหล่งของจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้เกิดโรคเนื่องจากผักผลไม้เป็นพาหะ

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเนื่องจากอาหารเป็นพิษ (Foodborne pathogen) สามารถปนเปื้อนสู่ผักผลไม้ในขณะที่ผักผลไม้ยังเจริญเติบโตในแปลงผักหรือในสวน ในระหว่างการเก็บเกี่ยว หรือระหว่างการแปรรูปขั้นต่ำและอื่นๆ (Beuchat, 1996) โดยได้จำแนกแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ในผักผลไม้และสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อการเหลือรอดชีวิตและการเจริญของจุลินทรีย์พบว่า อุจจาระ ดิน แหล่งน้ำในการชลประทาน ปุ๋ยคอก อากาศ สัตว์และการจัดการในฟาร์ม เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบก่อนการเก็บเกี่ยวส่วนปัจจัยที่มีต่อจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ในผักผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว นอกเหนือจากปัจจัยที่กล่าวข้างต้นแล้ว ยังได้แก่ อุปกรณ์ในการเก็บเกี่ยว ภาชนะบรรจุจากแปลงผักถึงขั้นตอนการบรรจุ น้ำที่ใช้ในโรงงาน น้ำแข็ง พาหนะขนส่ง การจัดเก็บที่อุณหภูมิหรือสภาพแวดล้อมทางกายภาพไม่เหมาะสม การบรรจุที่ไม่เหมาะสม รวมถึงเทคโนโลยีการบรรจุแบบใหม่ การปนเปื้อนข้ามจากอาหารชนิดอื่นระหว่างการเก็บ การปนเปื้อนระหว่างการเตรียมหรือการขนส่งสินค้า อุณหภูมิขณะจัดแสดงสินค้าไม่เหมาะสม และการจัดการหลังการขายส่งหรือการขายปลีกไม่เหมาะสม ล้วนแล้วแต่มีการเพิ่มจำนวนการอยู่รอดของชนิดจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในผักผลไม้ทั้งสิ้น(จิตศิริ, 2543)

ดังที่กล่าวไว้ข้างต้นจึงมักพบเหตุการณ์การระบาดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคโดยมีสาเหตุมาจากการรับประทานผักสด ดังนี้

ในสหรัฐอเมริกาพบว่าระหว่างปี ค.ศ. 1990 ถึง ค.ศ. 2006 มีการระบาดของโรค Salmonellosis ทั้งหมด 17 ครั้ง โดยเกิดจากการบริโภคมะเขือเทศที่มีการปนเปื้อน โดยพบผู้ป่วย 1943 ราย (Center for

Science in the Public Interest, 2008) เหตุการณ์การเกิดโรคระบาดโดยมีสาเหตุมาจากผักที่มีการปนเปื้อนถูกเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน (Mukherjee และคณะ, 2006) เชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่พบบ่อยถูกนำมาเชื่อมสัมพันธ์ในการเกิดโรคระบาดรวมทั้งแบคทีเรีย (*Salmonella, E. coli*), viruses (*Norwalk*-like, *hepatitis A*), และ parasites (*Cryptosporidium, Cyclospora*) (Tauxe และคณะ, 1997) เชื้อ *Salmonella* และ *E. coli O157:H7* เป็นสาเหตุที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคระบาดในสหรัฐอเมริกา (Olsen และคณะ, 2000) ผลิตภัณฑ์สด และถั่วงอกได้มีส่วนเกี่ยวข้องกับจำนวนรายงานการระบาดของอาการเจ็บป่วยในแต่ละประเทศเช่น ญี่ปุ่น (Nat'l. Inst. Inf. Dis., 1997; Gutierrez, 1997), สหรัฐอเมริกา (De Roever, 1998) และอียู (Emberland และคณะ, 2007; Nygård และคณะ, 2004; Pezzoli และคณะ, 2007; PHLS, 2000; Söderström และคณะ, 2005) ในเดือนกันยายน ค.ศ. 2006 ได้เกิดการระบาดของเชื้อ *E. coli* O157:H7 ใน 26 รัฐของสหรัฐอเมริกา ซึ่งการป่วย 200 รายมีสาเหตุมาจากภาวะโลหิตเป็นพิษในทางเดินปัสสาวะ และเสียชีวิต 3 ราย (FDA, 2006)

2.4 ความสำคัญของเชื้อ *Salmonella*

เชื้อ *Salmonella* เดิมเรียกว่า paratyphoid bacteria ส่วนชื่อสกุลได้เปลี่ยนไปโดยตั้งให้เป็นเกียรติ D.E.Salmon นักแบคทีเรียชาวอเมริกัน ซึ่งได้ร่วมกับ Theobald Smith ที่ได้ทำ การแยกเชื้อนี้จากสุกรที่ป่วยโรคอหิวาต์ เชื้อที่แยกได้นี้ต่อมาเรียกว่า *S.* Choleraesuis ใน ค.ศ.1885 และในปี ค.ศ.1888 Gartner แยกเชื้อได้จากม้ามผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคอาหารเป็นพิษระบาดในประเทศเยอรมัน คือ *S.* Enteritidis ปี ค.ศ. 1892 Loffler แยก *S.* Typhimurium ได้จากหนูขาวที่มีอาการโรคคล้ายไทฟอยด์ จนกระทั่ง Schottmiille สามารถแยกถึงความแตกต่างระหว่าง *S.* Paratyphi A และ *S.* Paratyphi B ได้ในปี 1990 การค้นพบ *Salmonella* สายพันธุ์ใหม่ที่แยกได้จากผู้ป่วยและสัตว์ ที่ป่วยด้วยโรคต่าง ๆ มีมากขึ้นทำให้เกิดความยุ่งยากในการตั้งชื่อสายพันธุ์ใหม่ ๆ เหล่านี้ จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1926 Kauffmann, Edwards และEwing ได้ร่วมกันจัดทำ หนังสือ Kauffmann – White Schema ขึ้น เพื่อเป็นเอกสารสำคัญแยกลักษณะทางแอนติเจนของ *Salmonella* (Ewing, 1986)

2.4.1 ลักษณะทั่วไปของ *Salmonella*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ไม่สร้างสปอร์ ขนาด 0.7-1.5 ไมโครเมตร อยู่ในสกุล Enterobacteriaceae เจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างแคปซูลเคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ยาวรอบเซลล์ (peritrichous flagella) (Roberts และคณะ, 1996) สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส และให้ก๊าซ สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ พร้อมทั้งสร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส แมนนิทอล มอลโตส และซอร์บิทอล ในขณะที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลค

โตส และซูโครส ทดสอบ Oxidase ให้ผลลบ และให้ผลบวกสำหรับการทดสอบ Catalase พบได้ทั่วไปในทางเดินอาหาร และของเสียจากการขับถ่ายของสัตว์เลือดอุ่น (Tartakow และ Vorperian, 1981) แต่แบคทีเรียชนิดนี้บางสายพันธุ์ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้และไม่สามารถสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์ เช่น *S.* Pullorum และ *S.* Gallinarum

อุณหภูมิ *Salmonella* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางอยู่ในช่วงระหว่าง 37-45 องศาเซลเซียส สำหรับอุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 37 องศาเซลเซียส (Roberts และคณะ, 1996) แม้ว่าจะมีรายงานว่าเชื้อ *Salmonella* ในบางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส (D'Aoust, 1991) ก็ตาม สำหรับอุณหภูมิสูงสุดที่เชื้อนี้เจริญได้ คือ 49.5 องศาเซลเซียส (ICMSF, 1996) ด้วยเหตุนี้ การปฏิบัติอย่างถูกต้องเพื่อเก็บรักษาอาหารร้อนหรืออุ่นอาหารเพื่อให้ปลอดภัยจากเชื้อ *Salmonella* ตามที่ USDA/FSIS แนะนำ จึงใช้อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นเกณฑ์ (อรุณ และคณะ, 2551) อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อ *Salmonella* ไม่ทนความร้อน ถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที หรือ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที *S.* Senftenberg เป็นสายพันธุ์ที่ทนอุณหภูมิสูงได้ดีกว่า *Salmonella* สายพันธุ์อื่น 10-20 เท่า กล่าวคือ ทนความร้อนถึง 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง การใช้ความเย็นหรืออุณหภูมิต่ำไม่สามารถทำลายเชื้อ *Salmonella* เพียงแต่ยับยั้งการเจริญของเซลล์เท่านั้น ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิสูงกว่า 44-47 องศาเซลเซียส ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella* บางสายพันธุ์ได้ ในภาวะอุณหภูมิแช่เยือกแข็งแบคทีเรียไม่สามารถแบ่งเซลล์ได้ และพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิหรืออาหารแช่เยือกแข็งมาวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เซลล์สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นการลวกอาหารก่อนแช่เยือกแข็งจะทำให้ปลอดภัยจาก *Salmonella* มากที่สุด (อรุณ, 2540)

pH ความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นกรด-ด่าง กับการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella* พบว่าอยู่ในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 4.5 – 9.0 แต่ช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ช่วงประมาณ 7.0 – 7.5 ซึ่งความเป็นกรด-ด่างนี้จะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ และขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมที่เชื้อเจริญเติบโต ค่า pH ต่ำสุดที่เชื้อ *Salmonella* ชนิดที่ทนกรดมากที่สุดจะเจริญได้อยู่ที่ pH 3.8 และ pH สูงสุดอยู่ที่ 9.5 (อรุณ และคณะ, 2551) จากการทดลองของชุงและก๊อฟเฟิร์ท (Chung และ Goepfert, 1970) พบว่า กรดที่ใช้ปรับ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการมีผลต่อการปรับตัวของเชื้อ *Salmonella* กล่าวคือ ในกรณีที่ใช้กรดเกลือและกรดซิตริกปรับ pH เชื้อ *Salmonella* ปรับตัวกับการเปลี่ยนแปลงของ pH ได้มากกว่าการใช้กรดน้ำส้ม หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าเชื้อ *Salmonella* ไวต่อกรดน้ำส้มมากกว่ากรดเกลือและกรดซิตริก

วอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella* กล่าวคือ เชื้อ *Salmonella* เจริญได้ในช่วงที่มี a_w แคบมาก คือค่า a_w ต่ำสุดอยู่ที่ 0.94 ส่วนค่า a_w สูงสุด อยู่ในช่วง 0.99 – 1.00 a_w ที่เหมาะสมต่อการเจริญ อยู่ในช่วง 0.93-0.99 ภายใต้อุณหภูมิและอาหารที่เหมาะสม ในสภาวะที่สิ่งแวดล้อมเอื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Salmonella* เช่น มีอาหารเหมาะสม มี a_w เหมาะสม มีอุณหภูมิเหมาะสม เชื้อ *Salmonella* สามารถปรับตัวต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH ได้มากกว่าปกติ ฉะนั้นปัจจัยร่วม (Combined effects) จึงมีความสำคัญในแง่ของการประยุกต์มาใช้เพื่อควบคุมเชื้อ *Salmonella* มากกว่าปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งเพียงปัจจัยเดียว (อรุณ และคณะ, 2551)

2.4.2 แหล่งที่อยู่อาศัยของ *Salmonella*

แหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติเชื้อ *Salmonella* อาศัยอยู่ในทางเดินอาหาร ลำ ไส้ของสัตว์ต่าง ๆ เช่น นก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์เลี้ยง คน และบางทีก็พบในแมลง แม้ว่าแหล่งกำ เนิดของเชื้อคือลำ ไส้ของสัตว์ แต่บ่อยครั้งที่พบเชื้อ *Salmonella* ตามร่างกายส่วนอื่นๆ ของสัตว์ด้วย (Jay, 1996) เนื่องจากสัตว์จะปล่อยเชื้อ *Salmonella* ผ่านทางอุจจาระซึ่งจะแพร่ผ่านแมลงและสัตว์อื่นๆ ขยายวงกว้างออกไป ด้วยเหตุนี้เชื้อ*Salmonella* อาจพบในน้ำโดยเฉพาะในน้ำสกปรก และในอาหารที่มีแมลงวันตอม เมื่อคนและสัตว์บริโภคอาหารและน้ำที่มีเชื้อนี้เข้าไป บางครั้งจะแสดงอาการป่วยออกมา แต่บางครั้งก็กลายเป็นพาหนะ (carrier) คือไม่แสดงอาการป่วยทั้งๆ ที่มีเชื้อ *Salmonella* อยู่ในร่างกาย มนุษย์ผู้นั้นอาจกลายเป็นพาหะของเชื้อต่อไป มนุษย์และสัตว์ขับเชื้อ *Salmonella* ออกจากทางเดินอาหารทางอุจจาระ อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และคณะ(2545) ได้ทำการสำรวจอุจจาระของผู้สัมผัสอาหารที่ปฏิบัติงานในอุตสาหกรรมอาหารแช่แข็ง พบอัตราผู้เป็นพาหะของเชื้อ *Salmonella* สูงสุดร้อยละ 15.38 อัตราผู้เป็นพาหะของเชื้อ *Salmonella* สูงสุดในฤดูร้อน และต่ำสุดในฤดูฝน เชื้อ *Salmonella* ในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์สามารถแพร่กระจายไปในดิน น้ำ และสิ่งแวดล้อม ปนเปื้อนเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารได้หลายทาง ซึ่งจะเป็นอันตรายอย่างยิ่ง ถ้านำสัตว์ที่มีเชื้อ *Salmonella* มาใช้เป็นอาหารทำให้ผู้บริโภคมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ (อรุณ และคณะ, 2551)

ในทางระบาดวิทยา จำแนกแหล่งที่อยู่อาศัยหรือโฮสท์ของเชื้อ *Salmonella* ออกเป็น 3 แหล่ง ดังนี้ (Jay, 1996)

เชื้อ *Salmonella* ที่อาศัยคนเป็นโฮสต์ เชื้อ *Salmonella* ในกลุ่มนี้เป็นโรคติดต่อในคนเท่านั้น ได้แก่ *S.* Typhi ทำ ให้เกิดโรคไทฟอยด์ (Typhoid fever) เป็นสปีชีที่มีอันตรายรุนแรงมากที่สุด ส่วน *S.* Paratyphi A, *S.* Paratyphi B และ *S.* Paratyphi C ทำให้เกิดโรคไข้รากสาดน้อย (paratyphoid fever) ซึ่งมีอาการคล้ายกับอาการของไข้ไทฟอยด์ แต่รุนแรงน้อยกว่าไข้รากสาดน้อยเป็นโรคติดต่อในคน

เช่นเดียวกับอาการของไข้ไทฟอยด์ มีระยะเวลาฟักตัวนาน ผู้ป่วยมีอุณหภูมิของร่างกายสูงมาก มีผลทำให้อัตราการตายสูง และอาจตรวจพบเชื้อ *S.* Typhi ในเลือด ในอุจจาระ และในปัสสาวะของผู้ป่วยด้วย

เชื้อ *Salmonella* ที่ปรับตัวตามโฮสต์ เชื้อ *Salmonella* ในกลุ่มนี้เป็นเชื้อที่แพร่จากสัตว์ ที่เป็นโรคหรือเป็นพาหะมาสู่คน เนื่องจากอาศัยอยู่ในสัตว์ เมื่อนำสัตว์มาใช้เป็นอาหารก็จะแพร่มาสู่คน และทำให้คนเป็นโรคได้ ตัวอย่างเช่น *S.* Gallinarum และ *S.* Pullorum ซึ่งอาศัยเป็ดไก่เป็นโฮสต์ *S.* Dublin อาศัยวัวเป็นโฮสต์ *S.* Abortus-equi อาศัยม้าเป็นโฮสต์ *S.* Abortus-ovis อาศัยแกะเป็นโฮสต์ *S.* Choleraesuis อาศัยสุกรเป็นโฮสต์ และ *S.* Enteritidis พบมากในไข่และในสัตว์ปีกที่มีชีวิต เป็นต้น (Jay, 1996)

เชื้อ *Salmonella* ที่ไม่เลือกโฮสต์เป็นเชื้อ *Salmonella* นอกเหนือจาก 2 กลุ่มที่กล่าวมาแล้ว สามารถแพร่จากคน และสัตว์เป็นโรค รวมทั้งอาหาร น้ำ ดิน และสิ่งแวดล้อมได้แก่ เชื้อ *Salmonella* ส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ นับเป็น *Salmonella* ที่มีความสำคัญ และจะต้องควบคุมผ่านกิจกรรมการจัดการสุขาภิบาลอาหารที่ดี เพื่อตัดวงจรการแพร่กระจายของโรค เชื้อในกลุ่มนี้เรียกว่า non typhoidal salmonellosis ทำให้เกิดโรค Salmonellosis ซึ่งส่วนใหญ่จะทำให้เกิดอาการทางลำไส้และบาง serovar เท่านั้นที่บุกรุกเข้ากระแสโลหิตและทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบอื่นๆ Salmonellosis มิใช่โรคติดเชื้อร้ายแรงที่ส่วนใหญ่ต้องรับการรักษาโดยปัจจุบันทันด่วน ผู้ที่ได้รับเชื้ออาจมีอาการไม่มากแต่ก็มีผลกระทบต่อสุขภาพโดยทั่วไปและต่อประสิทธิภาพของการทำงาน ซึ่งมิสามารถคำนวณออกมาเป็นค่าของการสูญเสียที่ชัดเจน สถานการณ์ปัจจุบันในประเทศไทยที่ยังขาดการบริการทางห้องปฏิบัติการที่จะช่วยให้สามารถวินิจฉัยโรค Salmonellosis ได้ถูกต้องสวนทางกับการเจริญเติบโตของอุตสาหกรรมผลิตเนื้อสัตว์ และอาหารสำ เร็จรูปที่เห็นความสำคัญของการควบคุมคุณภาพด้านจุลินทรีย์มากน้อยต่างกัน ตลอดจนการเคลื่อนตัวของประชากรเข้าสู่เมืองใหญ่ๆ และการเกิดธุรกิจการจำหน่ายอาหารที่ไม่ถูกสุขลักษณะซึ่งปรากฏให้เห็นอยู่โดยทั่วไปเหล่านี้เป็นสิ่งที่ควรจะคาดคะเนได้ว่าหากยังไม่สามารถลดการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในเครื่องอุปโภคของคนแล้ว การติดเชื้อจาก *Salmonella* จะมีแต่การเพิ่มขึ้น (อรุณ และคณะ, 2551)

Salmonella เกือบทุกสายพันธุ์เป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหารในมนุษย์ (Beuchat, 1996) การบริโภคอาหารหรือน้ำดื่มที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนก่อ Salmonellosis การเกิดโรคเกิดจากสารพิษชนิด endotoxin ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ polysaccharide-polypeptide-lipid A ที่ปรากฏอยู่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (Varnam และ Evans, 1991) สารพิษจะกระตุ้นทำให้เกิดการอักเสบบริเวณผนังลำไส้เล็ก เมื่อบริโภคอาหารที่มีแบคทีเรียนี้เข้าไปในปริมาณที่สูงพอ จะเกิดอาการของโรค Salmonellosis ภายใน 6-36 ชั่วโมง

2.4.3 ความสามารถในการทำให้เกิดโรค

เชื้อ *Salmonella* ที่มีอาหารเป็นพาหนะรอดชีวิตจากการย่อยของระบบทางเดินอาหาร และมีจำนวนเซลล์มากพอที่จะก่อให้เกิดโรค การติดเชื้ออาจเกิดจากเซลล์เพียงแค่ 2-3 เซลล์เท่านั้น (Robinson และคณะ, 2000) เซลล์จะเข้าเกาะที่เนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารและเข้าไปอยู่ในช่องว่าง (lumen) ของลำไส้เล็กส่วนปลายแล้วเพิ่มจำนวนขึ้น หลังจากนั้นจะผ่านผนังลำไส้เล็กเข้าสู่ระบบท่อน้ำเหลือง เข้าทำลายเม็ดเลือดขาว จากนั้นเมื่อเข้าสู่กระแสเลือดจะทำให้เกิดอาการโลหิตเป็นพิษ (Septiceamia) (สุมณฑา และคณะ, 2544) อาการเป็นพิษของเชื้อ *Salmonella* เกี่ยวข้องกับสารพิษ 2 ชนิดคือ เอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) และ ไซโตทอกซิน (Cytotoxin) Koupal และ Deibel (1975) รายงานว่าความเป็นพิษของเอนเทอโรทอกซินของ *Salmonella* จะทำให้เกิดลักษณะความเป็นพิษคล้ายกับพิษของ *E. coli* โดยทำให้ cAMP (Cyclic Adenosine Monophosphate) เพิ่มขึ้นในลำไส้และชักนำให้ของเหลวในร่างกายของสัตว์ทดลองตกตะกอน นอกจากนี้เอนเทอโรทอกซินของเชื้อ *Salmonella* ยังมีลักษณะทางชีวภาพและพันธุกรรมคล้ายกับสารพิษของเชื้ออหิวาต์ ทำให้เชื้อ *Salmonella* ยังก่อให้เกิดอาการคล้ายบิด ทำลายเนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นอาการที่นอกเหนือจากฤทธิ์ของเอนเทอโรทอกซิน ด้วยเหตุนี้ Koo และคณะ (1984) จึงทำ การตรวจหา cytotoxin จากสารสกัดของเชื้อ *Salmonella* ตามที่มีนักวิจัยชาวยุโรปเคยศึกษาในเรื่องนี้ไว้ตั้งแต่ปี ค.ศ.1962 เมื่อเติมสารสกัดของเชื้อ *Salmonella* ลงในเซลล์เยื่อบุลำ ไส้เล็กของกระต่ายหรือเซลเวอโร (Vero cells; เป็นเซลล์ชนิด monolayer ที่ประกอบด้วย cell line ต่อเนื่องกัน ได้จากไตของลิงชนิดหนึ่ง (African green monkeys) ใช้สำหรับการทดลองทางชีวภาพ (bioassay) เพื่อหาความเป็นพิษของ *E.coli* ปรากฏว่าเกิดการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนขึ้น (Koo และ Peterson, 1983; Koo และคณะ, 1984) ดังนั้น นักวิจัยจึงสรุปว่าการทำลายเซลล์ของเชื้อ *Salmonella* ที่เกิดขึ้นกับเยื่อบุลำไส้เล็กหรือเซลเวอโรนั้นเป็นผลมาจาก cytotoxin นั่นคืออาการเป็นพิษของเชื้อ *Salmonella* เกิดจากสารพิษประเภท enterotoxin และ cytotoxin

เชื้อ *Salmonella* แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ Typhoid *Salmonella* หมายถึง *S.* Typhi ซึ่งก่อโรคเฉพาะในคนเท่านั้นเป็นพาหะของเชื้อนี้ อีกกลุ่มหนึ่งคือ non typhoid *Salmonella* หมายถึง *Salmonella* ในสปีชีส์อื่นๆที่ไม่ใช่ *S.* Typhi กลุ่มนี้จะก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ การติดเชื้อของคนเกิดจากการกินอาหารพวกสัตว์ปีก เนื้อหมูหรือเนื้อวัวที่มีเชื้อปนเปื้อน รวมถึงนี้ยังมีรายงานการระบาดของเชื้อ *S.* Enteritidis จากเปลือกไข่ด้วย (สุมณฑา และคณะ, 2544) เชื้อ *Salmonella* เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญด้านอาหาร เนื่องจากแบคทีเรียพวกนี้มักทำให้อาหารเป็นพิษและสามารถถ่ายทอดได้ทางอาหารเท่านั้น อาหารที่มักจะพบเชื้อนี้ได้แก่ อาหารประเภทเนื้อ เช่น พายเนื้อ ไส้กรอก แฮม เบคอน และแซนวิช

รวมถึงอาหารประเภทไก่และไข่ด้วย อาหารที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องก็เป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษจากเชื้อ *Salmonella* spp. ได้เช่นกัน (จิราวรรรณ, 2552)

เชื้อ *Salmonella* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคต่อมนุษย์คือ *S.* Typhi ก่อให้เกิดโรคไข้ไทฟอยด์ *S.* Paratyphi, *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium ก่อให้เกิดโรคไข้พาราไทฟอยด์ขณะที่ *S.* Choleraesuis, *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium, *S.* Heidelberg, *S.* Derby, *S.* Java, *S.* Infantis และ *S.* Monteviseos ก่อให้เกิดโรค Salmonelosis โดยทั่วไปโรค Salmonellosis เกิดจากเชื้อ non-typhoidal *Salmonella* (อรทัย และ วงค์ทิพา, 2549)

โรคติดเชื้อทางเดินอาหารที่มีสาเหตุมาจาก *Salmonella* เรียกว่าโรค Salmonellosis ก่อให้เกิดโรคซึ่งมีอาการ 3 กลุ่มแตกต่างกันดังนี้

