1.แผนงานวิจัย การลดการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลังเก็บเกี่ยว

2.โครงการวิจัย การจัดการโรคและสารพิษจากเชื้อราในผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวโดยไม่ใช้สารเคมี

กิจกรรม การควบคุมโรคและสารพิษจากเชื้อราโดยผสมผสานวิธีการตั้งแต่ผู้ผลิตถึงผู้บริโภค

กิจกรรมย่อย

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) วิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสดหลังการเก็บเกี่ยว

ชื่อการทดลอง(ภาษาอังกฤษ) Study of Postharvest Loss in Perishable Leafy-Vegetable from Microorganism Contamination

4.คณะผู้ดำเนินงาน

อารีรัตน์ การุณสถิตย์ชัย ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์ นางสาววฤษณี ปรีชานฤชิตกุล

5.บทคัดย่อ

วิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสดหลังการเก็บเกี่ยว มีวัตถุประสงค์ คือศึกษาวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตผลผักสดหลังการเก็บเกี่ยวเบื้องต้นในระดับแปลงปลูกและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาขณะขนส่งก่อนเข้าสู่โรงคัดบรรจุ เพื่อ ดำเนินงานตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2556 ที่ แปลงเกษตรกรเครือข่ายร่วมกับโรงงานคัดบรรจุผักส่งออกเอกชนจังหวัดนครปฐม และสำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร การทดลองนี้ใช้ผักสะระแหน่เป็นพืชต้นแบบในการศึกษา ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม GRAS ในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ โดยแยกเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* จากสะระแหน่ เลี้ยงเชื้อในอาหารสังเคราะห์ด้วยวิธี spread plate technique ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี streak plate technique และนำเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ที่ได้ไปใช้ในการทดสอบเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ของสารกลุ่ม GRAS ได้แก่ สารละลายกรดซิตริก, สารละลายอะซิตริค, สารละลายแลคติค และสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ด้วยวิธี Poison filter paperdisc technique พบว่า สารละลายกรดซิตริคความเข้มข้น 0.6%, สารละลายอะซิตริคความเข้มขัน 3% และสารละลายแลคติคความเข้มข้น 0.5% มีประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *E. col* ทำการคัดเลือกสารละลายดังกล่าวมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ในสะระแหน่ โดยนำสารละลายทั้ง 3 ชนิด มาล้างสะระแหน่เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 48 ชั่วโมง ทำการสุ่มตัวอย่างสะระแหน่ที่ 0, 3, 6, 12, 24, 48 ชั่วโมง นำไปตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ด้วยวิธี spread plate technique พบว่า สะระแหน่ที่ล้างด้วยสารละลายกรดซิตริคความเข้มข้น 0.6% เก็บรักษานาน 15 ชั่วโมง ตรวจพบจำนวนเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* น้อยที่สุด

สำหรับการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษา โดยนำสะระแหน่ที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยสารละลายกรดซิตริคความเข้มข้น 0.6% มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 10 °ซ เปรียบเทียบกับ

กรรมวิธีควบคุม นาน 48 ชั่วโมง ทำการสุ่มตัวอย่างสะระแหน่ที่ 0, 3, 6, 15, 24, 48 ชั่วโมง จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 500 กรัม นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ตามวิธี AOAC 2000 991.14 (Petrifilm) พบว่า สะระแหน่ที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยสารละลายกรดซิตริคความเข้มข้น 0.6% เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ นาน 3 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* น้อยที่สุด คือ 77 cfu/g

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสะระแหน่ในระดับแปลงปลูก โดยการล้างสะระแหน่ด้วยสารละลายกรดซิตริคความเข้มข้น 6% เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 30 °ซ นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างสะระแหน่จำนวน 5 ซ้ำๆละ 500 กรัม นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ตามวิธี AOAC 2000 991.14 (Petrifilm) พบว่า สะระแหน่ที่ล้างด้วยสารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 6% เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ นาน 24 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* น้อยที่สุด อยู่ระหว่าง 10-226 cfu/g จากผลการทดสองแสดงให้เห็นว่าการล้างสะระแหน่ด้วยสารละลายกรดซิตริคความเข้มข้น 6% เป็นวิธีที่ลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*.ในผักสดหลังเก็บเกี่ยวเบื้องต้นก่อนเข้าสู่โรงคัดบรรจุที่เหมาะสม