ไข้ไทฟอยด์ (Typhoid fever) เป็นกลุ่มโรคที่มีอาการรุนแรงที่สุด สาเหตุจาก *S.* Typhi ในบรรดาผู้ป่วย Salmonellosis ทั้งหมดในประเทศสหรัฐอเมริกา พบผู้ป่วยไทฟอยด์น้อยกว่า 2.5% แหล่งของ *S.* Typhi จะอยู่ในคนเท่านั้น ดังนั้นการติดต่อของ *S.* Typhi เกิดจากการปนเปื้อนของอุจจาระจากผู้ป่วยสู่แหล่งน้ำและอาหาร (Tauxe, 1991) อาการของไทฟอยด์ค่อนข้างรุนแรง พบการติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) มีไข้สูง ปวดหัว ท้องเสีย อาเจียน และท้องร่วง อาจพบจุดแดงบนหน้าอกและคอ มีเลือดออกจากลำไส้และจมูก ผู้ป่วยจะมีอาการ 1-8 สัปดาห์ การติดเชื้อเริ่มมาจากเมื่อแบคทีเรียเข้ามาในระบบย่อยอาหารและผ่านมาถึงลำไส้เล็กแบคทีเรียเจาะทะลุ epithelial cell ของ villi ในลำไส้เล็กตอนล่างเข้าสู่ lamina propria แล้วเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองของผู้ป่วย ในระบบน้ำเหลืองแบคทีเรียจะถูกเซลล์ macrophage ซึ่งเป็นเซลล์ภูมิคุ้มกันของร่างกายโอบล้อมเพื่อทำลายเซลล์แปลกปลอมซึ่งเป็นกลไกป้องกันการติดเชื้อในร่างกาย แต่ *S.* Typhi สามารถทนต่อการทำลายของเซลล์ macrophage จึงรอดชีวิตและเจริญภายในเซลล์ macrophage นั้น หลังจากแบคทีเรียเพิ่มจำนวนแล้วแบคทีเรียจะกระจายออกมาสู่กระแสเลือด แพร่กระจายไปตามตับ ม้าม กระเพาะปัสสาวะ และอวัยวะต่างๆ จึงก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระแสโลหิต และอวัยวะต่างๆ

ไข้เอนเทอริก (Enteric fever) เกิดจาก *Salmonella* 3 ชนิด คือ *S.* Paratyphi type A B และ C พบผู้ป่วยน้อยกว่า 0.5% ของผู้ป่วยโรค Salmonellosis ทั้งหมด กลุ่มอาการของไข้เอนเทอริกคล้ายคลึงกับไข้ไทฟอยด์ แต่รุนแรงน้อยกว่า มีการติดเชื้อในกระแสเลือด มีไข้ ปวดหัว และปวดท้องน้อย ผู้ป่วยจะมีอาการ 1-3 สัปดาห์

กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritidis syndrome) เป็นกลุ่มอาการที่พบมากที่สุดในประเทศสหรัฐอเมริกา สาเหตุจาก *Salmonella* หลายเซโรไทป์ อาการที่พบบ่อยได้แก่ ท้องร่วง ปวดท้องน้อย ตัวเย็น มีไข้ อาเจียน ขาดน้ำ และปวดหัว พบอัตราการตายสูงในผู้ป่วยเด็กและคนชรา อยู่

ระหว่าง 0.1-0.2% ระยะฟักตัวอยู่ในช่วง 5-72 ชั่วโมง มีอาการป่วย 1-4 วัน สาเหตุของการเกิดกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ เนื่องจาก *Salmonella* เข้ามาในระบบย่อยอาหารในจำนวนที่มากเพียงพอจะผ่านเข้าสู่ epithelial cell ของลำไส้เล็กตนปลาย และผ่านเข้ามาใน lamina propria แบคทีเรียเจริญในบริเวณนั้นเป็นสาเหตุให้เกิดอาการอักเสบ (inflammatory response) บริเวณลำไส้เล็ก แต่ไม่แพร่กระจายไปยังส่วนอื่นๆของร่างกายจึงไม่พบการติดเชื้อในกระแสเลือดและอวัยวะต่างๆ

2.4.4 การปนเปื้อน *Salmonella* ในผักผลไม้สด

ผักมีความถี่ที่จะมีการสัมผัสกับ ดิน สัตว์ แมลง หรือมนุษย์ในระหว่างการเจริญ หรือในระหว่างการเก็บเกี่ยว แม้แต่ในกระบวนการแปรรูปขั้นต่ำไม่ว่าจะเป็นขั้นตอนของการปอกเปลือก ตัด หรือสไลด์ และในระหว่างกระบวนการผลิต เชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค มีโอกาสที่จะเพิ่มจำนวนได้ตลอดเวลา จากสาเหตุดังกล่าวจึงก่อให้เกิดเหตุการณ์โรคระบาดขึ้นบ่อยครั้ง

ในปี ค.ศ. 2007 ในประเทศสวีเดน alfalfa sprouts เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคระบาดด้วยเชื้อ *S.* Stanley โดยพบผู้ป่วย 51 ราย ซึ่งมีแหล่งมาจากร้านค้า และร้านอาหารที่ซึ่งถูกกระจายมาจากสถานที่ผลิตขนาดใหญ่ทางตอนใต้ของสวีเดน จนถึง กรกฎาคม ค.ศ. 2007 ได้พบผู้ป่วยอีก 4 ราย ที่เกิดจากเชื้อ *S.* Mbandaka (Werner, 2007) ในกรณีของ *S.* Stanley ที่เกิดขึ้นในประเทศในประเทศสวีเดน ในปี ค.ศ. 2006 มี 32 ราย ซึ่ง 13 ราย เป็นการระบาดของโรคที่มีสาเหตุเกิดจากใบมะกรูด (Lindqvist, 2006)

ในปี ค.ศ. 1995 การระบาดของเชื้อ *S.* Stanley ใน alfalfa sprouts ที่เกิดขึ้นในประเทศฟินแลนด์และประเทศสหรัฐอเมริกา เกิดจากการที่เมล็ดของ alfalfa มีการปนเปื้อนจากผู้ส่งออกชาวดัตช์ ซึ่งได้ถูกระบุว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในทั้งสองประเทศ (Mahon และคณะ ; Pouhiniemi และคณะ, 1997) ในระหว่างเดือนมีนาคมจนถึงเดือนมิถุนายนของปี ค.ศ. 1995 มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนการเจ็บป่วยที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S.* Stanley ในรัฐ Arizona, Michigan และประเทศฟินแลนด์ ซึ่งถือได้ว่าโรคนี้มีการระบาดในระดับนานาชาติ (Mahon และคณะ, 1997)

ในประเทศไทย สถาบันวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้สำรวจแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วงในอาหารพร้อมปรุง ได้แก่ ยำประเภทต่างๆ ผักสด แกงจืด แกงเผ็ด และอาหารทอด โดยเก็บตัวอย่างจากห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานครและ นนทบุรี จำนวน 100 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* spp. ปนเปื้อนมากที่สุดถึง 57% รองลงมาได้แก่ *S. aureus* 32% และ *Cl. perfringens* 22% ตามลำดับ (อรุณ, 2540)

Jerngklinchan และ Saitanu (1993) รายงานการสำรวจคุณภาพทางจุลินทรีย์ของถั่วงอกที่ขายในตลาดสด 4 แห่งในกรุงเทพ จากตัวอย่างทั้งหมด 344 ตัวอย่าง มีการปนเปื้อน *Salmonella* 30 ตัวอย่าง หรือ 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%) ครึ่งหนึ่งของทั้งหมด 30 สายพันธุ์ (15/30) ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะอย่างน้อย 1 ชนิด ก่อนหน้านี้ Rasrinaul และคณะ (1988) ได้รายงานว่า ผักสดที่จำหน่ายในกรุงเทพ มี *Salmonella* ปนเปื้อนน้อยกว่า 1%

ในระหว่างเดือนมกราคม – มีนาคม พ.ศ. 2537 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์โดยกองวิเคราะห์อาหารร่วมกับสำนักคณะกรรมการอาหารและยา ได้สำรวจการปนเปื้อนของ *Salmonella* ในผักสด โดยการสุ่มจากตัวอย่างผัก 6 ชนิด จากตลาดและห้างสรรพสินค้า ได้แก่ ผักกาดหอม สะระแหน่ ใบแมงลัก ต้นหอม ผักชี และกะหล่ำปลี รวม 80 ตัวอย่าง พบ *Salmonella* ปนเปื้อนในผักสด 4 ชนิด (7/80 ตัวอย่าง) ได้แก่ ใบสะระแหน่ ผักกาดหอม กะหล่ำปลีและใบแมงลัก (อดิศร และปรีชา, 2538)

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์โดยสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารและศูนย์วิทยาศาสตร์การ แพทย์ 14 แห่งทั่วประเทศได้ทำการสำรวจการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ในมะเขือเทศสด จากตลาดสด 36 แห่งทั่วทุกภาคของประเทศพบปนเปื้อนเชื้อนี้เพียง 1 ตัวอย่าง คิดเป็น 0.58% (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2008)

อรุณ และคณะ (2551)ได้ทำการศึกษาการปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษโดยทำการเก็บตัวอย่างมะเขือเทศ 3 พันธุ์ คือ ราชินี ท้อ และสีดา อย่างละ 30 ตัวอย่าง จากห้างสรรพสินค้า 10 แห่ง ตลาดสด 10 แห่ง และตลาดนัด 10 แห่ง พบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ใช้อากาศสูงกว่าข้อกำหนด (>6 log) 14, 15 และ15 ตัวอย่าง ตามลำดับ และพบ *S.* Stanley ในพันธุ์สีดา จากตลาดสด 1 ตัวอย่าง

ในต่างประเทศ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกาในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2547 ได้เกิดการระบาดของเชื้อ *Salmonella* สายพันธุ์ Javiana, Typhimurium, Anatum, Thompson และ Muenchen โดยพบผู้ป่วย 429 คน ทั้งหมด 9 รัฐ เนื่องจากรับประทานมะเขือเทศสดชนิด Roma ในอาหารสำเร็จรูป (CDC, 2005) ในช่วงปลายเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2549 พบการระบาดของเชื้อ *Salmonella* ที่ถูกปนเปื้อนมากับมะเขือเทศสดและถูกนำไปประกอบอาหารในภัตตาคารมากกว่า 21 รัฐ โดยมีผู้ป่วย 183 ราย (สถาบันอาหาร, 2549) และตั้งแต่เดือน เมษายน พ.ศ. 2551 มีการระบาดของเชื้อ *Salmonella* โดยพบผู้ป่วย 810 คน ทั้งหมด 36 รัฐ เนื่องจากรับประทานมะเขือเทศสดชนิด red plum, red roma และ round red (CDC, 2008)

2.5 การศึกษาการยับยั้งเชื้อ *Salmonella*

ดังที่กล่าวมาในเบื้องต้นกระบวนการล้างผักสดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียวอาจยังไม่เพียงพอในการที่จะลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ ดังนั้นจึงได้มีผู้ทำการศึกษาเพื่อใช้ในการรักษาคุณภาพของผักหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการที่นิยม เช่น การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ การใช้สภาพบรรยากาศควบคุมและดัดแปลง นอกจากนี้การใช้สารเคมีสำหรับผักแปรรูป ในเบื้องต้นก็ยังเป็นที่นิยมโดยสารเคมีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางได้แก่ สารประกอบคลอรีนเป็นสารเคมีที่มักใช้ในการฆ่าเชื้อในผลิตผลและพื้นผิวของอุปกรณ์ในกระบวนการผลิต และยังใช้ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำที่ใช้ในระหว่างการทำความสะอาดและการบรรจุ คลอรีนเหลวและไฮโปคลอไรต์ที่ใช้โดยทั่วไปในช่วงความเข้มข้น 50-200 ppm ที่ระยะเวลาสัมผัส 1 ถึง 2 นาที เพื่อที่จะฆ่าเชื้อพื้นผิวผลิตและอุปกรณ์ในการผลิต (Parish และคณะ, 2003) แต่พบว่าสารประกอบคลอรีนมีข้อจำกัดบางประการ กล่าวคือ ประสิทธิภาพของสารประกอบคลอรีนจะลดลงในสภาวะที่เป็นด่าง เมื่อรวมตัวกับสารอินทรีย์ในอาหารทำให้เกิดสารประกอบที่เป็นพิษขึ้น เช่น สาร Trihalomethanes ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง ตกค้างอยู่บนผิวผลิตภัณฑ์และท่อน้ำทิ้ง (Sapears, 2002) นอกจากนี้ สารประกอบคลอรีนมีฤทธิ์กัดกร่อน และเป็นอันตรายต่อผิวหนัง (Lin และคณะ, 1996)

Adams และคณะ (1989) ได้รายงานว่าการใช้ไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นสูงล้างผักและผลไม้อาจเป็นสาเหตุให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีคล้ำ และอาจเกิดปัญหากัดกร่อนอุปกรณ์ นอกจากนี้สารละลายคลอรีนรวมถึงสารชนิดต่างๆ ได้แก่ กรดไฮโปคลอรัส และไฮโปคลอไรท์ มีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดรับกลิ่น และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่รับรสได้ต่ำ หรืออีกนัยหนึ่งคือให้กลิ่น แม้ที่ความเข้มข้นในสารละลายต่ำมาก โดยเฉพาะกรดไฮโปคลอรัสมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่รับกลิ่นและรสต่ำกว่าไฮโปคลอไรท์ไอออน กรดไฮโปคลอรัสมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่รับกลิ่นและรส เท่ากับ 0.28 และ 0.24 ตามลำดับ ส่วนไฮโปคลอไรท์ไอออนมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่รับกลิ่นและรส เท่ากับ 0.36 และ 0.30 และทั้งคู่ให้รสและกลิ่นระเหยของคลอรีนเช่นกัน (Krasner และ Barrett, 1984)

ด้านความเป็นพิษของสารประกอบคลอรีนพบว่า สารประกอบคลอรีนที่ระดับความเข้มข้นสูงมาก อาจก่อให้เกิดสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง (Ames, 1979) สำหรับการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์พบว่า สารนี้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในยีนของ *S.* Typhimurium โดยการแทนที่เบสใน DNA หรือ RNA ทำให้สารพันธุกรรมเหล่านี้ผิดไปจากปกติ (Wlodkowski และ Rosenkranz, 1975)

จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้มีการศึกษาสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ เช่น กรดออร์แกนนิก ซึ่งได้มีการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพที่จะเพิ่มความปลอดภัยในด้านจุลชีววิทยาทางด้านอาหาร (Sengun และ Karapinar, 2004) กรดออร์แกนนิกเป็นกรดอ่อนซึ่งจะมีประสิทธิภาพต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

(Buchanan และคณะ, 2004) และนอกจากนี้ยังได้มีการใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารละลายโอโซน มาเป็นทางเลือกใหม่ในการประยุกต์ใช้ (Sapers, 2002) ซึ่งจากข้อมูลเบื้องต้นจึงได้มีผู้ที่ศึกษาค้นคว้าวิจัย ดังนี้

Sapers และ Simmons (1998) ได้เปรียบเทียบการใช้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 5% กับสารละลายคลอรีน 50 ppm ในการล้างแคนตาลูปนาน 2 นาที พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 14 วัน ขณะที่คลอรีนช่วยยืดอายุได้ 9 วัน ส่วนการล้างน้ำธรรมดามีอายุการเก็บรักษานาน 7 วัน

Simmons (1996) ทดสอบการใช้ไอของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3 mg/L ของอากาศนาน 60 นาที กับผลแคนตาลูป เปรียบเทียบกับการล้างด้วยสารละลายไฮโปคลอไรด์ 225 ppm และเทียบกับการล้างด้วยน้ำธรรมดา พบว่าการใช้ไอของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์และช่วยให้แคนตาลูปมีอายุการเก็บรักษานานถึง 4 สัปดาห์ ที่ 2 องศาเซลเซียส โดยไม่เกิดการผิดปกติกับผลแคนตาลูป

ดวงกมล (2549) ได้ทำการศึกษาผลของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารละลายโอโซน ต่อปริมาณจุลินทรีย์และอายุการวางจำหน่ายมะเขือเทศและหอมหัวใหญ่แปรรูปเบื้องต้น ระหว่างการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อล้าง มะเขือเทศและหอมหัวใหญ่แปรรูปเบื้องต้นด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 5% จะมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ดีกว่าการล้างน้ำประปา และน้ำเย็น โดยในมะเขือเทศแปรรูปเบื้องต้นสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.99 log CFU/g. มีอายุการเก็บรักษานาน 5 วัน และในหอมหัวใหญ่แปรรูปเบื้องต้นสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 1.34 log CFU/g. มีอายุการเก็บรักษานาน 6 วัน และพบว่าสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีประสิทธิภาพดีกว่าสารละลายโอโซน

Sengun และ Karapinar (2004) น้ำมะนาว น้ำส้มสายชู และน้ำมะนาวผสมน้ำส้มสายชู (1:1) ถูกทำการทดสอบประสิทธิภาพในการลดจำนวนของ *S.* typhimurium ที่ทำการใส่เชื้อเข้าไป (ประมาณ 6 และ 3 log cfu/g) บนผักร็อคเก็ตและหอมหัวใหญ่หั่นเป็นวง หลังจากนั้นทำการแช่ผักนาน 0 15 30 และ 60 นาที โดยในผักร็อคเก็ตวิธีการลดปริมาณของเชื้อโดยการใช้ น้ำมะนาวผสมน้ำส้มสายชู (1:1) แช่นาน 15 นาที จะสามารถลดจำนวนของจุลินทรีย์ ได้มากที่สุด โดยพบว่าระดับของจำนวนจุลินทรีย์จะลดลงอยู่ในระดับที่ไม่สามารถนับได้ ในหอมหัวใหญ่หั่นเป็นวงโดยการใช้ น้ำมะนาวผสมน้ำส้มสายชู (1:1) แช่นาน 15 นาที ก็จะช่วยลดระดับของจำนวนจุลินทรีย์ โดยจะลดลงอยู่ในระดับ 0.86 – 0.24 log CFU/g

120070

Chang และ Fang (2007) ได้ทำการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S.* Typhimurium บนผักกาดหอม ต่อผลการใช้สารละลายน้ำส้มสายชูจากข้าว โดยมีการดำเนินการดังนี้ หลังจากที่ทำการบ่มเชื้อ *E. coli* O157:H7 และ *S.* Typhimurium ที่ระดับ 10^7 CFU/g ลงในผักกาดหอมที่มีการหั่น และล้างน้ำ เก็บตัวอย่างที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน และเก็บที่ 2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน เพื่อตรวจติดตามการเหลือรอดและการเจริญของกลุ่มจุลินทรีย์ที่ก่อโรค พบว่าการเก็บรักษาวันสุดท้ายที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ที่ก่อโรค 2 ชนิด ในตัวอย่างผักกาดหอม ที่มีการหั่น และล้างน้ำ จะลดลงประมาณ 1 Log CFU/g. อย่างไรก็ตาม ระดับของเชื้อจุลินทรีย์บนผักกาดหอม ที่มีการหั่น จะเพิ่มขึ้น 3 Log CFU/g ภายใน 3 วัน ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส น้ำส้มสายชูจากข้าว (กรดอะซิติก) จะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อโรค ดังนั้น ประสิทธิภาพสารต้านจุลชีพของน้ำส้มสายชูจากข้าวต่อการเหลือรอดของ *E. coli* O157:H7 ที่มีการใส่บนผักกาดหอม (10^4 และ 10^7 CFU/g) ที่เป็นตัวอย่างในการศึกษา สรุปผลการทดลอง เมื่อทำการใส่เชื้อลงในผักกาดหอม (10^7 CFU/g) โดยใช้น้ำส้มสายชูทางการค้าที่ประกอบด้วย 5% ของกรดอะซิติก (pH 3.0) นาน 5 นาที จะช่วยลดจำนวนเชื้อได้ 3 Log ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

อรุณ และคณะ (2551) ทำการศึกษาการลดปริมาณ *Salmonella* ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศสดด้วยน้ำส้มสายชู 5% (w/v) โดยทดลองล้างมะเขือเทศพันธุ์ราชินี ด้วยน้ำกลั่นปรับค่า pH ด้วยน้ำส้มสายชูกลั่น 5% พบว่าที่ pH 3 4 และ5 จะลดเชื้อที่มีปริมาณปนเปื้อน 2.52 log CFU/g ได้ทั้งหมดภายในระยะเวลา 2 8 และ 10 นาที ตามลำดับ และการล้างมะเขือเทศที่มีปริมาณเชื้อสูง 6.70 log CFU/g ด้วยน้ำกลั่น pH 3 4 และ 5 นาน 10 นาที ตรวจพบเชื้อที่เหลือรอดเท่ากับ 0.44 log CFU/g (ลดลง 6.26 log CFU/g คิดเป็น 93.43%), 2.03 log CFU/g (ลดลง 4.67 log CFU/g คิดเป็น 69.7%) และ 5.64 log CFU/g (ลดลง 1.06 log CFU/g คิดเป็น 15.82%)

ลักขณา และ บุษกร (2551) ประเมินความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดใบฝรั่ง (10 mg/ml) ร่วมกับกรดแลคติกที่ความเข้มข้น 0.2 0.4 0.8 และ 1% (v/v) ตามลำดับ เพื่อลดปริมาณ *S.* Typhimurium บนผลมะเขือเทศพบว่าสารสกัดใบฝรั่ง 10 mg/ml ร่วมกับกรดแลคติก 1% (v/v) มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณแบคทีเรียได้มากที่สุดโดยเหลือเพียง <1 log CFU/tomato นอกจากนี้ระยะเวลาแช่มะเขือเทศที่เหมาะสม ที่ระยะเวลาสัมผัส 0 15 30 45 และ 60 นาที เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคบนมะเขือเทศนั้น พบว่าเวลาในการแช่ 60 นาที ให้ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด

Zhang และ Farber (1996) รายงานประสิทธิภาพการใช้กรดแลคติกและกรดแอซีติกเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง กับเมื่อใช้กรดเสริมในสารละลายคลอรีน เพื่อลดปริมาณ ในผักสด (ผักกาดหอมและกะหล่ำปลี) พบว่ากรดแลคติกที่มีความเข้มข้น 1% และที่ทุกระดับความเข้มข้น (0.5 0.75 และ 1%) เมื่อ

ใช้ร่วมกับสารละลายคลอรีนที่ความเข้มข้น 100 ppm จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ดีกว่าการใช้กรดหรือสารละลายคลอรีนเพียงอย่างเดียว สำหรับกรดแอซีติก ให้ผลในทำนองเดียวกันกับกรดแลคติก

Adams และคณะ (1989) เปรียบเทียบประสิทธิภาพของกรดอนินทรีย์ (H_2SO_4) และกรดอินทรีย์ (กรดแอซีติก กรดแลคติก และกรดโพรพิออนิก) ในการลดปริมาณแบคทีเรียในขั้นตอนการล้างผักกาดหอมเพื่อใช้ทำสลัด ทั้งที่ใช้กรดอย่างเดียว และเมื่อใช้กรดร่วมกับสารประกอบคลอรีนที่ความเข้มข้น 100 ppm โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 4.5-5.0 พบว่าการใช้กรดร่วมกับสารประกอบคลอรีนสามารถลดปริมาณเชื้อได้มากกว่า 1.5-4.0 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการยับยั้งจุลินทรีย์เมื่อใช้สารละลายคลอรีนเพียงอย่างเดียว

นอกจากนี้ยังมีสารที่เป็นทางเลือกในการประยุกต์ใช้ เช่น กรดเปอร์ออกซีอะซิติก และ KILLBACT-SU® ซึ่งในปริมาณการใช้ที่เหมาะสมจะช่วยในการล้างผักเพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้น

2.6 กรดเปอร์อะซิติก (Peracetic Acid)