Abstract

This research aimed to reduce contamination of *Escherichia coli* in *Melissa officinalis* L. after harvest using proper GRAS solution and temperature. The research was handled between October 2011 and September 2013 at Nakorn Pathom Province and Postharvest and Processing Research and Development Office. *E. coli*, isolated from *M. officinalis* or kitchen mint. The efficiency of GRAS substances to reducing microorganisms was testing in the laboratory. The bacteria *Escherichia coli* were isolated from peppermint with spread plate technique then pure isolated using streak plate technique. The strain of *E. coli* that were used in the experiment to compare the efficiency of GRAS substances to microbial control, including citric acid, acetic acid, lactic acid and sodium bicarbonate with poison filter paper-disc technique.The result show that 0.6% citric acid, 3% acetic acid and 0.5% lactic had high efficiency for control the number of *E. coli*. All three solutions were selected to test the effective control of microorganisms in peppermint. Peppermint were washed with three kinds of solution then stored at 37°C for 48 hours and compared with control treatment. The sample were sampling at 0, 3, 6, 12, 24, and 48 hours to count the number of *E. coli* using spread plate technique found that peppermint washing with 0.6% citric acid solution for 15 hours detected the *E. coli* to a minimum.

For the optimum temperature test for storage, peppermint were cleaning with 0.6% citric acids then stored at 5 and 10°C for 48 hours, compared with control treatment. Sampling peppermint at 0, 3, 6, 15, 24 , 48 hours 3 replications, 500 grams per replication to analyze the amount of *E. coli* according to AOAC 2000 991.14 (Petrifilm) found that peppermint were cleaned with 0.6 % citric acid and storage at 5 °C for 3 hours detected a minimum amount of *E. coli* was 77 cfu / g.

The microbial contamination reduction in peppermint was tested in field. Cleaning peppermint with 6 % citric acid then stored at 5 and 30°C for 24 hours compared to control treatment and sampling peppermint 5 replications, 500 grams per replication to analyze the amount of *E. coli* according to AOAC 2000 991.14 (Petrifilm) found that peppermint were cleaning with 6% citric acid, stored at 5°C for 24 hours detected the amount of *E. coli* between 10-226 cfu/g. The result indicated that cleaning peppermint with 6 % citric acid as a way to reduce contamination of bacteria *E. coli* on vegetables after harvest before packing .

6.คำนำ

ผักสดปลอดจุลินทรีย์ เป็นประเด็นที่ตลาดต่างประเทศหยิบยกขึ้นมาเป็นเหตุผลในการกีดกันทางการค้าด้วยมาตรการทางสุขอนามัยพืช ควบคู่กับ ความปลอดภัยของผู้บริโภค เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนนั้นก่อโรคให้กับมนุษย์ คือ เชื้อ *Escherichia coli* ทำให้เกิดอาการท้องเสีย และเป็นเชื้อบ่งชี้ว่ามีสุขลักษณะการผลิตที่ไม่เหมาะสม (ชวเลิศ, 2550) โดยธรรมชาติเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ pH 4.5-9 มีความต้องการความชื้นจากสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมอยู่ที่ a_w 0.96 รวมทั้งออกซิเจนและสารอาหารในการเจริญเติบโต โดยเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 37 °C และการเจริญเติบโตจะลดลงในสภาวะอุณหภูมิ 25-30 °C ที่อุณหภูมิ 5 °C เจริญเติบโตและการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ จะลดต่ำลง (รังสินี, 2553)

การสำรวจการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมดในผักบริโภคสด ของ วราภา และคณะ (2543) พบว่า สะระแหน่ มีปริมาณปนเปื้อนมากที่สุด(4.9-5.8 $\log_{10}$ CFU/ml) รองมาคือ ผักชี ผักกาดหอมและกะหล่ำปลี (4.1-5.5, 4.3-4.5 และ 4.6-4.8 $\log_{10}$ CFU/ml) สอดคล้องกับรายงานของ บุษรา และคณะ (2550) พบว่า สะระแหน่มีการปนเปื้อน *E.coli* มากที่สุด (42,000 CFU/กรัม) รองมาคือ กระเพรา โหระพา ผักชีฝรั่ง และต้นหอม (800, 160, 15 และ $<$ 10 CFU/กรัม) ตามลำดับ จึงกล่าวได้ว่า ผักสะระแหน่เป็นพืชศึกษาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E.coli* ที่เหมาะสม รวมทั้งเป็นหนึ่งในผักสด 23 ชนิดที่ต้องมีใบรับรองปลอดเชื้อจุลินทรีย์กำกับเพื่อการส่งออกด้วย

จากข้อมูลการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E.coli* ในกระบวนการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออก พบว่า ขั้นตอนการล้างทำความสะอาดด้วยน้ำโดยล้างแบบน้ำล้น มีปริมาณปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* มากที่สุด คือ

182 cfu/g หากคลุมผักที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยการล้างแบบน้ำล้นด้วยผ้าชื้น และบรรทุกรถกะบะเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อขนส่งผลผลิตเข้าสู่จุดรวบรวมของโรงงาน มีปริมาณปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* มากที่สุด ถึง 502 cfu/g เนื่องจากน้ำที่ใช้ล้างเป็นน้ำบาดาลและเป็นการล้างด้วยระบบเวียนซ้ำ น้ำล้างจึงกลายเป็นแหล่งสะสมของเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อมีการนำผักมาล้างในน้ำล้างเดิม จึงส่งเสริมให้เกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักเพิ่มขึ้น รวมทั้งการบรรจุผักหลังล้างน้ำในเข่งพลาสติก ซึ่งไม่มีทางระบายอากาศ น้ำและความร้อน เป็นการสร้างสภาวะส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี ส่งผลให้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรวจพบที่จุดรวบรวมผลผลิตมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น (อารีรัตน์ และคณะ, 2554) หลังจากนั้นโรงคัดบรรจุเป็นผู้ทำหน้าที่ลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออก ตามมาตรฐาน GMP และ HACCP และตามข้อกำหนดของกรมวิชาการเกษตร ก่อนกระจายสินค้าให้แก่ผู้บริโภคต่อไป ปัญหาที่พบคือ หากปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ในการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวจากแปลง สูงเกินไป การลดปริมาณปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E.coli* ในโรงคัดบรรจุ ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ได้ ตามมาตรฐานที่กรมวิชาการเกษตร กำหนดให้มีเชื้อ *E.coli* ในผลิตผลผักสดส่งออกไม่เกิน 100 cfu/g ดังนั้น การลดปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E.coli* ในขั้นตอนการทำความสะอาดหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกร จึงเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญในการลดปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ในกระบวนการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออก

การลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์โดยการใช้สารกลุ่ม generally recognized as safe - GRAS ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่มีอันตรายต่อผู้บริโภค เป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะเป็นสารที่นำมาใช้ในการประกอบอาหารอยู่แล้ว เช่น กรดอะซิตริค กรดแลคติค กรดซิตริค โซเดียมไบคาร์บอเนต เนื่องจากสารกลุ่ม GRAS มีสมบัติ antimicrobials ในอาหาร เช่น รายงานของ Fan *et al.* (2009) พบว่า การล้างผักกาดหอมด้วยสารละลายกรดอะซิตริค ความเข้มข้น 4% นาน 15 นาที สามารถลดปริมาณ coliform ได้ ทั้งนี้ ประสิทธิภาพการใช้สารควบคุม/ลดปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำเพื่อใช้ชะล้างและทำความสะอาดผักสด ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ ระยะเวลาในการล้าง อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง วิธีการล้าง การปนเปื้อนดินของผักสด ปริมาณอินทรียวัตถุในน้ำล้าง(คุณภาพของน้ำ) บริเวณที่เป็นเป้าหมายของจุลินทรีย์และวิธีการเข้าทำลายของจุลินทรีย์บนผิวสัมผัสของพืชผัก ปริมาณของจุลินทรีย์บนผิวสัมผัสของพืชผักและตำแหน่งในการเข้าสัมผัส และเช่นเดียวกับ การล้างสะระแหน่ด้วยน้ำส้มสายชู ความเข้มข้น 0.2 % นาน 15 นาที สามารถลดปริมาณเชื้อ *E.coli* ได้ถึง 94.26 % และเชื้อ *Salmonella* spp. ได้ถึง 99.20% (ละม้ายมาศ และคณะ, 2553)