2.6.1 คุณสมบัติของกรดเปอร์อะซิติก

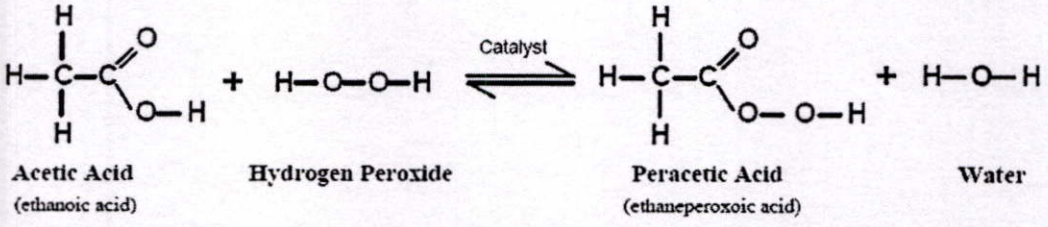
กรดเปอร์อะซิติก หรือที่รู้จักกันโดยทั่วไปคือ กรดเปอร์ออกซีอะซิติก เป็นสารออกซิไดซิ่งรุนแรง ซึ่งมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นรุนแรงกว่า คลอรีนหรือ คลอรีนไดออกไซด์ สารละลายใสไม่มีสี มีกลิ่นฉุนเหมือนน้ำส้มสายชู มีความเสถียรในอุณหภูมิห้อง โดยที่อุณหภูมิสูงขึ้นจะเป็นการเร่งให้เกิดการสลายตัวของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ควรเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 70 องศาฟาเรนไฮต์ (ตารางที่ 2.2) ไม่ทำให้เกิดการย่อยสลายในผลิตภัณฑ์อาหารเนื่องจากไม่มีผลต่อเอนไซม์ catalase และ peroxidase (FMC Corp., 1981) โดยทั่วไปมักใช้ในกระบวนการเกี่ยวกับเยื่อและกระดาษ (Pan และคณะ, 1999) เมื่อสารละลายกรดเปอร์ออกซีอะซีติกสลายตัว จะได้น้ำ ออกซิเจน และกรดอะซีติก ซึ่งเป็นสารที่ไม่เป็นพิษในอาหารและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังไม่ทำให้เกิดโฟมและสารประกอบฟอสเฟต ไม่มีคุณสมบัติในการกัดกร่อนแสตนเลส อลูมิเนียม รวมถึงดีบุก กรดเปอร์ออกซีอะซีติกสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ในน้ำกระด้างและย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (ศศิกานต์, 2544)

ตารางที่ 2.2 ค่าความเสถียรของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก 5% ภายใต้การเก็บรักษาที่สภาพแวดล้อมต่างๆ

อุณหภูมิ (^{0}F)	เวลา (เดือน)	การสูญหายของกรดเปอร์อะซิติก (%)
60	6	<5
	12	<5
	18	<5
77	6	<5
	12	5
	18	10
95	6	5
	12	10
	18	20

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Davidson (2005)

ทางด้านการค้ากำหนดให้สารละลายกรดเปอร์อะซิติก (ความเข้มข้น 4 - 40%) ประกอบด้วย กรดอะซิติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดซัลฟิวริก กรดฟอสฟอริก และ/หรือ stabilizer (FMC Corp., 1981) โดยเป็นสารที่เตรียมจากสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดปฏิกิริยาแคตตาไลท์กับสารละลายกรดอะซิติกรูปที่ 2.1 โดยสารดังกล่าวจะมีการเตรียมโดยมีส่วนประกอบด้วยสารเสถียรสังเคราะห์ เช่น 1-hydroxyethylidene-1,1-diphosphonic acid (HEDP) หรือ กรด 2,6-pyridinedicarboxylic (dipicolinic) ซึ่งจะทำให้มีอัตราการเกิดออกซิเดชั่น หรือการสลายตัวที่ช้า (Kurschner และ Diken, 1997)



ภาพที่ 2.1 การเกิดปฏิกิริยาแคตตาไลท์ของกรดอะซิติก และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ที่มา: http://peragen.com/downloads/paaproductinfo.pdf

โดยทั่วไปมักใช้ กรดเปอร์อะซิติกในกระบวนการผลิตอาหารและใช้เป็นสารทำความสะอาดสำหรับพื้นผิวที่มีการสัมผัสโดยตรงกับอาหาร และสารฆ่าเชื้อในผลไม้ ผัก เนื้อสัตว์ และไข่ (Evans, 2000) ข้อกำหนด FDA สาร HEDP อาจจะมีการใช้ร่วมกับกรดเปอร์อะซิติกในระดับที่ไม่เกิน 4.8 ppm ในน้ำล้างผัก ผลไม้

ตามข้อกำหนดของ FDA อนุญาตให้ กรดเปอร์อะซิติกสามารถสัมผัสโดยตรงกับอาหารด้วยการใช้น้ำล้างหรือช่วยในการปอกเปลือกของผลไม้และผัก โดยกรดเปอร์อะซิติกจะมีการตกค้างในน้ำล้าง ผัก และผลไม้ มากที่สุด 80 ppm รวมทั้งอนุญาตให้ใช้เป็นสารทำความสะอาดบนพื้นผิวที่มีการสัมผัสกับอาหาร โดยค่าการตกค้างมากที่สุด 200 ppm และนอกจากนี้ยังได้ถูกจดทะเบียนใน EPA section 3 เป็นที่รู้จักทั่วไปในปี ค.ศ. 1950 ใช้สำหรับล้างผัก และผลไม้ ในการลดการเน่าเสียที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา ในกระบวนการผลิต (Greenspan และ Margulies, 1950) ได้เริ่มมีการใช้กรดเปอร์อะซิติกในระบบฆ่าเชื้อในน้ำล้างที่ใช้ในการผลิตอาหารสด ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้เป็นสารฆ่าเชื้อในเนื้อสัตว์และสัตว์ปีก เมื่อเทียบกับการใช้คลอรีนและการฉายแสง (Lokkesmoe และ Olson, 1993)

2.6.2 กลไกลการยั้บยั้งจุลินทรีย์ของกรดเปอร์อะซีติก

กรดเปอร์อะซิติกเป็นสารฆ่าเชื้อโดยการออกซิไดซิ่งเซลล์เมมเบรนของเชื้อจุลินทรีย์ เอนโดสปอร์ ยีสต์ และสปอร์รา สามารถทำลายเซลล์แบคทีเรียได้โดยการรบกวนพันธะ sulfhydryl และ sulphur ในโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ โดยทำหน้าที่เป็นสารออกซิไดส์ นอกจากนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ รวมถึงการทำให้โปรตีนเสียสภาพ ขัดขวางการขนส่งของผนังเซลล์และเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ สามารถรบกวนการผ่านเข้าออกที่เยื่อหุ้มเซลล์ทำให้การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนที่ไหลผ่านเข้าออกอย่างรวดเร็วและเร็วมากจนเซลล์ไม่สามารถทำงานได้ จึงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และทำให้เซลล์ถูกทำลายในที่สุด (Cords และ Dychdala, 1993)

2.6.3 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ของกรดเปอร์อะซีติก

ประสิทธิภาพสารฆ่าเชื้อของกรดเปอร์อะซีติกขึ้นกับอิทธิพลปัจจัยมากมายเช่น ความเข้มข้น ระยะเวลาสัมผัส อุณหภูมิ และ pH ของสารละลาย รวมถึงปัจจัยอื่นที่เป็นสารอินทรีย์ที่มีการปนเปื้อนและขอบเขตจำกัดของน้ำกระด้าง (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.3 ประสิทธิภาพการลดสปอร์ของสารประกอบกรดเปอร์อะซีติก

	Innoculum	อุณหภูมิ	สารประกอบกรดเปอร์อะซีติก (PPM)		
	(ml^{-1})	(^0F)	200	300	400
Bacillus cereus	3×10^7	41	>60[a]	>60	>60
		50	>60	>60	>60
		68	>60	60	60
		104	40	20	10
Bacillus subtilis	1×10^7	41	>60	60	40
		50	>60	>60	40
		68	10	10	5
		104	10	5	1
Bacillus mesentericus	2×10^8	41	>60	>60	>60
		50	>60	>60	>60
		68	>60	40	20
		104	60	40	5
Thermophilic spore formers	4×10^8	41	>60	40	40
		50	40	40	40
		68	20	5	5
		104	5	2.5	2.5
Clostridium perfringens	1×10^7	41	>60	20	10
		50	>60	10	10
		68	20	5	5
		104	2.5	1	1
Clostridium sp.	1×10^7	41	40	20	10
		50	40	10	10
		68	2.5	2.5	2.5
		104	2.5	1	1

[a] นาทีในการฆ่าเชื้อ (เวลาที่ถูกกำหนดไม่สามารถตรวจพบการเหลือรอดของเชื้อ)

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Davidson (2005)

2.6.3.1 ความเข้มข้น

กรดเปอร์อะซีติกมีประสิทธิภาพการเป็นสารฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น Krzywicka (1970) ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์พบว่า *B. cereus* จะถูกฆ่าในเวลา 3 นาทีเมื่อสัมผัสกับ 0.3% กรดเปอร์อะซีติก แต่ใช้เวลาถึง 90 นาที ในการสัมผัสเมื่อใช้กรดเปอร์อะซีติก 0.01% ที่ความเข้มข้นสูงของกรดเปอร์อะซีติก (ตั้งแต่ 0.5% ขึ้นไป) สามารถใช้ทำลายสปอร์ในอุปกรณ์และบรรจุภัณฑ์ ในเวลาที่กำหนด จากตารางที่ 2.4 แสดงประสิทธิภาพการลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารประกอบกรดเปอร์อะซีติก

ตารางที่ 2.4 กิจกรรมของสารประกอบกรดเปอร์อะซีติก

	Innoculum	อุณหภูมิ	สารประกอบกรดเปอร์อะซีติก (PPM)	
	(ml^{-1})	(^0F)	80	400
	Gram-Positive Bacteria			
Staphylococcus aureus	3×10^8	41	5[a]	2.5
		50	2.5	2.5
		68	2.5	1
		104	1	0.5
Staphylococcus faecalis	7×10^7	41	2.5	0.5
		50	2.5	2.5
		68	2.5	2.5
		104	1	0.5
	Gram-Negative Bacteria			
Pseudomonas aeruginosa	2×10^8	41	1	1
		50	2.5	1
		68	1	0.5
		104	1	0.5
Enterobacter aerogenes	4×10^8	41	1	1
		50	1	1
		68	1	1
		104	1	0.5

ตารางที่ 2.4 กิจกรรมของสารประกอบกรดเปอร์อะซีติก (ต่อ)

	Innoculum	อุณหภูมิ	สารประกอบกรดเปอร์อะซีติก (PPM)	
	(ml^{-1})	(^0F)	80	400
Salmonella Typhimurium	2.4×10^9	41	2.5	2.5
		50	2.5	2.5
		68	2.5	2.5
		104	1	1
Salmonella Dublin	1.1×10^9	41	2.5	2.5
		50	2.5	2.5
		68	1	1
		104	1	1
		Yeast		
Saccharomyces cerevisiae	8×10^7	41	20	10
		50	10	5
		68	2.5	1
		104	1	0.5
Saccharomyces diastalicus	9×10^7	41	5	2.5
		50	5	2.5
		68	2.5	2.5
		104	1	1
Candida mycoderma	9×10^7	41	120	40
		50	90	40
		68	40	10
		104	2.5	1
Hansenula anomala	6×10^7	41	>120	40
		50	40	40
		68	10	2.5
		104	1	0.5

ตารางที่ 2.4 กิจกรรมของสารประกอบกรดเปอร์อะซีติก (ต่อ)

	Innoculum	อุณหภูมิ	สารประกอบกรดเปอร์อะซีติก (PPM)	
	(ml^{-1})	(^0F)	80	400
Pichia membranaefaciens	9×10^7	41	>120	40
		50	60	20
		68	20	10
		104	5	2.5
		Molds		
Penicillium camerunense	9×10^7	41	>120	90
		50	>120	90
		68	20	10
		104	2.5	1
Aspergillus niger	1×10^7	41	>240	>240
		50	>240	>240
		68	90	60
		104	10	5
Mucor sp.	8×10^6	41	>240	>240
		50	>240	>240
		68	20	5
		104	2.5	1
Geotrichum candidum	8×10^7	41	60	40
		50	40	10
		68	20	5
		104	2.5	1

[a] นาทีในการฆ่าเชื้อ (เวลาที่ถูกกำหนดไม่สามารถตรวจพบการเหลือรอดของเชื้อ)

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Davidson (2005)

2.6.3.2 ความเป็นกรด-ด่าง

ความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ ในการศึกษาของ Dychdala และ Koroma (1986) แสดงการทดสอบกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 0.25% และ 0.40% ที่ปริมาณ 500 ppm ต่อการทำลายเชื้อ *E. coli* ในน้ำกระด้างแสดงให้เห็นว่าสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 99.999% ที่ pH 3.5 5.5 และ 7.0 ที่ระยะเวลา 30 วินาที กิจกรรมของสารฆ่าเชื้อจะลดลงเมื่อทำการเพิ่มช่วง pH ให้สูงกว่า 7 โดย Tichacek (1966) แสดงผลให้เห็นว่าทำให้เกิดการลดประสิทธิภาพจึงต้องมีการเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติก ดังจะเห็นได้ว่า pH สูงไม่ได้มีผลกระทบต่อกลไกการทำงานของสารแต่แสดงให้เห็นถึงความล่าช้าในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 ผลของความเป็นกรด-ด่าง ต่อการเหลือรอดของจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ (*B. subtilis* ATCC 9372) ที่ 0.03% ของกรดเปอร์อะซิติก

pH	2	4	5	7	8
Log reduction	4	3	2	1	<1

ที่มา: Davidson (2005)

2.6.3.3 ผลของอุณหภูมิ

กรดเปอร์อะซิติกมีผลต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ เมื่อถูกทดสอบที่อุณหภูมิต่ำ โดยได้มีการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ในสารอินทรีย์ (Taylor และคณะ, 1999) คุณสมบัติดังกล่าวนี้ทำให้ กรดเปอร์อะซิติกได้เปรียบกว่าสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆที่ประสิทธิภาพจะมีผลกระทบจากอุณหภูมิต่ำ การเพิ่มอุณหภูมิจะแสดงให้เห็นถึงการปรับปรุงประสิทธิภาพของกรดเปอร์อะซิติกอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการทดสอบต่อแบคทีเรียที่สร้างสปอร์และรา Swart (1990) แสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิต่อการยับยั้งสปอร์ของกรดเปอร์อะซิติก ในการศึกษาจะสามารถยับยั้งสปอร์ได้ในเวลา 360 นาที ที่ความเข้มข้น 5% ณ อุณหภูมิ 20 องศาเซลซียส ในขณะที่ความเข้มข้นเดียวกันที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะสามารถยับยั้งสปอร์ได้ภายในเวลา 2.5 นาที การศึกษาประสิทธิภาพโดย Ecolab (2000) พบว่า 99.999% สามารถลดเชื้อ *A. niger, S. cerevisiae* และ *Pediococcus damnosus* ภายในเวลา 7 วินาที ด้วยการใช้ กรดเปอร์อะซิติก 380 ppm ที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

2.6.3.4 ผลของปัจจัยอื่นๆ

สารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกไม่ปรากฏพบผลกระทบอย่างรุนแรงในน้ำกระด้าง เมื่อทำการทดสอบกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 150 ppm ต่อเชื้อ *E.coli* และ *S. aureus* ที่มีน้ำกระด้างอยู่ 500 ppm สามารถลดเชื้อได้ 99.999% ในระยะเวลา 30 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง (Ecolab, 2000a) การปนเปื้อนของสารอินทรีย์อาจมีผลกระทบต่อการทำงานของกรดเปอร์อะซิติกสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกมีผลต่อ *Mycobacterium bovis* สามารถทำลายที่ความเข้มข้น 0.0125% ภายในเวลา 10-20 นาที แต่ในการฆ่าเชื้อที่มีการปนเปื้อนอุจจาระวัว จะต้องเพิ่มความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกเป็น 0.05% ที่ระดับความเป็นกรดที่เท่ากัน (Pavlas, 1967) ถึงแม้ว่าการปนเปื้อนของสารอินทรีย์จะมีผลต่อการทำงานของกรดเปอร์อะซิติกแต่ก็เป็นหนึ่งในผลกระทบที่น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับสารฆ่าเชื้อในผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ตารางที่ 2.6 แสดงประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อการเหลือรอดของเชื้อ *L. monocytogenes* และ *Pseudomonas* ที่ผสมกันในสารละลายนม และตารางที่ 2.7 ผลความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกต่อการเหลือรอดแบคทีเรียสร้างสปอร์ (Bacillus subtilis ATCC 9372)

ตารางที่ 2.6 การเหลือรอดของเชื้อที่ผสมกันระหว่าง *L. monocytogenes* และ *Pseudomonas* ในชั่วโมงที่ 4 ที่มีสารละลายนม 5%

Microorganism	Sanitizer	ความเข้มข้น (mg/L) และ ระยะเวลาสัมผัสสาร			
		80		160	
		1 min	5 min	1 min	5 min
Listeria	PAA	5.4[a]	1.6	1.2	0.7
	POA/PAA[b]	1.3	1.3	0.8	0.5
	Chlorine	TN	TN	>50	>50
Pseudomonas	PAA	4.1	5.4	2.5	1.5
	POA/PAA[b]	4.8	5	2.6	1.8
	Chlorine	TN	TN	>100	>100

หมายเหตุ: TN คือการเหลือรอดของเชื้อที่ไม่สามารถนับได้

[a] คือ ผลการรายงานการเหลือรอดของเชื้อ (CFU/cm^2)

[b] คือ การผสมกันระหว่างกรดเปอร์อะซิติก และกรดเปอร์ออกซีออกทาโนอิค

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Davidson (2005)

ตารางที่ 2.7 ผลความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกต่อการเหลือรอดแบคทีเรียสร้างสปอร์ (*B. subtilis* ATCC 9372)

ความเข้มข้น (%)	0.01	0.02	0.03	0.05	0.2
Log reduction	<1	1	2	4	5

ที่มา: Davidson (2005)

2.6.4 การใช้กรดเปอร์อะซิติกในการฆ่าเชื้อในผักและผลไม้

จากสถานการณ์และข้อมูลเบื้องต้นจึงได้มีผู้ที่ศึกษาค้นคว้าวิจัย ดังนี้

Orth และคณะ (1989) รายงานที่ความเข้มข้นของกรดเปอร์ออกซีอะซิติก 40-200 ppm ได้มีการใช้งานของกรดเปอร์ออกซีอะซิติก ที่มีการใช้เดี่ยวหรือใช้ร่วมกับส่วนประกอบอื่น พบว่ามีผลต่อการลดจุลินทรีย์ 2-9 กลุ่ม จากจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีการปนเปื้อน และยังรวมไปถึงสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคคือ *L. monocytogenes* *E. coli* O157:H7 และ *Salmonella* spp. บนผักและผลไม้ หรือในตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ

Masson (1990) ในการล้างด้วยเปอร์ออกซีอะซิติก (เปอร์อะซิติก) 90 ppm หรือ คลอรีน 100 ppm จะสามารถลดปริมาณ total counts และ fecal coliforms ในสลัดมิกเซอร์ ได้เกือบทั้งหมด ต่อมาภายหลังจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาสลัดผัก ด้วยเหตุผลว่าเกิดจากการทำงานของกรดเปอร์อะซิติกที่เหลือ (FDA, 2001)

Winniczuk (1994) จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์บนผิวส้มจะถูกลดลง 85% หลังจากทำการขัดล้างในน้ำ ซึ่งถูกตามด้วยการแช่ในกรดเปอร์อะซิติก 200 ppm นาน 15 วินาที เมื่อเปรียบเทียบกับการลดลง 60% ในการขัดล้างในน้ำธรรมดา (FDA, 2001)

USFDA (2001) ได้มีรายงานแสดงสถิติในการล้างมะเขือเทศด้วยสารฆ่าเชื้อที่ประกอบด้วยกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวนาน 2 นาที ในการลด *S.* Javiana *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 โดยลดลง 96 99.96 และ 99.5% ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ โดยในผลการทดลองแบบเดียวกันหากใช้สารฆ่าเชื้อที่ประกอบ ด้วยกรดเปอร์อะซิติก 40 ppm ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว (FDA, 2001)

Howarth และ Rodrigues (2008) ได้ทำการศึกษาหาประสิทธิภาพของน้ำ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และกรดเปอร์ออกซีอะซิติก ในการกำจัดเชื้อ *S.* Typhimurium บนผิวมะเขือเทศการล้างทำความสะอาดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 40 ppm นาน 5 นาที จะสามารถลดจำนวนลงได้ 0.75 log

CFU/มะเขือเทศ โดยคิดเป็น 81.8% เมื่อเทียบกับการล้างด้วยน้ำประปาเพียงอย่างเดียว ในทางตรงกันข้ามการใช้สารละลายกรดเปอร์ออกซีอะซิติก 40 ppm ในการล้างที่ 1 นาที จะทำการลดเชื้อ *Salmonella* ที่ผิวมะเขือเทศได้ 1.32 log CFU/มะเขือเทศ เมื่อเทียบกับการล้างด้วยน้ำประปาเพียงอย่างเดียว เมื่อทำการแสดงเป็น % ในการลดปริมาณเชื้อเมื่อเทียบกับน้ำประปาจะสามารถลดได้ 94.6% และที่เวลา 5 นาทีของการล้างจะลดลงได้ 95.9%

2.7 สารฆ่าเชื้อ KILLBACT-SU®

สารละลาย KILLBACT-SU® เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Coliforms และแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) ที่อยู่บนพื้นผิวของอาหาร หรือพื้นผิวของวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ผลิตและประกอบอาหาร (ตารางที่ 2.8) ประกอบด้วยสารประกอบหลักที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร เช่น เอทานอล 44.7 – 49.4% (w/w) และ กรดแลคติก 0.4% (w/w) มี pH ประมาณ 3.9 – 4.5 ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่น สารละลาย KILLBACT®-SU สามารถนำไปใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผักสดได้โดยทำการจุ่มผักประเภท ใบ/ผลอ่อน ลงในสารละลาย KILLBACT-SU® 100% เป็นเวลา 30 วินาที หรือจุ่มผักประเภทผล/ราก/หัว เป็นเวลา ≥ 30 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำ ก็จะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ (อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี, 2007)

ตารางที่ 2.8 การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์บนพื้นผิวอุปกรณ์ประกอบอาหาร

Item	Microbes	Before spray KILLBACT-SU (CFU/100 cm^2)	After spray KILLBACT-SU (CFU/100 cm^2)
Kitchen knife	General microbes	2.5×10^3	<10
	Coliforms	1.0×10^2	<10
Cutting board	General microbes	7.2×10^3	<10
	Coliforms	4.0×10^2	<10
Kitchen table	General microbes	2.8×10^2	<10
	Coliforms	<10	<10
Sink	General microbes	1.0×10^2	<10
	Coliforms	2.2×10^3	<10

ที่มา: อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี (2007)

KILLBACT-SU® มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าเอทานอล (Ethanol) แม้แต่ความเข้มข้นต่ำ จึงสามารถใช้ได้แม้ในสภาพพื้นผิวอาหาร หรือพื้นผิววัสดุอุปกรณ์ที่เปียก โดยไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ลดลง ดังตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ระหว่าง KILLBACT-SU® และเอทานอล ที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 นาที

	Microbial strains	Concentration (%)								
		80	70	60	50	40	30	20	10	5
Ethanol	*Staphylococcus aureus*	O	O	O	X	X	X	X	X	X
	Salmonella spp.	O	O	O	O	O	X	X	X	X
	Lactic acid bacteria	O	O	O	O	X	X	X	X	X
	E. coli	O	O	O	O	X	X	X	X	X
	Yeast	O	O	X	X	X	X	X	X	X
	Mold	O	O	X	X	X	X	X	X	X
KILLBACT®-SU	*Staphylococcus aureus*	O	O	O	O	O	O	O	X	X
	Salmonella spp.	O	O	O	O	O	O	O	O	X
	Lactic acid bacteria	O	O	O	O	O	O	O	X	X
	E. coli	O	O	O	O	O	O	O	X	X
	Yeast	O	O	O	O	X	X	X	X	X
	Mold	O	O	O	O	X	X	X	X	X

หมายเหตุ: O = sterilize, X = not sterilize

ที่มา: อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี (2007)

สารฆ่าเชื้อ KILLBACT-SU® สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการลดเชื้อ TPC และ *E. coli* ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้สด โดยวิธีการจุ่มผักประเภท ใบ/ผลอ่อน ลงในสารละลาย KILLBACT-SU® 100% เป็นเวลา 30 วินาที หรือจุ่มผักประเภท ผล/ราก/หัว เป็นเวลา ≥ 30 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำ ตามตารางที่ 2.10 และตารางที่ 2.11 (อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี, 2007)

ตารางที่ 2.10 ผลการล้างผักด้วย KILLBACT-SU® ต่อเชื้อ Total Plate Count (CFU/g., CFU/Piece)