นอกจากนี้ Ibrahim (2009) พบว่า การใช้สารละลาย L-ascorbic acid ความเข้มข้น 0.25% หรือ propyl gallate ความเข้มข้น 0.025% ร่วมกับ lactic acid ความเข้มข้น 0.20% มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต E. coli O157:H7 ได้

การล้างผักชีด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 1 % สามารถลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* O157:H7 ได้มากถึง 2 log cfu/g มีฤทธิ์เทียบเท่าการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน (Allende *et al*., 2008) สอดคล้องกับรายงานของ Simón และคณะ (2010) พบว่า การ

ล้างเห็ดด้วยสารละลายกรดซิตริคร่วมกับการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ดัดแปลงสภาพบรรยากาศ มีปริมาณ CO_2ความเข้มข้น 6.9% และ O_2ความเข้มข้น 2% โดยเก็บในสภาพอุณหภูมิต่ำ สามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 2.5 log cfu/g หลังทำการเก็บรักษานาน 17 วัน ที่อุณหภูมิ 5 °C

วราภา และคณะ (2553) รายงานว่า ผักกาดหอมโดยทั่วไปตามท้องตลาดมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ 4.3-4.5 log cfu/ ml หากล้างด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตหรือผงฟู ที่ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร นาน 15 นาที จะสามารถลดปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E. coli* ได้ดีเทียบเท่าโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.25 % และโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.25% ขณะที่ อรัญญา และ คณะ(2552) พบว่า การล้างผลผลิตจำนวน 5 กิโลกรัมในน้ำ 20 ลิตรก่อนส่งโรงงาน เป็นวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E.coli* และ *Salmonella* spp. ในระดับแปลงปลูก

ดังนั้น การใช้สารกลุ่มปลอดภัยต่อผู้บริโภค GRAS มาทดแทนการใช้สารเคมีถือเป็นการลดการใช้สารเคมีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ด้วย และหากมีการใช้สารกลุ่ม GRAS ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมจุลินทรีย์ร่วมกับการเก็บรักษาอุณหภูมิผักส่งออกที่เหมาะสม จะช่วยส่งเสริมประสิทธิภารในการควบคุมจุลินทรีย์ในผักสดหลังการเก็บเกี่ยวในระดับแปลงปลูกได้

7. วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ผักสะระแหน่
2.วัสดุ อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น ขวดแก้วสีชา ถุงพลาสติก หนังยาง ขวดพลาสติก แอลกอฮอล์ กระบอกฉีดน้ำ ถุงมือยาง กล่องโฟม แผ่นให้ความเย็น เป็นต้น
3.เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้น (Data Logger)
4.เครื่องระบุพิกัดสถานที่ (GPS)
5.แปลงเกษตรกรเครือข่ายของโรงงานคัดบรรจุดังกล่าว
6. รถปิกอัพบรรทุกผลผลิตขนย้ายจากแปลงเกษตรกรถึงสถานที่ทำงานวิจัย
7.รถห้องเย็นบรรทุกผลผลิตขนย้ายจากแปลงเกษตรกรถึงสถานที่ทำงานวิจัย
8.ห้องเย็น

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม GRAS ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

1.1 เตรียมสารละลายจุลินทรีย์เชื้อสาเหตุ *E.coli* โดยตัดและล้างผักสะระแหน่ 100 กรัมต่อน้ำกลั่น 200 มล. เขย่า เจือจาง 10^{-1} -10^{-4} เท่า และนำมาเลี้ยงเชื้อในอาหารสังเคราะห์ (Selective media) ชื่อ chromogenic colinstant agar ด้วยวิธี spread plate technique โดยใช้ปริมาตรเชื้อ 30 µl ต่อเพลท บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชม. ทำการย้ายเชื้อให้บริสุทธิ์ในอาหารสังเคราะห์ (Selective media) ด้วยวิธี streak plate technique และทำการเก็บเชื้อในอาหาร nutrient agar แบบ slat agar เพื่อใช้ในการทดสอบข้อ 1.2

1.2 ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารในกลุ่ม GRAS ด้วยวิธี Poison filter Paperdisc technique ที่แต่ละระดับความเข้มข้นตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ แผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 3 เพลท โดยทดสอบ จำนวน 3 ครั้ง

สารละลายกรดอะซิตริค ความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 10%

สารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.4, 0.5, 0.6 และ 1.0 %

สารละลายกรดแลคติค ความเข้มข้น 0.2, 0.3, 0.5 และ 1.0 %

สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 mM

โดยมี น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม

แล้วนำมาวางบนอาหารสังเคราะห์(Selective media)ที่มีสารละลายจุลินทรีย์เชื้อสาเหตุจากข้อ 1. เจือจาง 10^{-4} เท่า โดยใช้ปริมาตรเชื้อ 30 µl ต่อเพลท และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ นาน 5 วัน บันทึกเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม GRAS ในการควบคุมจุลินทรีย์ในผัก

แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 ซ้ำ คัดเลือกสะระแหน่ที่เก็บจากแปลงเกษตรกร GAP ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ ขนาดใกล้เคียงกัน ไม่เหี่ยว ไม่ช้ำหรือเน่า ทำความสะอาดด้วยสารละลายชนิดต่างๆในอัตราส่วนผัก 5 กิโลกรัมต่อสารละลาย 20 ลิตร นาน 3 นาที

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ล้างผัก เป็นตัวควบคุม

กรรมวิธีที่ 2 ล้างผักด้วยน้ำประปา เป็นตัวควบคุม

กรรมวิธีที่ 3 ล้างผักด้วยสารละลายกรดอะซิตริค ความเข้มข้น 3.0%

กรรมวิธีที่ 4 ล้างผักด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 %

กรรมวิธีที่ 5 ล้างผักด้วยสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.5 %

และล้างด้วยน้ำเปล่า นาน 3 นาที จำนวน 2 ครั้ง นำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 0, 3, 6, 15, 24, 48 ชั่วโมง หลังจากนั้น ทำการสุ่มผักทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ โดยตัดและล้างผักสะระแหน่ 10 กรัมต่อน้ำกลั่น 10 มล. เขย่า เจือจาง 10^{-2} เท่า และนำมาเลี้ยงเชื้อในอาหารสังเคราะห์ (Selective media) ด้วยวิธี spread plate technique โดยใช้ปริมาตรเชื้อ 100 µl ต่อเพลท บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ทำการบันทึกข้อมูล ดังนี้

-นับจำนวนโคโลนีจุลินทรีย์ *E.coli* จากผักสะระแหน่ที่ได้รับกรรมวิธีต่างๆ และผ่านการเก็บรักษานาน 0, 3, 6, 15, 24, 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

คำนวณ จำนวนโคโลนีจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/g) = <u>จำนวนโคโลนีเฉลี่ย x จำนวนเท่าในการเจือจางเชื้อ</u>

(Total plate count) ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่นำมา pour plate

3. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผัก

แผนการทดลองแบบ Factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ทำการคัดเลือกสะระแหน่ที่เก็บจากแปลงเกษตรกร ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ ขนาดใกล้เคียงกัน ไม่เหี่ยว ไม่ช้ำหรือเน่า

ปัจจัยที่ 1 การทำความสะอาดด้วยสารละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนผัก 5 กิโลกรัมต่อสารละลาย 20 ลิตร มี 3 วิธี ได้แก่