ชนิดของผัก	วิธีการล้าง	ก่อนล้าง	หลังล้าง	ล้างด้วยน้ำ
Garlic	100%KB-SU, 30 sec	1.2 x 10	0	1.0 x 10
Ginger	100%KB-SU, 30 sec	1.4×10^5	9.6×10^3	8.0×10^4
Eggplant	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	2.0×10^5	5.1×10^3	2.5×10^5
Basil	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	1.9×10^6	9.1×10^4	5.3×10^5
Sweet basil	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	2.2×10^6	9.8×10^4	6.6×10^6
Saw tooth coriander	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	1.1×10^6	3.2×10^3	2.4×10^5
Spring onion	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	5.3×10^6	6.8×10^3	5.9×10^3
Chinese chive	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	2.5×10^5	1.4×10^4	1.8×10^5
Celery	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	1.3×10^6	5.8×10^3	1.3×10^6
Coriander	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	4.7×10^6	6.1×10^4	2.5×10^6
Ooba	50%KB-SU, 30 sec -> NaHCO3	6.6×10^6	1.9×10^5	6.8×10^6
Cucumber	100%KB-SU, 3 min -> Wash	1.3×10^6	3.9×10^3	4.4×10^6
Tomato	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	2.1×10^5	1.7×10^3	4.0×10^4
Bell pepper	100%KB-SU, 30 sec	1.3×10^5	1.0 x 10	-
Egg plant (Violet)	100%KB-SU, 30 sec	1.3×10^4	1.0 x 10	-
Apple	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	3.0×10^2	< 10	2.8×10^3

ที่มา: อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี (2007)

ตารางที่ 2.11 ผลการล้างผักด้วย KILLBACT-SU® ต่อเชื้อ *E. coli* (CFU/g., CFU/Piece)

ชนิดของผัก	วิธีการล้าง	ก่อนล้าง	หลังล้าง	ล้างด้วยน้ำ
Garlic	100%KB-SU, 30 sec	0	0	0
Ginger	100%KB-SU, 30 sec	9.5×10^4	1.0×10^4	3.5×10^4
Eggplant	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	8.5×10^4	8.6×10^2	7.2×10^3
Basil	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	3.5×10^5	8.6×10^3	1.2×10^5
Sweet basil	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	2.9×10^5	5.4×10^4	2.3×10^5
Saw tooth coriander	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	1.1×10^4	6.5×10	6.5×10^2
Spring onion	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	1.6×10^5	1.2×10^4	4.0×10^2
Chinese chive	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	4.5×10^4	3.0×10^3	1.8×10^5
Celery	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	3.8×10^3	1.3×10^2	1.2×10^3
Coriander	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	2.5×10^5	8.0×10^3	4.2×10^5
Ooba	50%KB-SU, 30 sec -> NaHCO3	1.7×10^3	1.5×10	3.5×10^2
Cucumber	100%KB-SU, 3 min -> Wash	2.3×10^4	3.0×10	1.7×10^4
Tomato	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	6.7×10^4	1.1×10^3	1.6×10^4
Bell pepper	100%KB-SU, 30 sec	1.2×10^2	<10	-
Egg plant (Violet)	100%KB-SU, 30 sec	5.3×10^2	<10	-
Apple	100%KB-SU, 30 sec -> Wash	1.5×10	< 10	2.5×10

ที่มา: อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี (2007)

บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

3.1.1 มะเขือเทศเชอรี่

ใช้มะเขือเทศเชอรี่สดซื้อจากห้างสรรพสินค้าโดยก่อนนำมาใช้ในการทดลองต้องทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

3.2.1	หม้อนึ่งความดันไอน้ำ	HA-240 MN	Hirayama	Japan
3.2.2	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	AB 104	Mettler Toledo	Switzerland
3.2.3	ตู้อบฆ่าเชื้อ	UL50	Memmert	Germany
3.2.4	ตู้บ่มเพาะเชื้อ	B30	Memmert	Germany
3.2.5	ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Air Flow)	BS24 9BP	Bio safety	UK
3.2.6	วอร์เทกซ์ มิกเซอร์	G-560 E	Scientific	U.S.A
3.2.7	เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter)	CG841	Schott gerate	Germany
3.2.8	เครื่องแก้ว			
3.2.9	จานเพาะเชื้อพลาสติก			
3.2.10	เวอเนียร์แคลลิปเปอร์			
3.2.11	เครื่องเจาะ agar			

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

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

3.3.5	Mueller Hinton Agar (MHA)	Merck	Germany
3.3.6	Diluent (0.1% BPW)	Merck	Germany

3.4 สารเคมี

3.4.1	Peracetic acid	Chemserve	Thailand
3.4.2	KILLBACT	อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี	Thailand
3.4.3	แอลกอฮอล์ 70% และ 90%	Sigma	Malaysia

3.5 เชื้อจุลินทรีย์

3.5.1 เชื้อบริสุทธิ์ *Salmonella* Stanley สายพันธุ์ที่ตรวจพบจากมะเขือเทศพันธุ์สีดา (อรุณ และคณะ, 2551) ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์การเก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 การเตรียมสารละลายเชื้อบริสุทธิ์

3.6.1.1 การทำ Stock culture เชื้อ *S.* Stanley

เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ *S.* Stanley ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อจำนวน 1 ลูป ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 10 ml บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อลงบนหลอดเอียงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA slant เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็น stock culture โดยดำเนินการเดือนละครั้งระหว่างการทดลอง (ดัดแปลงมาจาก มนทกานต์, 2545)

3.6.1.2 การเตรียมสารละลายเชื้อ *S.* Stanley

เตรียมเชื้อบริสุทธิ์ *S.* Stanley สำหรับการทดลองแต่ละครั้ง โดยนำหลอด TSA slant ที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB โดยถ่ายเชื้อ 1 ลูป จากหลอด TSA slant ลงใน TSB 10 ml เพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปิเปต

สารละลายที่มีเซลล์เจริญปริมาตร 1 ml ลงใน TSB 99 ml ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง เมื่อจะนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อ เจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% ปรับให้ได้จำนวนเซลล์ที่ต้องการ (ดัดแปลงมาจาก มนทกานติ์, 2545)

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

3.6.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อที่สภาวะเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley

3.6.2.1 การศึกษาผลความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley โดยวิธีการ agar well diffusion assay

ทำการทดลองหาความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley โดยดัดแปลงมาจากวิธีของ Huys และคณะ (2002) ดังนี้ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) 10 ml ในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้ให้แข็งที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที จากนั้นเททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA 5 ml ที่มีการเติมสารแขวนลอยเซลล์ *S.* Stanley (จากการเตรียมในข้อ 3.6.1.2) 20 ไมโครลิตร ทำการ pour plate เพื่อให้เซลล์กระจายทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที เขียนระบุตำแหน่งทำการเจาะวุ้นในจานอาหารให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร กำหนดระยะห่างเท่าๆกัน ทดสอบการยับยั้งโดยใช้สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 25 50 และ75% และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 20 40 และ60 ppm และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอย่างควบคุมในการเปรียบเทียบ เติมตัวอย่างของสารละลายจนเต็มหลุม จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 20 ชั่วโมง บันทึกผลการทดลองโดยใช้เวอเนียร์แคลลิปเปอร์วัดโซนยับยั้งซึ่งมีลักษณะใส (inhibition zone) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

ในงานวิจัยนี้ออกแบบแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) เพื่อทำการศึกษาการยับยั้งการเจริญของ *S.* Stanley โดยใช้สารละลายกรดเปอร์อะซิติก และสารละลาย KILLBACT-SU® ในการทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion assay โดยมีขนาดของโซนยับยั้งเป็นตัวแปรตอบ

3.6.2.2 ประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ในหลอดทดลอง

เตรียมสารละลายเปปโตน 0.1% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อปรับให้มีความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อตามกลุ่มทดลองดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 สารละลายเปปโตน 0.1% ที่ไม่เติมสารฆ่าเชื้อใดๆ (ตัวอย่างควบคุม)

กลุ่มที่ 2 สารละลายเปปโตน 0.1% ที่ผสมสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 25 50 และ 75%

กลุ่มที่ 3 สารละลายเปปโตน 0.1% ที่ผสมสารสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 20 40 และ 60 ppm

ทำการเตรียมเชื้อ *S.* Stanley (จากการเตรียมในข้อ 3.6.1.2) ปริมาตร 1 ml ปิเปตลงในแต่ละหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 0.1% ปรับระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อตามกลุ่มทดลองดังกล่าว และตัวอย่างควบคุม โดยทุกสภาพการศึกษาระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อและตัวอย่างควบคุมให้มีปริมาณเซลล์ตั้งต้น 10^6 CFU/ml บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0 1 5 10 และ 15 นาที (ดัดแปลงมาจาก จิราวรรณ, 2552)

จากนั้นทำการตรวจสอบการเจริญของเชื้อด้วยวิธี pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 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 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เลือกความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดจำนวนเชื้อ

การศึกษาการทดลองเพื่อหาความเข้มข้น และระยะเวลา ที่เหมาะสมของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก และสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley ในหลอดทดลอง ทำการวางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) จัดการทดลองแบบแฟคทอเรียลโดยมีปัจจัยคือความเข้มข้น และระยะเวลาในการล้าง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยจำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley เป็นตัวแปรในการศึกษา และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS

3.6.3 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อบางชนิดต่อเชื้อ *S.* Stanley บนมะเขือเทศเชอรี่

3.6.3.1 การเตรียมตัวอย่างมะเขือเทศเชอรี่

มะเขือเทศเชอรี่สดซื้อได้จากห้างสรรพสินค้าในกรุงเทพมหานคร เลือกผลที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.0-2.3 ซม. น้ำหนัก 10-12 กรัมต่อผล ล้างด้วยน้ำประปา สะเด็ดน้ำให้แห้งบนตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในตู้ laminar air flow cabinet ที่อุณหภูมิห้อง นำตัวอย่างไปตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธีการ pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และ ตรวจหาเชื้อ *Salmonella* บน

XLD โดยวิธี spot assay บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ดัดแปลงมาจาก จิตศิริ, 2543)

3.6.3.2 การบ่มเชื้อจุลินทรีย์ลงในตัวอย่างมะเขือเทศ

ทำการเตรียมเชื้อ *S.* Stanley (จากการเตรียมในข้อ 3.6.1.2) จะได้จำนวนเซลล์ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^8 CFU/ml สร้างการปนเปื้อนเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศในระดับสูง (ประมาณ 10^6 CFU/ml) และปรับจำนวนเซลล์ให้ได้ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^5 CFU/ml สร้างการปนเปื้อนเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศในระดับต่ำ (ประมาณ 10^3 CFU/ml) โดยใช้อัตราส่วนระหว่างสารละลายเชื้อต่อมะเขือเทศ 4:1 (ml/g) ในถุงโพลีเอทิลีนพร้อมทั้งเขย่าถุงเบาๆ นาน 5 นาที สะเด็ดน้ำให้แห้ง ผึ่งบนตะแกรงปลอดเชื้อในตู้ laminar air flow cabinet เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมะเขือเทศบรรจุในถุงโพลีเอทิลีนเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานจนกว่ามะเขือเทศจะแห้ง ก่อนนำมาทดลอง ตรวจสอบปริมาณเชื้อ *S.* Stanley เริ่มต้นบนมะเขือเทศ ด้วยวิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA และสุ่มตรวจยืนยันโคโลนีที่ขึ้นอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงจำเพาะ XLD agar โดยวิธี spot assay บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ดัดแปลงมาจาก Suwimon, 2010 และจิตศิริ, 2543)

3.6.3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley บนมะเขือเทศเชอรี่

เตรียมกลุ่มตัวอย่างมะเขือเทศที่ผ่านการแช่ในสารละลายกล้าเชื้อ *S.* Stanley ตามข้อ 3.6.3.2 ให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้นบนผิวมะเขือเทศที่ 10^6CFU/g (การปนเปื้อนในระดับสูง) และ 10^3CFU/g (การปนเปื้อนในระดับต่ำ) จากนั้นเตรียมการล้างระหว่างมะเขือเทศเชอรี่ต่อน้ำล้างที่ผสมสารฆ่าเชื้อในความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.2.2 โดยแบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 มะเขือเทศที่ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (ตัวอย่างควบคุม)

กลุ่มที่ 2 มะเขือเทศที่ล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® โดยเลือกความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.2.2

กลุ่มที่ 3 มะเขือเทศที่ล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก โดยเลือกความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.6.2.2

ใช้อัตราส่วนระหว่างมะเขือเทศต่อน้ำล้าง 1 : 10 (g/ml) เขย่าถุงมะเขือเทศนาน 1 นาที และวางถุงมะเขือเทศทิ้งไว้ในระยะเวลาที่เหมาะสมตามข้อ 3.6.2.2 นำตัวอย่างมะเขือเทศที่ผ่านการล้างในกลุ่มทดลอง 2 และ 3 มาจุ่มในน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 20 ml เพื่อล้างสารเคมีที่เหลือออกจากตัวอย่าง สำหรับในตัวอย่างควบคุมให้ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ตรวจปริมาณเชื้อที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศด้วยเทคนิค rinse test (ตามวิธีการข้อ 3.6.5.1) (อรุณ และคณะ, 2551) โดยทำการตรวจสอบจำนวน

เชื้อ *S.* Stanley ด้วยวิธี pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA สุ่มตรวจยืนยันโคโลนีที่ขึ้นอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงจำเพาะ XLD agar โดยวิธี Spot assay บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S.* Stanley สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อยืนยันผล นอกจากนี้สารละลายฆ่าเชื้อที่ผ่านการล้างมะเขือเทศในทุกความเข้มข้น และทุกช่วงระยะเวลา รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างควบคุม ได้ทำการตรวจสอบการฟื้นตัวกลับของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างโดยทำการทดสอบด้วยการสุ่มน้ำล้างในช่วงเวลาต่างๆ ไปเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB และบ่มเป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

การศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก และสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ระยะเวลา และความเข้มข้นที่เหมาะสม ต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley บนมะเขือเทศเชอรี่ วางแผนการทดลองแบบบล๊อกสุ่มสมบูรณ์ (RCBD) ในการล้าง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยจำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley เป็นตัวแปรตอบในการศึกษา และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยข้อมูลโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS

3.6.4 การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

3.6.4.1 การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *S.* Stanley จากมะเขือเทศเชอรี่ด้วยวิธีการ rinse test

ทำการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งใช้มะเขือเทศเชอรี่ 2 ผล ใส่ในถุงโพลีเอทิลลีนเติมสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 10 ml ใช้นิ้วมือถูผ่านถุงโพลีเอทิลลีนบริเวณผิวมะเขือเทศให้ทั่ว เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เกาะหลุดออกมาเป็นเวลา 2 นาที ปิเปตสารละลายตัวอย่างใส่หลอดทดลองที่บรรจุสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 ml เจือจางเชื้อจนได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการ ปิเปตสารละลายที่เจือจางปริมาตร 1 ml ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ดำเนินการด้วยเทคนิค pour plate ตั้งจานเพาะเชื้อทิ้งไว้ให้เย็นจึงกลับจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อ ที่อยู่ระหว่าง 25 - 250 โคโลนี (ดัดแปลงมาจาก อรุณ และคณะ, 2551 และ จิตศิริ, 2543) ดำเนินการสุ่มตรวจยืนยันโคโลนีที่ขึ้นอีกครั้งบนอาหารเลี้ยงจำเพาะ XLD agar ด้วยวิธี spot assay โดยทำการนำไม้จิ้มฟันที่ผ่านการฆ่าเชื้อเขี่ยโคโลนีที่สงสัยลงบน XLD จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูลักษณะโคโลนีเฉพาะของ *S.* Stanley สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา

3.6.5 การศึกษาผลทางด้านประสาทสัมผัสของมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

เตรียมตัวอย่างมะเขือเทศเชอรี่นำไปผ่านการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ ที่ความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองในข้อ 3.6.3.3 ทดสอบปัจจัยคุณภาพในเรื่อง สี กลิ่น ลักษณะปรากฏ และการยอมรับ ด้วยแบบทดสอบ hedonic scale (คะแนน 1-9) โดยผู้ทดสอบ 30 คน ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3-4 องศาเซลเซียส ทดสอบทางประสาทสัมผัสในวันที่ 1 3 5 และ 7 วัน (ดัดแปลงจาก ดวงกมล, 2549)

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

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อที่สภาวะเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley

4.1.1 การศึกษาผลความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley โดยวิธีการ agar well diffusion assay

4.1.1.1 ผลของ KILLBACT-SU® ต่อ *S.* Stanley

การทดสอบประสิทธิภาพโดยอัตราการแพร่ของสารออกฤทธิ์ที่ผ่านไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) ที่มีการเพาะเชื้อ *S.* Stanley ซึ่งจะมีอิทธิพลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (inhibition zone) โดยบอกถึงความสามารถของสารละลายที่แต่ละระดับความเข้มข้น ในการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley โดยอาศัยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 25% 50% และ 75% มีค่ากรด-เบส อยู่ในช่วง 3.67 3.85 และ 4.24 ตามลำดับ เทียบกับตัวอย่างควบคุม (control) ซึ่งใช้น้ำกลั่น พบว่า KILLBACT-SU® สามารถทำให้เกิดโซนยับยั้งที่มีขนาดความกว้างเพิ่มขึ้น ตามลำดับ ผลการยับยั้งแสดงดังภาพที่ 4.1 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 25% เกิดโซนยับยั้งที่มีขนาดความกว้าง 8.51 มิลลิเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 50% และ 75% จะทำให้เกิดโซนยับยั้งขนาด 10.20 และ 11.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 25% เกิดโซนยับยั้งที่มีความแตกต่าง ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม (ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางมีค่า 6.00 มิลลิเมตร) และมีขนาดความกว้างน้อยที่สุดคือ 8.51 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 50% และ 75% มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยโซนยับยั้งที่มีขนาดความกว้างใหญ่ที่สุดคือ 11.27 มิลลิเมตร เกิดจากการยับยั้งสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 75% ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 25% และ 50% ในสารละลาย KILLBACT-SU® มีส่วนประกอบหลักสำคัญคือ เอทานอล (44.7 – 49.4% (w/w)) เอทานอลเป็นสารดูดความชื้น (dehydrating agent) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดความเสียหาย เกิดการสูญเสียสภาพของโปรตีน (denaturalization of proteins) อย่างรวดเร็ว ซึ่งก่อให้เกิดการรบกวนกลไกการเผาผลาญโปรตีน (Larson and Morton, 1991) เกิดสภาวะเครียดซึ่งมีผลต่อกลไกการทำงานภายในเซลล์ ผลการไหลผ่านของเอทานอลและอุณหภูมิที่สูงขึ้นบนกรดไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย

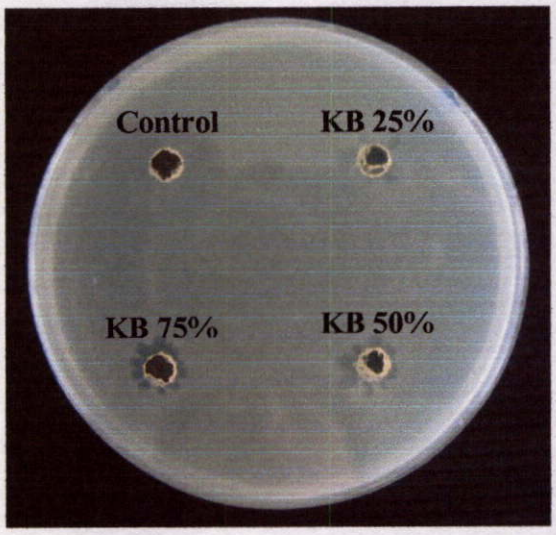
จะมีผลทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น (Casadei, 2001) เกิดการตกตะกอนของโปรตีนและละลายไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์จึงมีผลให้เชื้อจุลินทรีย์ตาย จะออกฤทธิ์ได้อย่างกว้างขวางทั้ง vegetative bacteria โดยจะออกฤทธิ์ได้ดีกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ รวมถึง mycobacteria (Tubercle bacillus) มีผลต่อไวรัส และเชื้อราได้บางชนิด

นอกจากนี้ Ingram และ Buttke (1984) ยังพบว่า เอทานอลที่ความเข้มข้น 15% หรือมากกว่าจะสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างรวดเร็ว การเจริญของแบคทีเรียและราโดยปกติจะถูกป้องกันด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นช่วง 8-11% (v/v) ส่วนยีสต์ที่มีความทนทานมากกว่าจะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้น 15-18% ซึ่ง Morton (1950) ได้รายงานว่าในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่างๆของเอทานอลต่อความหลากหลายของเชื้อจุลินทรีย์อยู่ในช่วงระยะเวลาสัมผัส 10 วินาที ถึง 1 ชั่วโมง โดยที่ Coulthard และ Sykes (1936) พบว่า *Serratia marcescens, E. coli* และ *S. typhosa* จะถูกฆ่าในระยะเวลา 10 วินาที ที่ความเข้มข้นทั้งหมดของเอทานอลจาก 40% ถึง 100% (v/v) แบคทีเรียแกรมบวกอย่างเช่น *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* ที่มีความต้านทานเล็กน้อย เริ่มถูกฆ่าที่ระยะเวลา 10 วินาที ด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 60% ถึง 95%

ตารางที่ 4.1 ผลการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ของสารละลาย KILLBACT-SU® เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control) โดย agar well diffusion assay

ประเภทสารฆ่าเชื้อ	ความเข้มข้น	ขนาดของโซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)
KILLBACT-SU®	Control	$6.00^{a} \pm 0.08$
	25%	$8.51^{b} \pm 0.39$
	50%	$10.26^{c} \pm 0.67$
	75%	$11.27^{d} \pm 0.64$

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



ภาพที่ 4.1 ขนาดของโซนใสของการยับยั้ง *S.* Stanley ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ระดับความเข้มข้น 25% 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control) โดย agar well diffusion assay

4.1.1.2 ผลของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ต่อ *Salmonella* Stanley

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm มีค่ากรด-เบส อยู่ในช่วง 4.13 3.91 และ 3.86 ตามลำดับ เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น ผลการยับยั้งแสดงดังภาพที่ 4.2 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm เกิดโซนยับยั้งที่มีขนาดความกว้าง 8.27 มิลลิเมตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 40 ppm และ 60 ppm จะทำให้เกิดโซนยับยั้งขนาด 9.06 และ 10.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 20 ppm เกิดโซนยับยั้งที่มีความแตกต่าง ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม และมีขนาดความกว้างน้อยที่สุดคือ 8.27 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นที่ 40 ppm และ 60 ppm ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โซนยับยั้งที่มีขนาดความกว้างใหญ่ที่สุดคือ 10.28 มิลลิเมตร เกิดจากการยับยั้งสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 60 ppm ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 20 ppm และ 40 ppm

กรดเปอร์อะซิติกเป็นสารฆ่าเชื้อ โดยการออกซิไดซิ่งเซลล์เมมเบรนของเชื้อจุลินทรีย์ เอนโดสปอร์ ยีสต์ และสปอร์รา สามารถทำลายเซลล์แบคทีเรียได้โดยการรบกวนพันธะ sulfhydryl และ sulphur ในโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ โดยทำหน้าที่เป็นสารออกซิไดส์ นอกจากนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนซึ่งเป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ รวมถึงการทำให้โปรตีนเสียสภาพ ขัดขวางการขนส่งของผนังเซลล์และเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ สามารถ

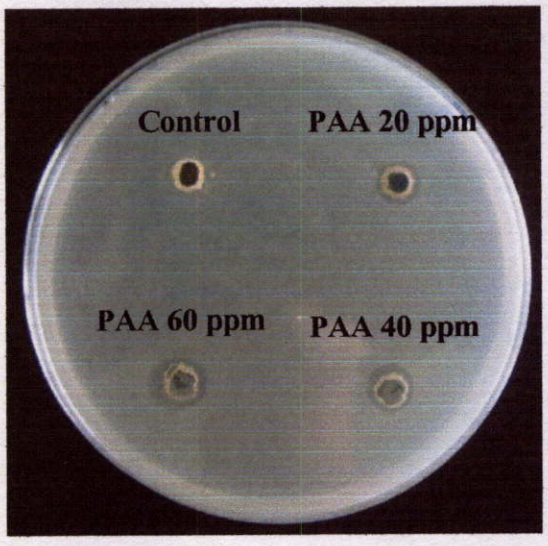
รบกวนการผ่านเข้าออกที่เยื่อหุ้มเซลล์ทำให้การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนที่ไหลผ่านเข้าออกอย่างรวดเร็วและเร็วมากจนเซลล์ไม่สามารถทำงานได้ จึงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และทำให้เซลล์ถูกทำลายในที่สุด (Cords และ Dychdala, 1993)

ตารางที่ 4.2 ผลการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ของ สารละลายกรดเปอร์อะซิติกเทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control) โดย agar well diffusion assay

ประเภทสารฆ่าเชื้อ	ความเข้มข้น	ขนาดของโซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)
สารละลายกรดเปอร์อะซิติก	Control	$6.04^{a} \pm 0.05$
	20 ppm	$8.27^{b} \pm 0.53$
	40 ppm	$9.06^{c} \pm 0.48$
	60 ppm	$10.28^{d} \pm 0.35$

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

กรดเปอร์อะซีติกมีประสิทธิภาพการเป็นสารฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดย Krzywicka (1970) ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์พบว่า *B. cereus* จะใช้เวลาถึง 90 นาที ในการฆ่าเชื้อเมื่อใช้กรดเปอร์อะซีติก 0.01% แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเป็น 0.3% จะใช้ระยะเวลาสัมผัสเพียง 3 นาที Suwimon และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาการลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ที่ปนเปื้อนบนมะเขือเทศโดยใช้ระยะเวลาสัมผัสนาน 10 นาที จะพบว่าที่ความเข้มข้นกรดเปอร์อะซีติก 30 ppm สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 3.86 log CFU/g แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 40 และ 50 ppm พบว่าสามารถลดปริมาณ *E.coli* ได้ 4.39 และ 4.48 log CFU/g ตามลำดับ



ภาพที่ 4.2 ขนาดของโซนใสของการยับยั้ง *S.* Stanley ด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น (control) โดย agar well diffusion assay

4.1.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ในหลอดทดลอง

4.1.2.1 ผลของสารละลาย KILLBACT-SU ต่อ *S.* Stanley ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในสารละลายเปปโตน 0.1% ที่ปรับความเข้มข้นด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 25% 50% และ 75% ดังตารางที่ 4.3 จะพบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley จะลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® เพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 25% ระยะเวลาสัมผัส 1- 15 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 3.72 – 4.01 log cfu/ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อในกลุ่มตัวอย่างควบคุม ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4.3 กล่าวคือ จำนวนเชื้อ *S.* Stanley ณ เวลาสัมผัส 25% ของสารละลาย KILLBACT-SU® 1 5 10 และ 15 นาที จะมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 2.69 2.43 2.30 และ 2.31 log cfu/ml ตามลำดับ และพบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และ 75% จะมีการลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley อย่างรวดเร็ว โดยไม่พบการเจริญของเชื้อตั้งแต่ที่ระยะเวลา 1 นาที ทำการยืนยันผลการทดสอบด้วยการบ่มตัวอย่างที่ตรวจไม่พบเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB 10 ml เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความขุ่นเกิดขึ้น โดยที่ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อที่ระยะเวลาต่างกัน 1 5 10 และ 15 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/ml) ที่เหลือรอดในหลอด สารละลายเปปโตน 0.1% (control) และหลอดสารละลายเปปโตน 0.1% ที่ผสมสารละลาย KILLBACT-SU®ความเข้มข้น 25% 50% และ75%

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/ml) ในหลอดทดลอง			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	$6.41^{c} \pm 0.80$	$6.09^{c} \pm 0.55$	$6.10^{c} \pm 0.13$	$6.32^{c} \pm 0.21$
25%	$2.69^{b} \pm 0.08$	$2.43^{b} \pm 0.08$	$2.30^{b} \pm 0.26$	$2.31^{b} \pm 0.25$
50%	$0.00^{a} \pm 0.00$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *
75%	$0.00^{a} \pm 0.00$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

สารละลาย KILLBACT-SU® เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Coliforms และ แบคทีเรียแลคติก ประกอบด้วยสารประกอบหลัก เช่น เอทานอล 44.7 – 49.4% (w/w) และ กรดแลคติก 0.4 % (w/w) ผลการยับยั้ง *S.* Stanley ของสารละลาย KILLBACT® สอดคล้องกับผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อ โดยตรวจสอบไม่พบเชื้อ *S. aureus* เมื่อใช้สารละลาย KILLBACT-SU® 55% ที่ระยะเวลาฆ่าเชื้อนาน 10 นาที ไม่พบเชื้อ *S.* Choleraesuis เมื่อใช้สารละลาย KILLBACT-SU® 37% ที่ระยะเวลาฆ่าเชื้อนาน 10 นาที นอกจากนี้การใช้ความเข้มข้นตั้งแต่ 10% - 80% นาน 1 นาที สามารถทำให้ปราศจากเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ (อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี, 2007) ผลการตรวจสอบในเชื้ออื่นๆ เช่น ไม่พบเชื้อ *Listeria monocytogenes* ที่มีเชื้อตั้งต้น 7.3×10^{6} cfu/ml โดยใช้ความเข้มข้น 20% ฆ่าเชื้อนาน 1 และ 3 นาที ไม่พบเชื้อ *Vibrio cholera* ที่มีเชื้อตั้งต้น 1×10^{7} cfu/ml โดยใช้ความเข้มข้น 50% ฆ่าเชื้อนาน 1 และ 3 นาที ไม่พบเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ที่เชื้อตั้งต้น 5×10^{8} cfu/ml โดยใช้ความเข้มข้น 50% ฆ่าเชื้อนาน 3 นาที และความเข้มข้น 100% ฆ่าเชื้อนาน 1 นาที (อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี, 2007)

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ในระดับหลอดทดลอง จึงได้ทำการเลือกความข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมโดยสารละลาย KILLBACT-SU® จะใช้

ความเข้มข้นที่ 50% และ 75% ที่ระยะเวลา 1 5 10 และ 15 นาที เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ต่อไป

4.1.2.2 ผลของสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ต่อ *S.* Stanley ในหลอดทดลอง

จากการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในสารละลายเปปโตน 0.1% ที่ปรับความเข้มข้นด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติกความเข้มข้น 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm จากตารางที่ 4.4 พบว่าปริมาณเชื้อเหลือรอดในกลุ่มสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 20 ppm และกลุ่มตัวอย่างควบคุม (สารละลายเปปโตน 0.1%) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ที่สารละลายกรดเปอร์อะซิติก 40 ppm จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 1.23 - 2.01 log cfu/ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อในกลุ่มควบคุม ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 กล่าวคือ จำนวนเชื้อ *S.* Stanley ณ เวลาสัมผัสสารละลายกรดเปอร์อะซิติก 40 ppm ที่ 1 5 10 และ 15 นาที จะมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 5.18 4.47 4.69 และ 4.31 log cfu/ml ตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้น 60 ppm จะสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 2.56 – 6.32 log cfu/ml เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อในกลุ่มควบคุม ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 กล่าวคือ ที่ระยะเวลาสัมผัส 1 5 และ 10 นาที จะมีปริมาณเชื้อเหลือรอดเท่ากับ 3.85 2.12 และ 0.35 log cfu/ml ไม่พบการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley ที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ระยะเวลา 15 นาที ทำการยืนยันผลการทดสอบด้วยการบ่มตัวอย่างที่ไม่ตรวจพบเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความขุ่นเกิดขึ้น ตามตารางที่ 4.4 ปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ระยะเวลา 1 นาที พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับระยะเวลา 5 10 และ 15 นาที ในระดับความเข้มข้นเดียวกัน และที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm พบว่าปริมาณเชื้อเหลือรอดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/ml) ที่เหลือรอดในหลอดสารละลายเปปโตน 0.1% ผสมสารสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *Salmonella* Stanley (log cfu/ml) ในหลอดทดลอง			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	$6.41^{f} \pm 0.80$	$6.09^{f} \pm 0.55$	$6.10^{f} \pm 0.13$	$6.32^{f} \pm 0.21$
20 ppm	$5.83^{ef} \pm 0.01$	$5.78^{ef} \pm 0.48$	$5.54^{def} \pm 0.33$	$5.38^{def} \pm 0.18$
40 ppm	$5.18^{cdef} \pm 0.04$	$4.47^{cde} \pm 0.94$	$4.69^{cde} \pm 0.36$	$4.31^{cd} \pm 0.14$
60 ppm	$3.85^{c} \pm 1.62$	$2.12^{b} \pm 0.02$	$0.35^{a} \pm 0.49$	$0.00^{a} \pm 0.00$, *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

ประสิทธิภาพสารฆ่าเชื้อกรดเปอร์อะซิติกในหลอดทดลองจะพบว่าความเข้มข้นที่มากขึ้นจะยิ่งมีผลต่อการลดปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley ในหลอดทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากกรดเปอร์อะซิติกสามารถทำลายเซลล์แบคทีเรียได้โดยทำหน้าที่เป็นสารออกซิไดส์ ขัดขวางการขนส่งของผนังเซลล์และเอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ จึงสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และทำให้เซลล์ถูกทำลายในที่สุด (Cords และ Dychdala, 1993)

กรดเปอร์อะซิติกจะทำการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ รา และยีสต์ โดยใช้ระยะเวลาที่น้อยกว่า 5 นาที ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 100 ppm ในกรณีที่ใช้กับสารอินทรีย์จะอยู่ที่ความเข้มข้น 200-500 ppm (Mbithi และคณะ, 1990) กรดเปอร์อะซิติก 0.3 กรัม/ลิตร พบว่าสามารถลดเชื้อ *S.* Typhimurium ได้มากกว่า 6.4 log10 (Block, 2001)

จากผลการทดลองสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Howarth (2008) ที่ใช้ 5.6% กรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 80 ppm นาน 30 วินาที พบว่าจะสามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Chloreraesuis > 6.92 logarithmic เชื้อ *L.* monocytogenes > 6.87 logarithmic เชื้อ *S.* aureus > 7.00 logarithmic และเชื้อ *E.* coli > 7.00 logarithmic นอกจากนี้การใช้กรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 5-10 มิลลิกรัม/ลิตร นาน 10-30 นาที จะสามารถลดปริมาณเชื้อ fecal organisms ได้ 3-6 logarithmic (Stampi, 2001) ในการศึกษาเชื้อ *Salmonella* Typhimurium LT2 ในน้ำกลั่นที่สัมผัสกับกรดเปอร์อะซิติกนาน 1 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 0 7 15 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าการเจริญของเชื้อจะลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของกรดเปอร์อะซิติกที่

มากขึ้นคือ $3.1x10^7$ cfu/ml 0.1-1 cfu/ml <0.1 cfu/ml และ <0.1 cfu/ml ตามลำดับ (Jolivet-Gougeon และคณะ, 2006) จากการศึกษาของ Zhang และคณะ (2009) พบว่าการใช้กรดเปอร์ออกซีอะซีติก (peroxyacetic acid) ที่ความเข้มข้น 30 ppm พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้ 1.83 CFU/ml เมื่อเทียบกับการล้างน้ำเพียงอย่างเดียว

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ในระดับหลอดทดลอง จึงได้ทำการเลือกความข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมโดยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก จะใช้ความเข้มข้นที่ 60 ppm ที่ระยะเวลา 15 นาที เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ต่อไป

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่

4.2.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อในระดับปริมาณสูงบนผิวมะเขือเทศเชอรี่

4.2.1.1 ผลของสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อ *Salmonella* Stanley ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศเชอรี่

ผลการศึกษาการล้างมะเขือเทศเชอรี่ต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% และ 75% ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 5 10 และ 15 นาที พบว่าหลังจากที่นำมะเขือเทศที่ถูกสร้างให้มีการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Stanley ปริมาณ 5.42 log cfu/g (ระดับปริมาณการปนเปื้อนสูง) มาทำการล้าง จากตารางที่ 4.5 พบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® เพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 - 15 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 1.71 – 3.91 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น และที่ความเข้มข้น 75% ระยะเวลาสัมผัส 1 - 10 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 2.84 – 3.93 log cfu/g และไม่พบการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น จากการศึกษาดังกล่าวตามตารางที่ 4.5 ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® 50% 75% และกลุ่มตัวอย่างควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการสัมผัสระหว่างสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley พบว่าที่ระยะเวลาสัมผัสที่ 1 5 และ 5 10 นาที ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ที่ระยะเวลา 10 และ 15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามปัยจัยของระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อมีอิทธิพลร่วมกันกับระยะเวลาในการสัมผัสซึ่งจะมีผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อ *S.* Stanley

จากผลการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับผลของบริษัท อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี (2007) ซึ่งพบว่าเมื่อล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 100% ระยะเวลาสัมผัสนาน 30 วินาที พบว่าในมะเขือเทศสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ได้ 1 log cfu จาก 6.7 x 10^4 cfu/piece เหลือ 1.1 x 10^3 cfu/piece ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสเดียวกันในผลมะเขือสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* จาก 8.5 x 10^4 cfu/piece เหลือ 8.6 x 10^2 cfu/piece แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลการลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่และการทดสอบในระดับหลอดทดลอง (จากข้อ 4.1.2.1) พบความไม่สอดคล้องของผลการทดลองโดยที่สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% และ 75% ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์ในระดับหลอดทดลอง ซึ่งแตกต่างจากบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่จะต้องใช้ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้นที่ความเข้มข้นในระดับเดียวกัน หรือใช้ความเข้มข้นมากขึ้นในระยะเวลาสัมผัสเท่ากัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *S.* Stanley ในหลอดทดลองอยู่ในสภาพที่สัมผัสกับสารฆ่าเชื้อโดยตรง ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพการทำลายเซลล์ของสารละลาย KILLBACT-SU® ส่วนบนผิวมะเขือเทศซึ่งเชื้ออาจจะมีการเกาะตัวอยู่ที่บริเวณส่วนขั้วของผลมะเขือเทศทำให้การแทรกซึมของสารเข้าไปไม่ทั่วถึง จึงทำให้ถูกทำลายได้น้อยลง สำหรับในกลุ่มตัวอย่างควบคุมพบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 0.65-0.87 log cfu/g ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Beuchat และคณะ (1998) พบว่าน้ำประปาที่ไม่ผสมสารฆ่าเชื้อสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนมะเขือเทศ แอปเปิ้ล และผักกาดหอมได้เพียง 0.2 log CFU/g เท่านั้น เนื่องจากการล้างน้ำเป็นเพียงการลดการปนเปื้อนทางกายภาพ เช่นเป็นการชะล้างดิน ทราย และเซลล์ จุลินทรีย์อื่นๆ ออกจากผักและผลไม้เท่านั้น แต่ไม่สามารถกำจัดจุลินทรีย์ออกได้หมด (อรุณ และคณะ, 2551)

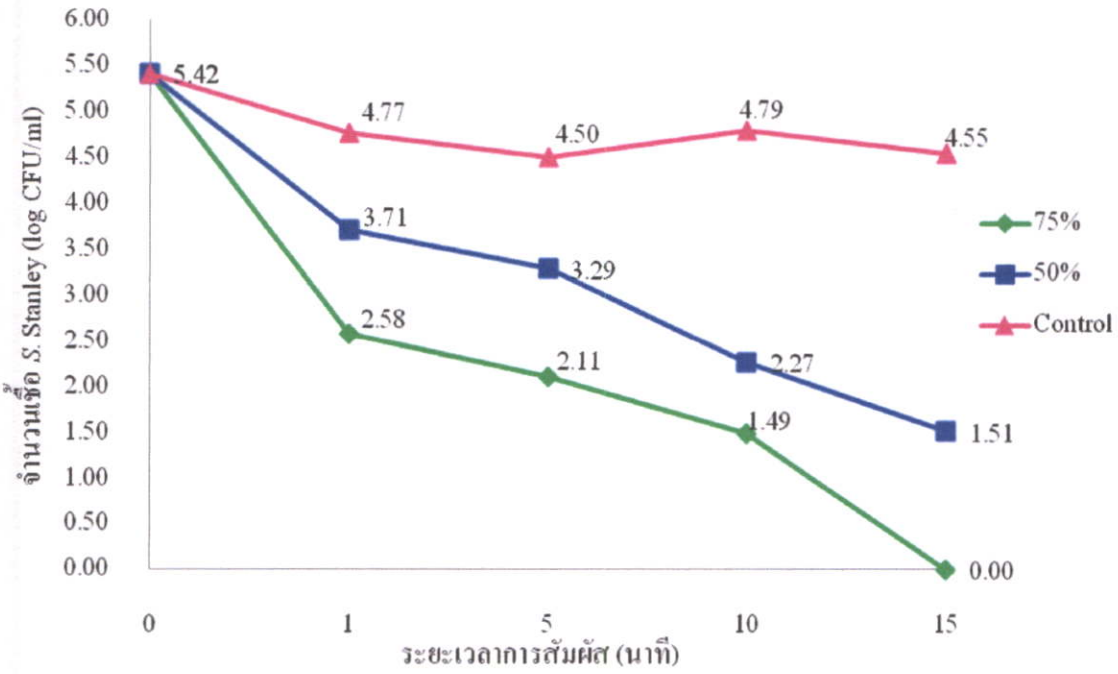
นอกจากนี้สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ผ่านการล้างมะเขือเทศ (ที่มีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในระดับสูง) ในทุกความเข้มข้น และทุกช่วงระยะเวลา รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างควบคุม ได้ทำการตรวจสอบการฟื้นตัวกลับของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างโดยทำการทดสอบด้วยการสุ่มน้ำล้างในช่วงเวลาต่างๆ ไปเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB และบ่มเป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง พบว่าทุกความเข้มข้น และทุกช่วงเวลาไม่มีความขุ่นเกิดขึ้น (ตารางที่ 4.5) แต่จะพบความขุ่นที่เกิดขึ้นในหลอด TSB ของกลุ่มตัวอย่างควบคุม

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 5.42 log cfu/g)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *Salmonella* Stanley (log cfu/g)			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	$4.77^{g} \pm 0.54$	$4.79^{g} \pm 0.51$	$4.50^{fg} \pm 0.38$	$4.55^{fg} + 0.65$
50%	$3.71^{ef} \pm 0.63$ *	$3.29^{de} \pm 0.74$ *	$2.27^{bc} \pm 0.77$ *	$1.51^{b} \pm 0.27$ *
75%	$2.58^{cd} \pm 0.24$ *	$2.11^{bc} \pm 0.29$ *	$1.49^{b} \pm 0.28$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ



ภาพที่ 4.3 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley (log CFU/g.) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ (ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง) โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

นอกจากนี้การศึกษายังได้ทำการตรวจสอบผลต่อเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (TPC) โดยผลของการล้างมะเขือเทศที่มีเชื้อปนเปื้อนตั้งต้น 6.02 log cfu/g (ระดับปริมาณสูง) ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 - 15 นาที (ตารางที่ 4.6) พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 1.64 – 3.94 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น และที่ความเข้มข้น 75% ระยะเวลาสัมผัส 1 - 10 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 2.84 – 4.28 log cfu/g และไม่พบการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ซึ่งจากผลการศึกษาสอดคล้องกับผลของบริษัท อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี (2007) เมื่อล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 100% ระยะเวลาสัมผัสนาน 30 วินาที พบว่าในมะเขือเทศสามารถลดปริมาณเชื้อ TPC จาก 2.1 x 10^5 cfu/piece ลดลงเหลือ 1.7 x 10^3 cfu/piece ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสเดียวกันในผลมะเขือสามารถลดปริมาณเชื้อ TPC จาก 2.0 x 10^5 cfu/piece ลดลงเหลือ 5.1 x 10^3 cfu/piece จากการศึกษาดังกล่าว (ตารางที่ 4.6) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® 50% 75% และกลุ่มตัวอย่างควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการสัมผัสระหว่างสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley โดยดูจากผลการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ พบว่าที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 5 10 และ 15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ปัยจัยของระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อมีอิทธิพลร่วมกันกับระยะเวลาในการสัมผัสซึ่งจะมีผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อ TPC

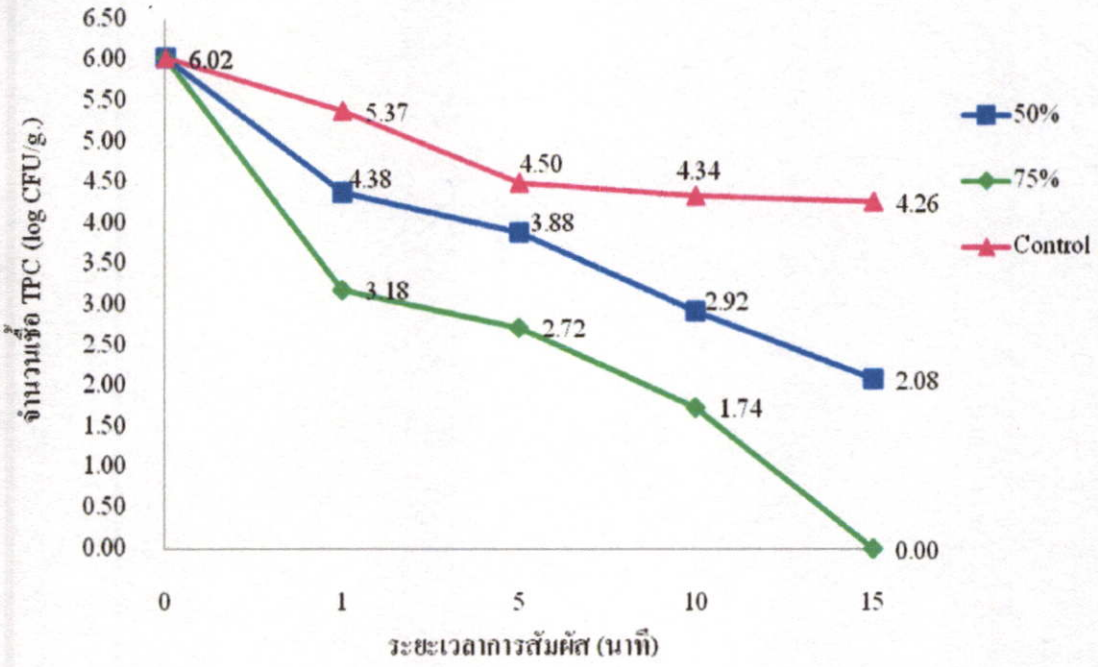
สำหรับสารละลาย KILLBACT-SU® เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Coliforms และ แบคทีเรียแลคติก ประกอบด้วยสารประกอบหลักเช่น เอทานอล 44.7 – 49.4% (w/w) และ กรดแลคติก 0.4% (w/w) สารละลาย KILLBACT® สามารถนำไปใช้ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ผักสดได้โดยทำการ จุ่มผักประเภทใบ/ผลอ่อน ลงในสารละลาย KILLBACT® 100% เป็นเวลา 30 วินาที หรือจุ่มผักประเภท ผล/ราก/หัว เป็นเวลา ≥ 30 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำ ก็จะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ (อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี, 2007)

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเชื้อ TPC (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และ สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 6.02 log cfu/g)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log cfu/g)			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	$5.37^{g} \pm 0.44$	$4.50^{f} + 0.28$	$4.34^{f} \pm 0.28$	$4.26^{f} + 0.28$
50%	$4.38^{f} \pm 0.74$ *	$3.88^{ef} \pm 0.77$ *	$2.92^{cd} \pm 0.84$ *	$2.08^{bc} \pm 0.16$ *
75%	$3.18^{de} \pm 0.28$ *	$2.72^{cd} \pm 0.61$ *	$1.74^{b} \pm 0.53$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$, *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ



ภาพที่ 4.4 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log CFU/g) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ (ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง) โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

4.2.1.2 ผลของสารละลายกรดเปอร์อะซิติกต่อ *S.* Stanley ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศเชอรี่

ผลการศึกษาการล้างมะเขือเทศเชอรี่ต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 60 ppm ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที จากตารางที่ 4.7 พบว่าหลังจากที่นำมะเขือเทศที่ถูกสร้างให้มีการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Stanley ปริมาณ 5.42 log cfu/g (ระดับปริมาณสูง) มาทำการล้างจะพบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley เชื้อลดลง 3.06 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P \leq 0.05$) จากผลการศึกษาสอดคล้องกับ Suwimon และคณะ (2011) เมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 30 40 และ 50 ppm สามารถลดปริมาณเชื้อ coliforms และ *E.* coli บนมะเขือเทศ และผักกาดได้ในช่วง 3.68 - 4.04 log cfu/g และ 3.86 - 4.48 log cfu/g ตามลำดับ Kim และคณะ (2006) ได้รายงานว่ากรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 40 และ 80 ppm สามารถลดปริมาณเชื้อ *Enterobacter* sakazakii บนมะเขือเทศได้ในช่วง 2.9 - 3.7 log cfu/g ส่วนบนผักกาดสามารถลดได้ 1 - 4 cfu/g และ 2-5 log cfu/g ตามลำดับ กลไกการทำงานของกรดเปอร์อะซิติก จะทำการแทรกซึมและแนบตัวเองไปในกลุ่มโปรตีน thiol และทำการยับยั้งเอนไซม์ที่สำคัญ (Denyer และ Stewart, 1998) อย่างไรก็ตาม กรดเปอร์อะซิติกสามารถให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นรุนแรงจึงทำให้เกิดความเสียหายไปยังเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรียเป็นสาเหตุการสูญเสียความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มและการหยุดชะงักของเยื่อหุ้มเซลล์ (Ozkanca & Flint, 2002) นอกจากนี้กรดเปอร์อะซิติกจะทำการยับยั้งเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการเมทาบอลิซึมของเซลล์ การลดลงอย่างรวดเร็วในการสังเคราะห์โปรตีนทดแทน และป้องกันการฟื้นคืนของเซลล์ จนนำไปสู่การตายของเซลล์ (Denyer และ Stewart, 1998).

นอกจากนี้ผลการศึกษายังสอดคล้องกับรายงานแสดงสถิติในการล้างมะเขือเทศด้วยสารฆ่าเชื้อที่ประกอบด้วยกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว นาน 2 นาที ในการลด *S.* Javiana *L. monocytogenes* และ *E. coli* O157:H7 โดยลดลง 96% 99.96% และ 99.5% ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (FDA, 2001) รวมถึงการศึกษาของ Howarth และ Rodrigues (2008) ซึ่งทำการศึกษาการกำจัดเชื้อ *S.* Typhimurium บนผิวมะเขือเทศในการล้างทำความสะอาดด้วยสารละลายกรดเปอร์ออกซีอะซิติก 40 ppm ในการล้างที่ 1 นาที จะทำการลดเชื้อ *Salmonella* ที่ผิวมะเขือเทศได้ 1.32 log CFU/มะเขือเทศ เมื่อเทียบกับการล้างด้วยน้ำประปาเพียงอย่างเดียว พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 94.6% และที่เวลา 5 นาที ของการล้างจะลดลงได้ 95.9%

ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 60 ppm นาน 15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเชื้อตั้งต้น และกลุ่มตัวอย่างควบคุม แต่พบว่าปริมาณการเหลือรอดของเชื้อในกลุ่มตัวอย่างควบคุมจะไม่

มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P>0.05$) นอกจากนี้สารละลายสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ผ่านการล้างมะเขือเทศ (ที่มีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในระดับสูง) รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างควบคุม ได้ทำการตรวจสอบการฟื้นตัวกลับของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างโดยทำการทดสอบด้วยการบ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง พบว่าในน้ำล้างที่มีสารละลายกรดเปอร์อะซิติกไม่พบความขุ่น (ตารางที่ 4.7) และเมื่อทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อ TPC ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้น 6.02 log cfu/g (ระดับปริมาณสูง) หลังจากผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก จากตารางที่ 4.8 พบว่าปริมาณของเชื้อ TPC เชื้อลดลง 1.98 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P\leq0.05$) จากผลการศึกษาสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hilgren และ Salverda (2000) ได้รายงานว่ากรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 80 ppm สามารถลดปริมาณเชื้อ aerobic bacteria ได้ 1.07 0.84 และ 1.54 log cfu/g ในคื่นไช่ กะหล่ำปลี และมันฝรั่ง ตามลำดับ Smith และคณะ (2003) ได้แสดงค่าเฉลี่ยในการลดปริมาณจำนวนเชื้อ TPC ด้วยน้ำยา Victory (มีส่วนประกอบ 60 ppm ของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกรดเปอร์ออกซีอะซิติก) โดยจะสามารถลดปริมาณเชื้อจาก 3.4 ± 1.2 ให้เหลือรอด 2.0 ± 1.3 log cfu/g เมื่อเปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำที่พบปริมาณเชื้อ TPC ที่เหลือรอด 3.0 ± 1.0 log10 cfu/g ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 60 ppm นาน 15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) เมื่อเทียบกับเชื้อตั้งต้น

ประเภทของอาหาร ลักษณะบางอย่าง เช่น ผิวชั้นนอกที่มีลักษณะเคลือบไข (ส่วนที่เป็น hydrophobic) ซึ่งเป็นตัวป้องกันไม่ให้สารละลายการแทรกซึมผ่าน อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้แบคทีเรียยึดเกาะที่พื้นผิวลำบาก อย่างไรก็ตาม Han และคณะ (2000) ได้แสดงให้เห็นว่าการยึดเกาะของเชื้อ *E.* coli O157:H7 บนผิวเคลือบไขของ green peppers ที่ได้รับผลกระทบจากคุณสมบัติ hydrophilic ของพื้นผิวที่มีรอยตำหนิ ซึ่งพื้นผิวดังกล่าวจะทำให้เกิดการติดแน่นของเซลล์แบคทีเรียมากยิ่งขึ้น ในบริเวณพื้นผิวดังกล่าวจะมีสารอาหารและความชื้นที่เหมาะในการเจริญของแบคทีเรีย สำหรับพื้นผิวมะเขือเทศที่มีสารเคลือบไขยากที่จะทำให้ได้รับการบาดเจ็บ มีแต่เฉพาะแค่ส่วนบนของมะเขือเทศเท่านั้น ที่เป็นในส่วนของก้านดอก และกลีบเลี้ยงที่ถูกนำออกไป (พื้นที่ abscission) มักเป็นส่วนที่ถูกพบว่าได้รับบาดเจ็บบ่อย และง่ายต่อการยึดติดของเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.7 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm นาน15 นาที ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g)
เชื้อตั้งต้น	$5.42^{b} \pm 0.42$
Control	$4.79^{b} \pm 0.51$
PAA 60 ppm	$2.36^{a} \pm 0.67$ *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

ตารางที่ 4.8 ปริมาณเชื้อ TPC (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm นาน15 นาที ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับสูง

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log cfu/g)
เชื้อตั้งต้น	$6.02^{b} \pm 0.43$
Control	$4.34^{a} \pm 0.28$
PAA 60 ppm	$4.04^{a} \pm 0.53$ *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

4.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อในระดับปริมาณต่ำบนผิวมะเขือเทศเชอรี่

4.2.2.1 ผลของสารละลาย KILLBACT-SU® ต่อ *S.* Stanley ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศเชอรี่

ผลการศึกษาการล้างมะเขือเทศเชอรี่ต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% และ 75% ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 5 10 และ 15 นาที พบว่าหลังจากที่นำมะเขือเทศที่ถูกสร้างให้มีการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Stanley ปริมาณ 2.94 log cfu/g (ระดับปริมาณการปนเปื้อนต่ำ) มาทำการล้าง จากตารางที่ 4.9 จะพบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley จะลดลงเมื่อระยะเวลาการสัมผัสสารฆ่าเชื้อนานขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 - 5 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 0.89 – 1.98 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น และในระยะเวลาสัมผัสที่ 10 และ 15 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์ (จำนวนเซลล์ที่เหลือรอดน้อยกว่า 1.0 log cfu/g) ในขณะที่ความเข้มข้น 75% ระยะเวลาสัมผัส 1 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 1.01 log cfu/g และพบว่าระยะเวลาที่ 5 – 10 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์ (จำนวนเซลล์ที่เหลือรอดน้อยกว่า 1.0 log cfu/g) เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น จากการศึกษาดังกล่าวตามตารางที่ 4.9 จะพบว่าในกลุ่มตัวอย่าง และสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ระดับความเข้มข้น 50% และ 75% มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการสัมผัสระหว่างสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley โดยดูจากผลการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ พบว่าที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 5 และ 10 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน แต่ที่ระยะเวลาสัมผัส 10 และ 15 นาที ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามปัยจัยของระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อมีอิทธิพลร่วมกันกับระยะเวลาในการสัมผัสซึ่งจะมีผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อ *S.* Stanley

จากผลการศึกษาสอดคล้องกับผลของบริษัท อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี (2007) เมื่อล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 100% ระยะเวลาสัมผัสนาน 30 วินาที พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* ในผักคื่นไช่จาก 3.8×10^3 cfu/g เหลือ 1.3×10^2 cfu/g ในพริกหวานจาก 1.2×10^2 cfu/piece เหลือ <10 cfu/piece ในมะเขือม่วงจาก 5.3×10^2 cfu/piece เหลือ <10 cfu/piece และแอปเปิ้ลจาก 1.5×10 cfu/piece เหลือ <10 cfu/piece นอกจากนี้เมื่อล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัสนาน 30 วินาที ในใบโอบะพบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* จาก 1.7×10^3 cfu/g เหลือ 1.5×10 cfu/g แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลการลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่และการทดสอบในระดับหลอดทดลอง (จากข้อ 4.1.2.1) พบความไม่

สอดคล้องของผลการทดลองโดยที่สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 50% และ 75% ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์ในระดับหลอดทดลอง ซึ่งแตกต่างจากบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ถึงแม้ว่าจะถูกสร้างให้มีระดับในการปนเปื้อนอยู่ในระดับต่ำ (2.94 log cfu/g) แต่ก็ยังคงจะต้องใช้ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้นที่ความเข้มข้นในระดับเดียวกัน หรือใช้ความเข้มข้นมากขึ้นในระยะเวลาสัมผัสเท่ากัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *S.* Stanley ในหลอดทดลองอยู่ในสภาพที่สัมผัสกับสารฆ่าเชื้อโดยตรง ซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพการทำลายเซลล์ของสารละลาย KILLBACT-SU® ส่วนบนผิวมะเขือเทศซึ่งเชื้ออาจจะมีการเกาะตัวอยู่ที่บริเวณส่วนขั้วของผลมะเขือเทศ จึงทำให้ถูกทำลายได้น้อยลง สำหรับในกลุ่มตัวอย่างควบคุมพบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อได้ 0.33 log cfu/g ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Beuchat และคณะ (1998) พบว่าน้ำประปาที่ไม่ผสมสารฆ่าเชื้อสามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *S.* Typhimurium ที่ปนเปื้อนบนมะเขือเทศ แอปเปิ้ล และผักกาดหอมได้เพียง 0.2 log CFU/g เท่านั้น เนื่องจากการล้างน้ำเป็นเพียงการลดการปนเปื้อนทางกายภาพ เช่นเป็นการชะล้างดิน ทราย และเซลล์ จุลินทรีย์อื่นๆ ออกจากผักและผลไม้เท่านั้น แต่ไม่สามารถกำจัดจุลินทรีย์ออกได้หมด (อรุณ และคณะ, 2551) Ukuku (2004) เมื่อทำการล้างน้ำที่ไม่ผสมสารฆ่าเชื้อสามารถลดปริมาณ *Salmonella spp.*ที่ปนเปื้อนบนผิวแคนตาลูป และแตง Honeydew ได้เพียง 0.13 และ 0.51 CFU/cm^2 ตามลำดับ

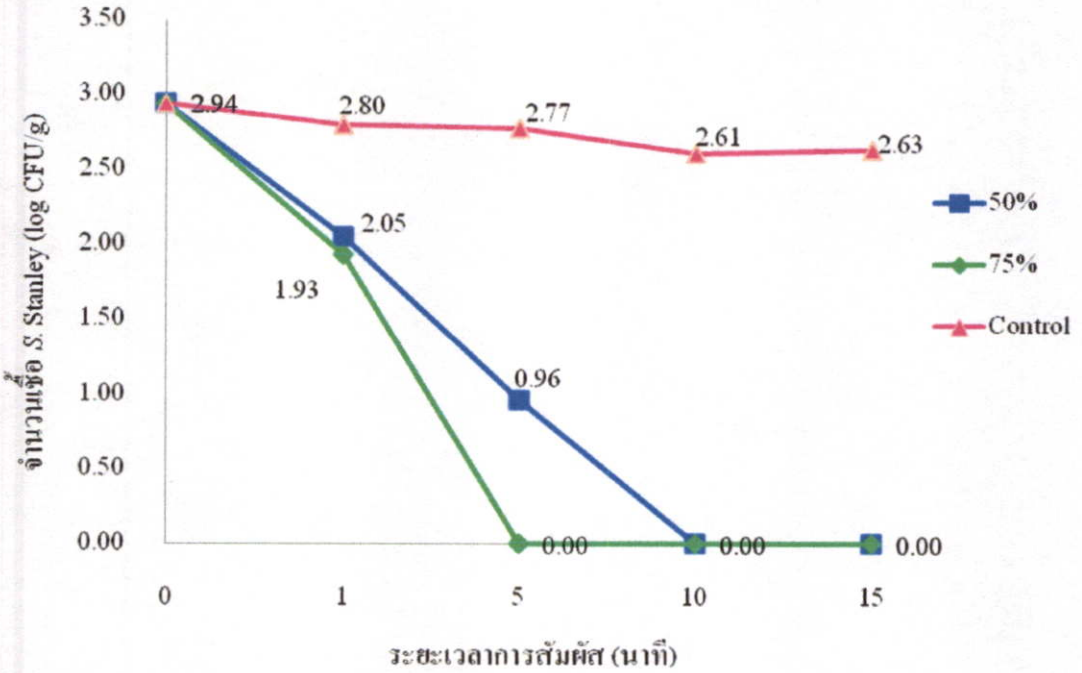
นอกจากนี้สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ผ่านการล้างมะเขือเทศ (ที่มีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในระดับต่ำ) ในทุกความเข้มข้น และทุกช่วงระยะเวลา รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างควบคุม ได้ทำการตรวจสอบการฟื้นตัวกลับของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างโดยทำการทดสอบด้วยการบ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง พบว่าทุกความเข้มข้น และทุกช่วงเวลาไม่มีความขุ่นเกิดขึ้น (ตารางที่ 4.9) แสดงว่าสารที่ใช้ในการศึกษาสามารถฆ่าเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่ความเข้มข้น 50% จะสามารถทำลายเชื้อดังกล่าวได้หมดที่เวลา 10 นาที และความเข้มข้นที่สูงขึ้นถึง 75% จะทำลายเชื้อได้หมดภายในเวลา 5 นาที ขณะที่การล้างน้ำกลั่น (control) ไม่สามารถลดการปนเปื้อนของ *S.* Stanley ได้

ตารางที่ 4.9 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 2.94 log cfu/g)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g)			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	$2.80^{d} \pm 0.25$	$2.77^{d} \pm 0.23$	$2.61^{d} \pm 0.27$	$2.63^{d} \pm 0.33$
50%	$2.05^{c} \pm 0.49$,*	$0.96^{d} \pm 0.24$,*	$0.00^{a} \pm 0.00$,*	$0.00^{a} \pm 0.00$,*
75%	$1.93^{c} \pm 0.44$,*	$0.00^{a} \pm 0.00$,*	$0.00^{a} \pm 0.00$,*	$0.00^{a} \pm 0.00$,*

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ



ภาพที่ 4.5 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley (log CFU/g) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ (ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ) โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

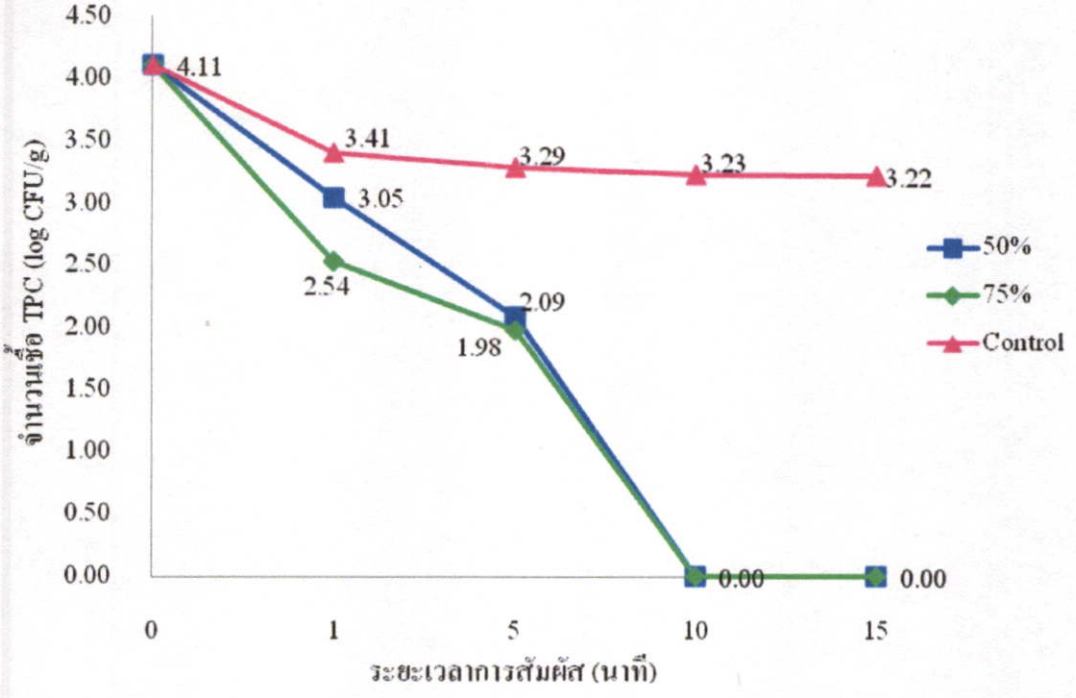
เมื่อทำการศึกษาผลของ KILLBACT-SU® ต่อแบคทีเรียทั้งหมด (TPC) ในตัวอย่างมะเขือเทศ โดยผลของการล้างมะเขือเทศที่มีเชื้อปนเปื้อนตั้งต้น 4.11 log cfu/g (ระดับปริมาณการปนเปื้อนต่ำ) ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® จากตารางที่ 4.10 พบว่า ที่ความเข้มข้น 50% ระยะเวลาสัมผัส 1 - 5 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 1.06 – 2.02 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น และในระยะเวลาสัมผัสที่ 10 และ 15 นาที พบว่าสามารถลดปริมาณเชื้อ TPC ได้อย่างสมบูรณ์ และที่ความเข้มข้น 75% ระยะเวลาสัมผัส 1 - 5 นาที พบว่าปริมาณเชื้อลดลง 1.57 – 2.13 log cfu/g และไม่พบการเจริญของเชื้อที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 10 - 15 นาที เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น จากการศึกษาดังกล่าวตามตารางที่ 4.10 จะพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และ 75% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการสัมผัสระหว่างสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley โดยดูจากผลการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ พบว่าที่ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 5 และ 10 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน แต่ที่ระยะเวลาสัมผัส 10 และ 15 นาที ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) อย่างไรก็ตามปัยจัยของระดับความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อมีอิทธิพลร่วมกันกับระยะเวลาในการสัมผัสซึ่งจะมีผลต่อการลดลงของปริมาณเชื้อ TPC จากผลการศึกษาสอดคล้องกับผลของบริษัท อูเอโนไฟน์ เคมีคัลส์ อินดัสตรี(2007) เมื่อล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 100% ระยะเวลาสัมผัสนาน 30 วินาที พบว่าในมะเขือม่วงสามารถลดปริมาณเชื้อ TPC จาก 1.3×10^4 cfu/piece ลดลงเหลือ 1.0×10 cfu/piece ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาสัมผัสเดียวกันในแอปเปิ้ลสามารถลดปริมาณเชื้อ TPC จาก 3.0×10^2 cfu/piece ลดลงเหลือ < 10 cfu/piece

ตารางที่ 4.10 ปริมาณเชื้อ TPC (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ (เชื้อเริ่มต้นที่ 0 นาที = 4.11 log cfu/g)

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log cfu/g)			
	1 นาที	5 นาที	10 นาที	15 นาที
Control	$3.41^{d} + 0.04$	$3.29^{d} + 0.08$	$3.23^{d} \pm 0.06$	$3.22^{d} + 0.03$
50%	$3.05^{d} \pm 0.52$ *	$2.09^{bc} \pm 0.44$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *
75%	$2.54^{c} \pm 0.64$ *	$1.98^{b} \pm 0.42$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *	$0.00^{a} \pm 0.00$ *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ



ภาพที่ 4.6 ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log CFU/g) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ (ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ) โดยผ่านการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ 75% เทียบกับตัวอย่างควบคุมน้ำกลั่น ต่อระยะเวลาในการสัมผัส (นาที)

4.2.2.2 ผลของสารละลายกรดเปอร์อะซิติกต่อ *S.* Stanley ที่ปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศเชอรี่

ผลการศึกษาการล้างมะเขือเทศเชอรี่ต่อการลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 60 ppm ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที จากตารางที่ 4.11 พบว่าหลังจากที่นำมะเขือเทศที่ถูกสร้างให้มีการปนเปื้อนของเชื้อ *S.* Stanley ปริมาณ 2.94 log cfu/g (ระดับปริมาณการปนเปื้อนต่ำ) มาทำการล้างจะพบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley ลดลง 1.95 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น จากผลการศึกษาสอดคล้องกับ Park และ Beuchat (1999) รายงานกรดเปอร์อะซิติกที่ระดับความเข้มข้น 40 – 80 ppm สามารถลดเชื้อ *Salmonella* และ *E. coli* O157 : H7 บนแคนตาลูป และแตง Honeydew ในช่วง 2.6-3.8 log CFU/g ในกระบวนการล้างโดยทำการบ่มเชื้อ *E. coli* O157:H7 ลงในผักกาด ด้วยกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 30 ppm นาน 1.5 นาที จะพบว่าสามารถลดเชื้อได้ 1.50 log CFU/ml เมื่อเทียบกับการล้างด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว

ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 60 ppm นาน 15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเชื้อตั้งต้น และกลุ่มตัวอย่างควบคุม แต่พบว่าปริมาณการเหลือรอดของเชื้อในกลุ่มตัวอย่างควบคุมจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P > 0.05$) นอกจากนี้สารละลายสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ผ่านการล้างมะเขือเทศ (ที่มีปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในระดับต่ำ) รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างควบคุม ได้ทำการตรวจสอบการฟื้นตัวกลับของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างโดยทำการทดสอบด้วยการบ่มเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง พบว่าในน้ำล้างที่เป็นสารละลายกรดเปอร์อะซิติกไม่พบความขุ่น (ตารางที่ 4.11) และนอกจากนี้เมื่อทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อ TPC ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้น 4.11 log cfu/g (ระดับปริมาณการปนเปื้อนต่ำ) หลังจากผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก จากตารางที่ 4.12 พบว่าปริมาณของเชื้อ TPC ลดลง 1.95 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้น ($P \leq 0.05$) ปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ TPC ที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ที่ความเข้มข้น 60 ppm นาน 15 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับเชื้อตั้งต้น จากผลการศึกษาสอดคล้องกับ Cherry (1999) ได้รายงานเมื่อใช้กรดเปอร์อะซิติกที่ 60 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ pH 6 พบว่าสามารถลดจำนวน mesophilic แบคทีเรีย ได้ 2 log cycles ในกระบวนการแปรรูปขั้นต่ำของผักและผลไม้ ในการใช้สาร Sanoxol (มีส่วนผสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดเปอร์อะซิติก) ที่ความเข้มข้น 20 มล./ลิตร (pH 4.3) นาน 45 วินาที และสาร Tsunami (มีส่วนผสมกรดเปอร์อะซิติกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์) ที่ความเข้มข้น 80 มล./ลิตร (pH 5.9) นาน 1 นาที สามารถลดปริมาณจำนวน Coliform ทั้งหมดได้ 1 log cfu/g (Allende และคณะ, 2008)

ตารางที่ 4.11 ปริมาณเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (control) และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm นาน 15 นาที ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley (log cfu/g)
เชื้อตั้งต้น	$2.94^{b} + 0.42$
Control	$2.61^{b} + 0.27$
PAA 60 ppm	$0.99^{a} + 0.25$ *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

ตารางที่ 4.12 ปริมาณเชื้อ TPC (log cfu/g) ที่เหลือรอดบนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น (Control) และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm นาน15 นาที ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นในระดับต่ำ

สภาพที่ศึกษา	จำนวนการเหลือรอดของเชื้อ TPC (log cfu/g)
เชื้อตั้งต้น	$4.11^{b} + 0.41$
Control	$3.23^{ab} + 0.06$
PAA 60 ppm	$2.36^{a} + 0.86$ *

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

* ได้ทำการตรวจสอบยืนยันการเหลือรอดของเชื้อ *S.* Stanley ในน้ำล้างลงใน TSB บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 20-24 ชม. พบว่า TSB ไม่ขุ่นแสดงให้เห็นว่าไม่มีการเจริญของเชื้อ

4.3 การศึกษาผลทางด้านประสาทสัมผัสของมะเขือเทศเชอรี่ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

จากผลการศึกษาในข้อ 4.2.2 จึงได้ทำการเลือกทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อในระดับปริมาณต่ำซึ่งเป็นปริมาณที่อยู่ในระดับที่สามารถพบเจอได้โดยทั่วไปในสภาวะจริง โดยนำผลการล้างดังกล่าวมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้ดังนี้ ทำการเตรียมตัวอย่างมะเขือเทศเชอรี่โดยผ่านการล้างด้วยน้ำประปา 10 นาที สารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm นาน 15 นาที สารละลาย KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% นาน 10 นาที และ 75% นาน 5 นาที โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3-4 องศาเซลเซียส โดยทำการศึกษาผลทางด้านประสาทสัมผัสในวันที่ 1 3 5 และ 7 พบว่าผลการทดสอบทางด้านสีของมะเขือเทศเชอรี่ที่ผ่านการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ และน้ำประปา ตั้งแต่วันที่ 1 3 5 และ 7 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) ผลการทดสอบทางด้านลักษณะปรากฏของมะเขือเทศเชอรี่ที่ผ่านการล้างด้วยสารฆ่าเชื้อ และน้ำประปา ตั้งแต่วันที่ 1 3 5 และ 7 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) ผลการทดสอบทางด้านกลิ่นของมะเขือเทศเชอรี่ในวันที่ 1 3 5 และ 7 พบว่ามะเขือเทศที่ล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® 75% เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ล้างด้วยน้ำประปาจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) และพบว่าในตัวอย่างที่มีการล้างด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® 50% สารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm และน้ำประปา ในทุก ทุกวันที่ทำการทดสอบจะไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) สำหรับผลการทดสอบทางด้านการยอมรับโดยรวมของมะเขือเทศเชอรี่ในวันที่ 1 พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่ในวันที่ 3 5 และ 7 จะมีความแตกต่างของผลคะแนนการทดสอบทางด้านการยอมรับระหว่างมะเขือเทศที่ล้างด้วยน้ำประปา กับ KILLBACT-SU® 75% อย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) แต่พบว่าทุกวันที่ 3 5 และ 7 พบว่ามะเขือเทศที่ล้างด้วย น้ำประปา สารละลายกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm และสารละลาย KILLBACT-SU® 50% ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) เพราะฉะนั้น การใช้สารฆ่าเชื้อ KILLBACT-SU® ในความเข้มข้น 50% และ สารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm ร่วมในน้ำเพื่อล้างมะเขือเทศที่ใช้ศึกษา จะดีกว่าการล้างน้ำประปาเพียงอย่างเดียว นอกจากจะไม่มีผลในเรื่องของคุณภาพมะเขือเทศหลังการล้างและการเก็บนาน 7 วันแล้ว ยังช่วยในเรื่องความปลอดภัยจากการบริโภคเชื้อ *S.* Stanley และเชื้ออื่น ๆ ที่อาจติดมากับผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

ตารางที่ 4.13 แสดงผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของมะเขือเทศเชอรี่ที่ผ่านการล้างน้ำประปา สารละลายกรดเปอร์อะซิติก (PAA) 60 ppm สารละลาย KILLBACT-SU® (KB) 50% และ 75%

วันที่	ประเภทสารฆ่าเชื้อ	ผลการทดสอบ (คะแนน)			
		สี	กลิ่น	ลักษณะปรากฏ	การยอมรับ
1	น้ำประปา	7.00^{ns}	6.53^{b}	6.93^{ns}	7.20^{ns}
	KB 50	7.30^{ns}	6.00^{ab}	6.60^{ns}	6.90^{ns}
	KB 75	7.00^{ns}	5.20^{a}	6.90^{ns}	6.83^{ns}
	PAA	7.27^{ns}	6.33^{b}	7.10^{ns}	6.90^{ns}
3	น้ำประปา	7.37^{ns}	6.80^{b}	7.33^{ns}	7.47^{b}
	KB 50	7.30^{ns}	6.83^{b}	6.97^{ns}	7.23^{b}
	KB 75	7.30^{ns}	5.73^{a}	6.63^{ns}	6.33^{a}
	PAA	7.23^{ns}	6.37^{ab}	7.17^{ns}	7.07^{b}
5	น้ำประปา	7.10^{ns}	6.83^{b}	7.40^{ns}	7.50^{b}
	KB 50	7.33^{ns}	6.47^{ab}	7.10^{ns}	6.77^{ab}
	KB 75	7.13^{ns}	5.73^{a}	6.73^{ns}	6.50^{a}
	PAA	7.03^{ns}	6.70^{ab}	6.67^{ns}	6.87^{ab}
7	น้ำประปา	6.90^{ns}	6.60^{b}	6.87^{ns}	6.97^{b}
	KB 50	6.57^{ns}	6.57^{b}	6.23^{ns}	7.03^{b}
	KB 75	7.00^{ns}	5.70^{a}	7.03^{ns}	6.07^{a}
	PAA	6.83^{ns}	6.53^{b}	6.37^{ns}	6.50^{ab}

หมายเหตุ $^{a-b}$ = ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดย Duncan's new multiple range test (DMRT)

ns = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาผลของสารละลาย KILLBACT-SU® และสารละลายกรดเปอร์อะซิติก ต่อการลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley ในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อหาความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley โดยจะนำผลข้อมูลที่ได้ไปปฏิบัติจริงในการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ ซึ่งทำการบ่มเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศในปริมาณเซลล์ตั้งต้นที่สูง (5.42 log cfu/g) และปริมาณเซลล์ตั้งต้นที่ต่ำ (2.94 log cfu/g)

จากการศึกษาผลความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley โดยวิธีการ agar well diffusion assay พบว่าโซนการยับยั้งจะมีความกว้างมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มมากขึ้น โดยที่สารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 25% 50% และ 75% จะมีขนาดความกว้าง 8.51 10.26 และ 11.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 20 ppm 40 ppm และ 60 ppm จะมีขนาดความกว้าง 8.27 9.06 และ 10.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อการยับยั้งเชื้อ *S.* Stanley ในหลอดทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และ 75% บ่มที่อุณหภูมิห้อง สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างอย่างสมบูรณ์ โดยไม่พบการเจริญของเชื้อตั้งแต่ที่ระยะเวลา 1 นาที ในขณะที่สารละลายกรดเปอร์อะซิติกโดยที่ความเข้มข้น 60 ppm ที่ระยะเวลาสัมผัส 1 5 และ 10 นาที สามารถลดเชื้อ *S.* Stanley ได้ 2.56 – 5.75 log cfu/ml และที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ระยะเวลา 15 นาทีไม่พบการเจริญของเชื้อ *S.* Stanley ดังนั้นในการศึกษาการฆ่าเชื้อที่มีสารละลาย KILLBACT-SU® 50% และ 75% ตั้งแต่ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 นาทีขึ้นไป และสารละลายกรดเปอร์อะซิติกที่ความเข้มข้น 60 ppm ที่ระยะเวลาสัมผัส 15 นาที เป็นความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมในการลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์ในระดับหลอดทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อต่อเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® พบว่าที่การปนเปื้อนของเชื้อในระดับปริมาณสูง (5.42 log cfu/g) บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ เมื่อทำการล้างที่ความเข้มข้น 50% และ 75% ระยะเวลาสัมผัสนาน 1 5 10 และ 15 นาที พบว่าที่ความเข้มข้นมากขึ้น และที่ระยะเวลาสัมผัสนานขึ้นจะมีผลต่อการฆ่าเชื้อ *S.* Stanley บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 75% นาน 15 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์

ในขณะที่การปนเปื้อนของเชื้อในระดับปริมาณต่ำ (2.94 log cfu/g) พบว่าที่ความเข้มข้น 50% นาน 10 นาที และความเข้มข้น 75% นาน 5 นาที สามารถลดจำนวนเชื้อ *S.* Stanley ได้อย่างสมบูรณ์ สำหรับสารละลายกรดเปอร์อะซิติก เมื่อทำการฆ่าเชื้อที่ระดับการปนเปื้อนบนผิวมะเขือเทศสูง (5.42 log cfu/g) ที่ความเข้มข้น 60 ppm ระยะเวลาสัมผัสนาน 15 นาที พบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley เชื้อลดลง 3.06 log cfu/g เมื่อเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และที่การปนเปื้อนของเชื้อในระดับปริมาณต่ำ (2.94 log cfu/g) ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาเดียวกันพบว่าปริมาณของเชื้อ *S.* Stanley เหลือรอด 0.99 log cfu/g

การล้างมะเขือเทศเชอรี่ด้วยน้ำล้างผสมสารละลายกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm สารละลาย KILLBACT-SU® 50% และ สารละลาย KILLBACT-SU® 75% เทียบกับการล้างด้วยน้ำประปาเพียงอย่างเดียว โดยทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3-4 องศาเซลเซียส ทดสอบทางประสาทสัมผัสในวันที่ 1 3 5 และ 7 วัน โดยผู้ทดสอบ 30 คน พบว่าผลทางด้านประสาทสัมผัสคุณภาพเรื่องสี และลักษณะปรากฏของมะเขือเทศเชอรี่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับจากผู้ทำการทดสอบ ยกเว้นคุณภาพทางด้านกลิ่นจะพบว่า KILLBACT-SU® 75% มีการยอมรับน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับน้ำประปา สารละลายกรดเปอร์อะซิติก 60 ppmและ สารละลาย KILLBACT-SU® 50% แต่การยอมรับโดยรวมยังอยู่ในเกณฑ์คุณภาพดี ดังนั้น การใช้สารฆ่าเชื้อ KILLBACT-SU® ความเข้มข้น 50% และ สารละลายกรดเปอร์อะซิติก ความเข้มข้น 60 ppm ร่วมกับน้ำล้างมะเขือเทศที่ใช้ในศึกษา จะดีกว่าการล้างน้ำประปาเพียงอย่างเดียว นอกจากจะไม่มีผลในเรื่องคุณภาพของมะเขือเทศหลังการล้างและการเก็บนาน 7 วัน แล้ว ยังช่วยในเรื่องความปลอดภัยจากการบริโภคเชื้อ *S.* Stanley และเชื้ออื่น ๆ ที่อาจติดมากับผลิตภัณฑ์ได้อีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากข้อมูลผลการศึกษาชี้ให้เห็นข้อมูลพื้นฐานในการลดปริมาณเชื้อ *S.* Stanley ที่อยู่บนผิวมะเขือเทศเชอรี่ด้วยสารละลาย KILLBACT-SU® และสารละลายกรดเปอร์อะซิติกให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งควรทำการศึกษากับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผักผลไม้ชนิดอื่นๆเพื่อให้เกิดประโยชน์ในด้านความปลอดภัยของอาหารมากขึ้น

การศึกษาคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสในระหว่างการเก็บรักษาถึงแม้ว่าสารละลาย KILLBACT-SU® และสารละลายกรดเปอร์อะซิติกจะให้ผลที่ไม่มีความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำประปา แต่จะมีผลต่อความปลอดภัยจากการบริโภคเชื้อที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษได้ นอกจากนี้ถึงแม้ว่าผลของสารละลาย KILLBACT-SU® ที่ความเข้มข้น 75% จะให้ผลที่มีประสิทธิภาพ

ในการฆ่าเชื้อ แต่ในเรื่องของผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสจะต้องหาวิธีการลดกลิ่นที่ติดมากับผักเพื่อให้เกิดความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในจริงในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

สำหรับข้อแนะนำที่ควรนำไปศึกษาต่อเพื่อให้เกิดประโยชน์ยิ่งขึ้น โดยคำนึงถึงการเพิ่มประสิทธิภาพและต้นทุน ในการนำไปประยุกต์ใช้จริงในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

- การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อโดยพิจารณาเรื่องสัดส่วนของมะเขือเทศหรือผักชนิดอื่นๆต่อน้ำล้างในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ศึกษาการนำน้ำล้างกลับมาใช้ในการล้างผักซ้ำ

- การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำล้างที่ผสมสารฆ่าโดยประยุกต์ใช้กับเครื่องล้างมะเขือเทศหรือผักชนิดอื่นๆในระดับอุตสาหกรรม

บรรณานุกรม

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2008. **กรมวิทย์ฯ เฝ้าระวังเชื้อ ซัลโมเนลลา ในมะเขือเทศสด.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.thannews.th.com/view_newstoday.php?id=51006737

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2010. **เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/BQSF/file/varity/cheme/dmscguide1.pdf

กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. 2544. **รายงานเกณฑ์คุณภาพและวิธีการตรวจวัดคุณภาพวัตถุดิบมะเขือเทศเพื่ออุตสาหกรรมเกษตร.** กรุงเทพฯ : สำนักพัฒนาอุตสาหกรรมรายสาขา กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม.

จิตศิริ ทองสอน. 2543. **"ประสิทธิภาพสารประกอบคลอรีน ร่วมกับกรดอินทรีย์ในการลด *Salmonella* Typhimurium ในผักสด."** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

เจนจิรา เจริญยิ่ง. 2544. **"ปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของสลัดผักซึ่งผ่านการแปรรูปเบื้องต้น."** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

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

นภาพร เชี่ยวชาญ. 2546. **การควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักและผลไม้.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.tistr-foodprocess.net/download/article/control_microorganism_th.htm

ปิยนันท์ มิตรอุดม. 2549. **"การยืดอายุการเก็บรักษาแตงร้านผักกาดหอมแปรรูปเบื้องต้นโดยการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และโอโซน."** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสุขาภิบาลอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วีระสิทธิ์ กัลยากฤต และวรศักดิ์ ช่างภา. 2553. "อิทธิพลของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ใน

ลูกแป้ง." **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.** ครั้งที่ 48. หน้า 211-217.

วันวิสาข์ ริมประนาม ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์ ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ และศิริชัย กัลยาณรัตน์. 2543. "การสำรวจความปลอดภัยทางจุลชีววิทยาของผักแปรรูปพร้อมบริโภคตามห้างสรรพสินค้าในกรุงเทพมหานคร." **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.** ครั้งที่ 38. หน้า 489-497

มนต์จันทร์ คำยา. 2548. **"การประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบจากแบคทีเรียกรดแล็กทิกเพื่อลดปริมาณ *Salmonella* Typhimurium บนผัก."** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

ลักขณา บรรณสาร และ บุษกร ทองใบ. 2551. "ประสิทธิภาพของสารสกัดใบฝรั่งและกรดแลคติกต่อการยับยั้งซาลโมเนลลาบนผลมะเขือเทศ." **วิทยาศาสตร์เกษตร.** ปีที่ 3, ฉบับที่ 3. หน้า 184-187

ศศิกานต์ อึ้งนิภากุล. 2544. **"การใช้สารผสมเปอร์ออกซีแอซีติกแอซิดในการลดปริมาณ *Listeria monocytogenes* ปนเปื้อนในกุ้งสดก่อนกระบวนการแช่เยือกแข็ง."** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สถาบันอาหาร. 2549. **อเมริกาพบ *Salmonella* ระบาดในมะเขือเทศสด.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : www.nfi.or.th/stat/file/Warning49-12-1.pdf

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ อรุณ บ่างตระกูลนนท์ และเธนศ ชิดเครือ. 2544. "การเฝ้าระวังจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม เพื่อลดเชื้อ *Salmonella* ในการผลิตไก่กระทงแช่แข็งเพื่อการส่งออก." **รายงานการวิจัย,** ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ศูนย์รังสิต.

สุธาทิพ ภมรประวัติ. 2552. **มะเขือเทศราชินี.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://corp.doctor.or.th/mc02.html

สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ. 2551. **สื่อมวลชนรายงานตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* Saint Paul ในมะเขือเทศสด.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://www.depthai

.go.th/dep/doc/51/51014651.doc

อดิศร เสวตวิวัฒน์ และปรีชา จึงสมานกุล. 2538. "ซาลโมเนลลาและลิสทีเรียในผักสด." **อาหาร.** ปีที่ 3 (ฉบับที่ 25) หน้า 185-189.

อรทัย ลีลาพจนาพร และวงค์ทิพา โรจนประภพ. 2549. "โรคอาหารเป็นพิษ." **วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ**. 54: 37-40.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ นพรัตน์ หมานริม และศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์. 2540. "การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* ในอาหารและผลิตภัณฑ์ : ผลการสำรวจเชื้อ *Salmonella* ในประเทศไทย." หน้า 1-60. ใน **รายงานการสัมมนาเรื่องความก้าวหน้าในการตรวจหาเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ**, กรุงเทพฯ.

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

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ ศรีรัตน์ พรเรืองวงศ์ และสุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. "การสำรวจเชื้อโรคอาหารเป็นพิษในอุจจาระของพนักงานในโรงงานผลิตอาหารแช่แข็ง." ใน **การประชุมวิชาการครั้งที่ 4.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

อรุณ บ่างตระกูลนนท์ อรสา จงวรกุล และพิทยา เหล่าสมบัติ. 2551. **การศึกษาการปนเปื้อนเชื้อโรคอาหารเป็นพิษและประสิทธิภาพน้ำส้มสายชู 5% (w/v) ในการลดการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนล่าบนผิวมะเขือเทศสด.** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.foodsafetymobile.org /UserFiles/Portfolio/41_abstract _tomato.pdf

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

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

Acuff, G. 1994. "Fresh-cut slice open new market." **American Fruit Grower.** 114 :62

Adams, M.R., Hartley, A.D. and Cox, L.J. 1989. "Factors Affecting the Efficacy of Washing Procedures Used in the Production of Prepared Salads." **Food Microbiology.** 6(2) :69-77.

Al-Shabani, A.M.H. and Greig, J.K. 1979. "Effect of Stage of Maturity, Storage and Cultivar on Some Quality Attributes of Tomatoes." **Journal of the American Society for Horticultural Science.** 104(6) : 880-882.

Ames, B.N. 1979. "Identifying Environmental Chemicals Causing Mutations and Cancer" p. 111. Cited by Wei, C.I., Cook, D.L. and Kirk, J.R. "Use of chlorine compounds in the food industry." **Journal of Food Technology.** 39(1) : 107-115.

Ana, Al., Mar´ıa, V.S., Francisco L.G., Raquel V. and Mar´ıa I.G. 2008. "Role of Commercial Sanitizers and Washing Systems on Epiphytic Microorganisms and Sensory Quality of Fresh-Cut Escarole and Lettuce." **Postharvest Biology and Technology.** 49 : 155–163.

Beuchat, L. R. 1996. "Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce." **Journal of Food Protection**. 59 : 204–216.

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

Block, S.S. 2001. "Disinfection, Sterilization and Preservation: Peroxygen Compounds." **Lippincott Williams and Wilkins**. Philadelphia. p. 185-204.

Brackett, R.E. 1992. "Shelf Stability and Safety of Fresh Produce as Influenced by Sanitation and Disinfection." **Journal of Food Protection**. 55(10) : 808-814.

Buchanan, R.L., Edelson-Mammel, S.G., Boyd, G. and Marmer, B.S. 2004. "Influence of Acidulant Identify on the Effects of pH and Acid Resistance on the Radiation Resistance of *Escherichia coli* O157:H7." **Journal of Food Microbiology.** 21 :51–57.

Casadei, M.A., Ingram, R., Hitchings, E., Archer, J. and Gaze, J.E. 2001. "Heat Resistance of *Bacillus cereus*, *Salmonella* typhimurium and *Lactobacillus delbrueckii* in Relation to pH and Ethanol." **Journal of Food Microbiology.** 63 : 125–134.

Chang, J.M. and Fang, T.J. 2007. "Survival of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* Enterica Serovars Typhimurium in Iceberg Lettuce and the Antimicrobial Effect of Rice Vinegar Against *E. coli* O157:H7." **Journal of Food Microbiology.** 24 :745-751.

Cherry, J.P. 1999. "Improving the Safety of Fresh Produce with Antimicrobials." **Journal of Food Technology.** 53 : 54-57.

Chung, K.C. and Goepfert, J.M. 1970. "Growth of *Salmonella* at Low pH." **Journal of Food Science**. 35 : 326–328.

Clutter, M.E. and Miller, E.V. 1961. "Ascorbic Acid Content and Time of Ripening of Tomatoes." **Economic Botany** 15 : 218-222.

Code of Federal Regulation (CFR). 2002. **Chemical used in washing or to assist in the peeling**

of fruits and vegetable. Code of Federal Regulations Title 21, part 173, Section 173.315. US Government Printing Office.

Code of Federal Regulation (CFR). 2002. **Protection of Environment**. Code of Federal Regulations Title 40, part 152, Section 152.25. US Government Printing Office.

Cords, B.R. and Dychdala, G.R. 1993. "Sanitizers: Halogens, Surface-Active Agents, and Peroxides." 469-537. In Davidson, P.M. and Branen, A.L. eds. **Antimicrobials in Foods.** 2th ed. Marcel Dekker, Inc., New York.

Coulthard, C.E. and Sykes. G. 1936. "The Germicidal Effect of Alcohol with Special Reference to Its Action on Bacterial Spores." **Journal of Pharmaceutical.** 137 : 79-81.

Dalal, K.B., Salunkhe, D.K. and Olson, L.E. 1966. "Certain Physiological and Biochemical Changes in Greenhouse-Grown Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.)." **Journal of Food Science.** 31(4) : 504-508.

D'Aoust, J.Y. 1981. "Update on Preenrichment and Selective Enrichment Condition for Detection on *Salmonella* in Foods." **Journal of Food Protection**. 44 : 396-374.

Davidson P.M., Sofos J.N. and Branen A.L. 2005. **Antimicrobials in food.** 3rd ed. New York : Taylor & Francis.

Davies, J.N. and Hobson, G.E. 1981. "The Constituents of Tomato Fruit, the Influence of Environment, Nutrition and Genotype." **Critical Review in Food Science and Nutrition.** 15(3) : 205

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. Cited by R.E. Dychdala, G.R. 1988. "New Hydrogen Peroxide-Peroxyacetic Acid Disinfection." **Proceedings. 4th Conference. Chemical Disinfection.** New York State University. Bingham. NY. p. 315-342.

Denyer, S. P., and Stewart, G. S. A. B. 1998. "Mechanisms of Action of Disinfectants." **International Biodeterioration and Biodegradation.** 41 : 261-268.

De Roever, C. 1998. "Microbiological Safety Evaluations and Recommendations on Fresh Produce." **Food Control**. 9 : 321–347.

Doyle, M.P. 1990. "Fruit and Vegetable Safety-Microbiological Considerations." **Hort Science.**

25 : 1478–1481.

Dychdala, G.R. and Koroma, J.M. 1986. "Bactericidal Activity of P3-Oxonia Active at Different pH Levels." **Henkel Corporation** (unpublished).

Ecolabs. 2000. Oxonia Active Food Contact Surface Sanitizing Efficacy. (Unpublished)

Emberland, K.E., Ethelberg, S., Kuusi, M., Vold, L., Jensvoll, L., Lindstedt, B.A., Nygård, K., Kjelsø, C., Torpdahl, M., Sørensen, G., Jensen, T., Lukinmaa, S., Niskanen, T. and Kapperud, G. 2007. **Outbreak of *Salmonella* Weltevreden Infections in Norway, Denmark and Finland Associated with Alfalfa Sprouts.** [Online]. Available from http://www.eurosulveillance.org/ew/2007/071129.asp.

Evans, D.A. 2000. "Disinfectants." **Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology** 1: 501-509.

Ewing, W.H. 1986. "The Taxonomy of Enterobacteriaceae, Isolation of Enterobacteriaceae and Preliminary Indentification. The Genus *Salmonella*." In : Edwards, p. and W.H. Ewing (editors). **Identification of Enterobacteriaceae**. 4th ed. New York : Elsevier. Pp. 1-91, 181–318.

FMC Corp. 1981. "Technical Bulletin 4. Peracetic Acid, 35%." FMC Corp. Industrial Chemicals Group, 2000 Market St., Philadelphia.

Food and Drug Administration (FDA) USA. 2001. **Analysis and Evaluation of Preventive Control Measures for the Control and Reduction/Elimination of Microbial Hazards on Fresh and Fresh-Cut Produce.** [Online]. Available from http://www.fda.gov/Food/Science Research/ResearchAreas/SafePracticesforFoodProcesses/ucm091363.htm

Food and Drug Administration (FDA) USA. 2006. **Spinach and *E. coli* Outbreak.** [Online]. Available from http://www.fda.gov/oc/opacom/hottopics/spinach.html.

George, B., Kaur, C., Khurdiya, D.S. and Kapoor, H.C. 2004. "Antioxidants in Tomato (*Lycopersicon esculentum L.*) as a Function of Genotype." **Journal of Food Chemistry** 84(1): 45-51.

Gerald M.S. and Donyel M.J. 2006. "Improved Sanitizing Treatments for Fresh Tomatoes." **Journal of Food Science.** 71 : 252-256

Greenspan, F.P. and Margulies, P.H. 1950. "Treatment of Raw Plant Tissue." **US Patent** 2 : 512-640.

Gülten, T.G., Sahika, A.G. and Mehmet K. 2010. "Efficacy of Sumac and Oregano in the Inactivation of *Salmonella* Typhimurium on Tomatoes." **Journal of Food Microbiology**. 141 : 39–44

Guodong, Z., Lima, Vanessah, P., and Michael, P.D. 2009. "Efficacy of Antimicrobial Agentsin Lettuce Leaf Processing Water for Control of *Escherichia coli* O157:H7. **Journal of Food Protection.** 72 (7) : 1392–1397

Gutierrez, E. 1997. "Japan Prepares as *Escherichia coli* O157:H7 Strikes Again." **Lancet** 349, 1156.

Hagenmaier, R.D. and Baker, R.A. 1998. "A Survey of the Microbial Population and Ethanol Content of Bagged Salad." **Journal of Food Protection.** 61(3) : 357-359.

Han, Y., Sherman, D. M., Linton, R. H., Nielson, S. S., and Nelson, P. E. 2000. "The Effects of Washing and Chlorine Dioxide Gas on Survival and Attachment of *Escherichia coli* O157:H7 to Green Pepper Surfaces." **Journal of Food Microbiology**. 17 : 521-533.

Hilgren, J. D., and Salverda, J. A. 2000. "Antimicrobial Efficacy of a Peroxyacetic Octanoic Acid Mixture in Fresh-Cut-Vegetable Process Water." **Journal of Food Science**. 65 : 1376-1379.

Hobson, G.E. and Devies, J.N. 1971. **"The Biochemistry of Fruits and Their Products."** London. Academic Press.

Howarth and Rodrigues. 2008. **The Effectiveness of Water, Sodium Hypochlorite Bleach, and Peroxyacetic Acid (PAA) in Eradicating *Salmonella* Typhimurium from the Surface of Tomatoes.** [Online]. Available from http://www.envirotech.com/pdf/Tomatoes%20Salmonella%20Rpt%207-9-08.pdf

Howarth, J. 2003. **PERASAN® Sanitation with Peracetic Acid(PAA)**. [Online]. Available from http://www.envirotech.com/pdf/Perasan%20A%20Sanitation.pdf

Hurst, W.C. and Schuler, G.A. 1992. "Fresh Produce Processing-An Industry Perspective." **Journal of Food Protection**. 55(10) : 824-827

Huys, G., Haene, K.D. and Swings, J. 2002. "Influence of the Culture Medium on Antibiotic Susceptibility Testing of Food-Associated Lactic Acid Bacteria with the Agar Overlay Disc Diffusion Method." **Journal of Microbiology**. 34 : 402-406.

IBPGR Secretariat. 1981. "Genetic Resource of Tomatoes and Wild Relatives." AGP: IBPGR 80/103. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Via delle Terme di Caracalla**. Rome 00100. Italy. p. 65

Ingram, L.O. and Buttke, T.M. 1984. "Effects of Alcohols on Micro-Organisms." **Microbial physiology.** New York, London, Academic press, vol. 25, p. 280-282.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1996. "*Salmonella* Microorganisms in Foods 5." **Blackie Academic & Professional.** New York. p. 217 – 264

International of Fresh-cut Produce Association (IFPA). 2006. **Fresh-Cut Facts.** [Online]. Available from http://www.fresh-cuts.org/index.php?page=100

Ilkin, Y.S., Mehmet, K. 2004. "Effectiveness of Lemon Juice, Vinegar and Their Mixture in the Elimination of *Salmonella* Typhimurium on Carrots (*Daucus carota L.*)." **Journal of Food Microbiology.** 96 : 301–305.

Izumi, H. 1999. "Electrolyzed Water as a Disinfectant for Fresh-Cut Vegetables." **Journal of Food Science** 64 : 536–539.

Jay, J.M. 1996. "Chapter 23 : Foodborne Gastroenteritis Caused by *Salmonella* and *Shigella*." **Modern Food Microbiology**. 5th edition. Chapman & Hall (International Thomson Publishing), Singapore.

Jerngklinchan, J. and Saitanu, K. 1993. "The Occurrence of *Salmonellae* in Bean Sprouts in Thailand." p. 206-207. Cited by Beuchat, L.R. "Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce." **Journal of Food Protection.** 59(2) : 204-216.

Jolivet-Gougeon, A., Sauvager, F., Bonnaure-Mallet, M., Colwell, R.R., Cormier, M. 2006. "Virulence of Viable but Nonculturable *S.* Typhimurium LT2 after Peracetic Acid Treatment." **International Journal of Food Microbiology**. 112 : 147–152.

Juan, E.A. , Soraya, M., Fernando, D., Milagrosa, S., Gilda, C., Miguel, U. 2009. "Effects of Peracetic Acid Disinfectant on the Postharvest of Some Fresh Vegetables." **Journal of Food Engineering.** 95 : 11–15.

Kim, H., Ryu, J. H., and Beuchat, L. R. 2006. "Survival of *Enterobacter sakazakii* on Fresh Produce as Affected by Temperature, and Effectiveness of Sanitizers for Its Elimination." **International Journal of Food Microbiology**. 111 : 134-143.

Kirk M.D., Little C.L., Lem N., Fyfe M., Genobile D., Fisher IST et al. 2004. "An Outbreak Due to Peanuts in Their Shell Caused by *Salmonella* Enterica Serotypes Stanley and Newport –

Sharing Molecular Information to Solve International Outbreaks." **Epidemiology Infection.** 132 : 571-577.

Koo, F.C.W. and Peterson, J.W. 1983. "Cell-free Extracts of *Salmonella* Inhibit Protein Synthesis and Cause Cytotoxicity in Enkaryotic Cells. **Toxicon**. 21 : 309 – 320.

Koo, F.C.W., Peterson, J.W., Houston C.W. and Molina, N.C. 1984. "Pathogenesis of Experimental Salmonellosis: Inhibition of Protein Synthesis by Cytotoxin." **Infection and Immunity**. 43 : 93–100.

Koupal, L.P. and Diebel, R.H. 1975. "Assay Characterization, and Localization of an Enterotoxin Produced by *Salmonella*." **Infection and Immunity**. 11 : 14–22.

Kurschner, L.M. and Diken, G.M. 1997. "Use of Peracetic Acid to Sanitize Processed Fowl." **US Patent.** 5 : 632-676.

Krasner, S.W. and Barrett, S.E. 1984. "Aroma and Flavor Characteristics of Free Chlorine and Chloramines." **Water Quality Technology.** Denver. p. 381–398.

Larson, E.L., Morton, H.E. 1991. **Disinfection, Sterilization and Preservation Alcohols.** 4th edition.

Lillard, H.S. and Thomson, J.E. 1985. "Efficacy of Hydrogen Peroxide as a Bactericide in Poultry Chiller Water." **Journal of Food Science.** 48 :125-126.

Lin, Huang W. T., Cornell, J.A., Lin, C., and Wei, C. 1996. "Bactericidal Activity of Aqueous Chlorine and Chlorinedioxide Solutions in Fish Model System." **Journal of Food Science.** 61(5) :1030-1034.

Lindqvist A. 2006. "*Salmonella* Stanley Från Limeblad." **EPI-aktuellt in Swedish**. 5.

Lokkesmoe, K. and Olson, K. 1993. "Process for Inhibition of Microbial Growth in Aqueous Transport Streams." **US Patent** 5 :409-713

Mahon B.E., Pönkä A., Hall W.N., Komatsu K., Dietrich S.E. and Slutsker L. 1997. "An International Outbreak of *Salmonella* Infections Caused by Alfalfa Sprouts Grown from Contaminated Seeds." **Journal of Infectious Diseases.** 175: 876-82.

Masson, R.B. 1990. "Recherche De Nouveax Disinfectants Pour Les Produits De 4eme Gamme. In: ProcCongress Produits de 4eme Gamme et de 5eme Gamme, Brussels" **CERIA** 101.

Mcwatters, L.H., Chinnan, M.S., Walker, S.L., Doyle, M.P. and Lin, C.M. 2002. "Consumer

Acceptance of Fresh-Cut Iceberg Lettuce Treated with 2% Hydrogen Peroxide and Mild Heat." **Journal of Food Protection.** 65 : 1221–1226.

Morton, H.E. 1950. "The Relationship of Concentration and Germicidal Efficiency of Ethyl alcohol." **Annals of the New York Academy of Sciences.** 53 : 191-96.

Mukherjee, A., Speh, D., Jones, A.T., Buesing, K.M. and Diez-Gonzalez, F. 2006. "Longitudinal Microbiological Survey of Fresh Produce Grown by Farmers in the Upper Midwest." **Journal of Food Protection.** 69 : 1928–1936.

National Institute of Infectious Diseases and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Welfare of Japan. 1997. "Verocytotoxin Producing *Escherichia coli* (Enterohemorrhagic *E. coli*) Infection, Japan, 1996–1997." **Infectious Agents Surveillance Reports.** 18 :53–154.

Nat'l. Inst. Inf. Dis. 1997. "National Institute of Infectious Diseases and Infectious Diseases Control Division, Ministry of Health and Welfare of Japan. Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* Enterohemorrhagic *E. coli*" Infection, Japan, 1996–1997. **Infectious Agents Surveillance Reports** 18 : 53–154.

Nguyen-the, C. and Carlin, F. 1994. "The Microbiology of Minimally Processed Fresh Fruits and Vegetables." **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 34 : 371–401.

Nygård, K., Lassen, J., Vold, L. and Aavitsland, P. 2004. **Outbreak of *Salmonella* Thompson Infections Caused by Contaminated Ruccola (rocket) salad.** [Online]. Available from http://www.eurosurveillance.org/ew/2004/041125.asp.

Odumeru, J.A., Mitchell, S.J., Alves, 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." **Journal of Food Protection.** 60(8) : 954-960.

Olsen, S.J., MacKinon, L.C., Goulding, J.S. and Slutsker, L. 2000. "Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks–United States, 1993–1997." **Morbidity and Mortality Weekly Report** 49 : 1–51.

Orth, R. and Mrozek, H. 1989. "Is the Control of *Listeria, Campylobacter* and *Yersinia* a Disinfectant Problem." **Fleischwirt shaft.** 69(10) :1575-1576.

Ozkanca, R., and Flint, K.P. 2002. "The Effect of Starvation Stress on the Poring Protein Expression

of *Escherichia coli* in Lake Water." **Letter of Applied Microbiology.** 35 : 533-537.

Pan, G.X., Spencer, L. and Leary, G.J. 1999. "Reactivity of Ferulic Acid and Its Derivatives toward Hydrogen Peroxide and Peracetic Acid." **Agricultural Food Chemicals.** 47 : 3325-3331.

Parish, M.E., Beuchat, L.R., Suslow, T.V., Harris, L.J., Garrett, E.H., Farber, J.N. and Busta, F.F. 2003. "Methods to Reduce/Eliminate Pathogens From Fresh and Fresh-Cut Produce." **Food Science and Food Safety**. 2 : 161–173.

Park, C. M., and Beuchat, L. R. 1999. "Evaluation of Sanitizers for Killing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and Naturally Occurring Microorganisms on Cantaloupes, Honeydew Melons and Asparagus." **Dairy Food and Environmental Sanitation.** 19 : 842–847.

Pavlas, M. 1967. "Disinfectant Effect of Chloramines B and Peracetic Acid on Mycobacterium Bovis." **Microbiology Immunology.** 16(5) : 282-286.

Pezzoli, L., Elson, R., Little, C., Fisher, I., Yip, H., Peters, T., Hampton, M., De Pinna, E., Coia, J.E.,Mather, H.A., Brown,D.J., MøllerNielsen, E., Ethelberg, S., Heck, M., de Jager, C. and Threlfall, J., 2007. **International Outbreak of *Salmonella* Senftenberg in 2007.** [Online]. Available from http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/070614.asp.

PHLS (Public Health Laboratory Service), 2000. "Guidelines for the Microbiological Quality of Some Ready-To-Eat Foods Sampled at the Point of Sale." **Communicable Disease and Public Health (CDPH)** 3 : 163–167.

Pouhiniemi R., Heiskanen T. and Siitonen A. 1997. "Molecular Epidemiology of Two International Sprout-Borne *Salmonella* Outbreaks." **Journal of Clinical Microbiology.** 35 : 2487-2491.

Rasrinaul, L., Suthienkul, O. and Echeverria, P.D. 1988. "Food-A Source of Enteropathogens Causing Children Diarrhea in Thailand." p. 207. Cited by Beuchat, L.R. "Pathogenic microorganisms associated with fresh produce." **Journal of Food Protection.** 59(2) : 204-216.

Roberts, T.A., Parker, A.C.B. and Tompkin, R.B. 1996. **Microorganisms in Food 5: Microbiological Specification of Food Pathogen.** Blackie Academic and Professional. London. P. 513.

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

Roshner, D. 1987. "P3-oxonia active documentation." **Technical Bulletin**. Henkel Corporation, p. 27.

Russell, P. 1994. "Invertase Inhibitor in Tomato Fruit." **Phytochemistry** 36(3) : 543-546.

Sapears, G.M. and Simmons, G.F. 1998. "Hydrogen Peroxide Disinfection of Minimally Processed Fruits and Vegetables." **Journal of Food Technology.** 52(2) : 48-53.

Sapears, G.M. 2002. "Washing and sanitizing raw materials for minimally Processed fruit and vegetable products." **Microbiological Safety of Minimally processed Foods.** Florida . CRC Press.

Schlech, W.F., Lavigne, P.M., Bortolussi, R.A., Allen, A.C., Haldane, E.V., Wort, A.J. and Hightower, A.W. 1983. "Epidemic Listeriosis Evidence for Transmission by Food." **New England Journal of Medicine.** 308 : 203–206.

Scott, L.E. and Krammer, A. 1959. "The Effect of Storage upon the Ascorbic Acid Content of Tomatoes Harvested at Different Stages of Maturity." **Journal of the American Society for Horticultural Science.** 54(4) : 271-280.

Sengun, I.Y. and Karapinar, M. 2004. "Effectiveness of Lemon Juice, Vinegar and Their Mixture in the Elimination of *Salmonella* Typhimurium on Carrots (*Daucus carota L.*)." **Journal of Food Microbiology.** 96 :301– 305.

Simmons, G.F. 1996. "Horticultural Crops Research Laboratory, Agricultural Research Service." **Fresno** : U.S. Department of Agriculture.

Smith, S., Dunbar, M., Tucker, D., and Schaffner, D.W. 2003. "Efficacy of a Commercial Produce Wash on Bacterial Contamination of Lettuce in Food Service Setting." **Journal of Food Protection**. 66 : 2359-2361.

Solomon, H.M., Kautter, D.A., Lilly, T. and Rhodehamel, E.J. 1990. "Out growth of *Clostridium botulinum* in shredded cabbage at room temperature under modified atmosphere." **Journal of Food Protection**. 53(10) : 831-833.

Stampi, S., De Luca, G. and Zanetti, F. 2001. "Evaluation of the Efficiency of Peracetic Acid in the Disinfection of Sewage Effluents." **Journal of Applied Microbiology**. 91 : 833–838.

Suwimon, K., Apiniharn, P. and Chidchanok, L. 2011. "Prediction of Coliforms and *Escherichia coli* on Tomato Fruits and Lettuce Leaves after Sanitizing by Using Artificial Neural Networks." **Food Science and Technology.** 44 :130-138

Söderström, A., Lindberg, A. and Andersson, Y., 2005. **EHEC O157 Outbreak in Sweden from Locally Produced Lettuce, August–September 2005.** [Online]. Available from http://www.eurosurveillance.org/ew/2005/050922.asp.

Swart, S.K. 1990. **Sporicidal Activity of P3-Oxonia Active.** Ecolab, Inc. (Unpublished).

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 Microbiological Criteria for Foods." **Journal of Food Protection**. 60 : 1400–1408.

Tauxe, R.V. 1991. "*Salmonella* : A Postmodern Pathogen." **Journal of Food Protection.** 54(7) : 563-568.

Tartakow, I.J. and Vorperian, J.H. 1981. "Food Borne and Water Borne Diseases: Their Epidemiologic Characteristics." The AVI Publishing Company Inc. Connectiont.

Taylor, J.H., Rogers, S.J. and Holah, J.T. 1999. "A Comparison of the Bactericidal Efficacy of 18 Disinfectants Used in the Food Industry Against *Escherichia coli* O157:H7 and *Pseudomonas aeruginosa* at 10 and 20^{0}C." **Journal of Applied Microbiology.** 87 : 718-725.

The U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2005. **Outbreaks of *Salmonella* Infections Associated with Eating Roma Tomatoes United States and Canada.** [Online]. Available from http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5413a1.htm

The U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2008. **Investigation of Outbreak of Infections Caused by *Salmonella* Saintpaul.** [Online]. Available from http://www.cdc.gov/salmonella/saintpaul/

Thomson, J. E., Cox, N. A. and Bailet, J.S. 1976. "Chlorine, Acid and Heat Treatments to Eliminate *Salmonella* on Broiler Carcasses." **Poultry Science.** 55 :1513-1517.

Tichacek, B. 1966. **"Peracetic Acid and Its Possibility of Applying It for the Disinfection at State Health Establishments in CSSR."** Prague, Czechoslavakia (State Health Department).

Ukuku, D.O. 2004. "Effective of Hydrogen Peroxide Treatment on Microbial Quality and Appearance of Whole and Fresh-Cut Melons Contaminated with *Salmonella spp.*" **International Journal of Food Microbiology.** 95 :137-146

Unrein, 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." **Journal of Food Protection**. 55(10) : 808-814.

Varnam, A.H. and Evans, M.G. 1991. **Foodbrone Pathogens An Illustrated Text.** Wolfe. London. 557 p.

Wiley, R.C. 1994. **Microbiological Spoilage and Pathogens in Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. Microbial Safety of Minimally Processed Foods.** Boca Raton : CRC Press.

Winniczuk, P.P. 1994. **Effects of Sanitizing Compounds on the Microflora of Orange Fruit Surfaces and Orange Juice.** Unpublished M. S. thesis from Gainesville Florida University of Florida Graduate School.

Wlodkowski, T.J., and Rosenkranz,H.S. 1975. "Mutageniccity of Sodium Hypochlorite for *Salmonella* Typhimurium." **Mutation Research.** 31:39.

Zhang, S. and Farber, J.M. 1996. "The Effect of Various Disinfectants Against *Listeria monocytogenes* on Fresh-Cut Vegetables." **Journal of Food Microbiology.** 13 :311-321.

Zhuang, R.Y., Beuchat, L.R. and Angulo, F.J. 1995. "Fate of *Salmonella* Montevideo on and in Raw Tomatoes as Effected by Temperature and Treatment with Chlorine." **Applied Environment Microbiology**. 61(6) : 2127-2131.

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

ละลายน้ำ 30 กรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มน้ำให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 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

ละลายอาหาร 40 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรง นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 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. Mueller Hinton Agar (MHA, Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

Meat Infusion	2.0	กรัม
Casein Hydrolysate	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar-agar	13.0	กรัม

ละลายอาหาร 40 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยต้มให้เดือดในอ่างน้ำร้อนหรือตั้งบนเปลวไฟโดยตรงนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

5. 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

การเตรียมสารละลายกรดเปอร์อะซิติก

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิด

การหาความเข้มข้นของเปอร์แอซีติกแอซิดจากสารตั้งต้น (Stock solution)

1. ดูดสารตั้งต้นมาเจือจางในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1(W/V)
2. ดูดสารละลายตัวอย่าง(จากข้อ 1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีกรดซัลฟิวริกแอซิด 1 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
3. เติมฟอร์โรอิน อินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีส้มอ่อนแล้วไทเทรตด้วยซีริคซัลเฟต 0.1 นอร์มัล จนสารละลายตัวอย่างเปลี่ยนจากสีส้มอ่อนเป็นสารละลายไม่มีสี
4. เติมโพแทสเซียมไอโอไดด์ 2.5 นอร์มัล 10 มิลลิลิตร และสารละลายแป้ง 1 มิลลิลิตรลงในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งสารละลายตัวอย่างจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน
5. ไทเทรตด้วยโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.01 นอร์มัล จนสารละลายเปลี่ยนกลับไปเป็นสีส้มอ่อนเหมือนเดิม
6. คำนวณความเข้มข้นของสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดโดยปริมาตรของ โซเดียมไทโอซัลเฟตที่ไทเทรตได้ (มิลลิลิตร) คูณกับ 0.38 เท่ากับร้อยละของเปอร์แอซีติกแอซิด ตัวอย่างเช่น ไทเทรตด้วยโซเดียมไทโอซัลเฟต ได้ 34.2 มิลลิลิตร นำ 34.2 ไปคูณกับ 0.38 จะได้เท่ากับ 13.0 แสดงว่าสารตั้งต้นมีปริมาณเปอร์แอซีติกแอซิดร้อยละ 13

การเตรียมสารละลายเปอร์แอซิติกแอซิดตามความเข้มข้นที่ต้องการ

เตรียมจากสารละลายตัวอย่างร้อยละ 1 (จากข้อ 1) ของสารตั้งต้นหลังจากไทเทรตทราบความเข้มข้นของสารตั้งต้นแล้ว สามารถเตรียมสารละลายเปอร์แอซิติกแอซิดตามความเข้มข้นที่ต้องการ เช่น ถ้าสารตั้งต้นมีปริมาณเปอร์แอซีติกแอซิดร้อยละ 13 แสดงว่าสารละลายตัวอย่างร้อยละ 1 (W/V) ของสารตั้งต้นมีเปอร์แอซิติกแอซิดร้อยละ 0.13 เท่ากับ 1,300 ppm ถ้าต้องการเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่มีความเข้มข้น 90 ppm ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1.300 ppm สามารถเตรียมได้ตามตัวอย่างที่คำนวณ ดังนี้

ตัวอย่างการคำนวณ

จากสูตร $M_1V_1=M_2V_2$

ปริมาตรสารตั้งต้น × ความเข้มข้นสารตั้งต้น= ปริมาตรสารสุดท้าย × ความเข้มข้นสุดท้าย

ปริมาตรสารตั้งต้น × 1,300 ppm = 1,000 มิลลิลิตร × 100 ppm

ปริมาตรตั้งต้น = 76.92 มิลลิลิตร

ดังนั้นสามารถเตรียมสารละลายเปอร์แอซีติกแอซิดที่มีความเข้มข้น 100 ppm โดยดูดสารละลายตัวอย่างร้อยละ 1 (W/V) ของสารตั้งต้น ประมาณ 77 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดเชิงปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เทใส่ขวดแก้วหุ้มฟอล์ยแล้วเก็บสารไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ค

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

ภาคผนวก ค

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

นำมะเขือเทศมาทดสอบทางประสาทสัมผัสในเรื่อง สี กลิ่น ลักษณะปรากฏ และการยอมรับ

การเตรียมตัวอย่าง

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

แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ทดสอบ ..... วัน/เดือน/ปี.....

กรุณาให้คะแนนมะเขือเทศสด ตามความชอบโดยการให้คะแนนมีระดับต่างๆ ดังนี้

9 = ชอบมากที่สุด

8 = ชอบมาก

7 = ชอบปานกลาง

6 = ชอบเล็กน้อย

5 = เฉย

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

3 = ไม่ชอบปานกลาง

2 = ไม่ชอบมาก

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	สี	กลิ่น	ลักษณะปรากฏ	การยอมรับโดยรวม

ข้อเสนอแนะ:

ขอบคุณที่ให้ความร่วมมือค่ะ

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: - 96LC50; 18-13.4 g/L (crap, as 100%)
- Toxicity to fish	

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

นางสาวสาธิตา รุ่งอรุโณทัย เกิดเมื่อวันที่ 15 มกราคม 2526 ที่ จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร ปีการศึกษา 2548 ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาสุขาภิบาลอาหารปี พ.ศ 2549 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2554

<u>ประวัติการทำงาน</u>

เมษายน พ.ศ. 2548	เจ้าหน้าที่ Corporate Quality Assurance บริษัท เจริญโภคภัณฑ์ จำกัด
มกราคม พ.ศ. 2549 – ปัจจุบัน	Business Integration System สำนักพัฒนาความยั่งยืนองค์กร บริษัท เจริญโภคภัณฑ์ จำกัด