วิธีที่ 1 การไม่ล้างน้ำ เป็นตัวควบคุมที่ 1

วิธีที่ 2 ล้างด้วยน้ำประปา เป็นตัวควบคุมที่ 2

วิธีที่ 3 ล้างด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6% และนำไปล้างน้ำเปล่า นาน 3 นาที

ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผักหลังทำความสะอาด มี 2 ระดับ ได้แก่

ระดับที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C

ระดับที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C

หลังเก็บรักษานาน 0, 3, 6, 12, 24, 48 ชั่วโมง ทำการสุ่มผักทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ น้ำหนัก 500 กรัมต่อซ้ำ จำนวน 3 ซ้ำ และบันทึกข้อมูลดังต่อไปนี้

- นำมาส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ตามวิธีของ AOAC 2000 991.14 (Pertifilm) และ Salmonella ตามวิธีของ AFNOR 2002 Bio 12/10-09/02 ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย)
- การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ความสด ความเหี่ยว

4. การทดสอบประสิทธิภาพวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสะระแหน่ในระดับแปลงปลูก

แผนการทดลองแบบ Factorial in CRD จำนวน 5 ซ้ำ ทำการคัดเลือกสะระแหน่ที่เก็บจากแปลงเกษตรกรที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ ขนาดใกล้เคียงกัน ไม่เหี่ยว ไม่ช้ำหรือเน่า

ปัจจัยที่ 1 ล้างผักด้วยสารละลาย GRAS ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณเชื้อ *E.coli* ในอัตราส่วนผัก 5 กิโลกรัมต่อสารละลาย 20 ลิตร ได้แก่

สารละลายชนิดที่ 1 ล้างผักด้วยน้ำแบบน้ำล้น นาน 2 นาที เป็นวิธีการล้างของเกษตรกรผู้ปลูกสะระแหน่ GAP

สารละลายชนิดที่ 2 ล้างผักด้วยสารละลายซิตริค ความเข้มข้น 6 % นาน 3 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำประปาแบบไหลผ่าน นาน 3 นาที

ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผักหลังทำความสะอาด มี 3 ระดับ ได้แก่

ระดับที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C

ระดับที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 °C

หลังเก็บรักษานาน 0, 3, 6, 21 และ 24 ชั่วโมง ทำการสุ่มผักทดลองมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ น้ำหนัก 500 กรัมต่อซ้ำ จำนวน 5 ซ้ำ และบันทึกข้อมูลดังต่อไปนี้

- นำมาส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ตามวิธีของ AOAC 2000 991.14 (Pertifilm) และ Salmonella ตามวิธีของ AFNOR 2002 Bio 12/10-09/02 ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
- การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ความสด ความเหี่ยว

เวลาและสถานที่

เริ่ม ตุลาคม 2554 สิ้นสุด กันยายน 2556

เกษตรกรเครือข่ายและโรงงานคัดบรรจุผักส่งออกเอกชนจังหวัดนครปฐม

บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ตึก สวป. ชั้น7

สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดลองประสิทธิภาพของสารกลุ่ม GRAS ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง Clear Zone จากผลของการยับยั้งจุลินทรีย์ *E.coli* ด้วยสารกลุ่ม GRAS ในอาหารสังเคราะห์ Chromogenic Colinstant Agar ที่มีสารละลายจุลินทรีย์ ที่ 5 วัน หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในตู้ควบคุม

สารกลุ่ม GRAS	ความเข้มข้น	เส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone
สารละลายกรดอะซิตริค	1 %	ไม่เกิด CZ
	2%	ไม่เกิด CZ
	3%	**1.0 *1.0 ซม.^{2}**
	10 %	1.0 *0.9 ซม.^{2}
สารละลายกรดซิตริค	0.4%	1.0 *1.0 ซม.^{2}
	0.5%	1.1 *1.1 ซม.^{2}
	0.6%	1.2 *1.1 ซม.^{2}
	1.0 %	1.2 *1.3 ซม.^{2}
สารละลายกรดแลคติค	0.2%	0.8 *0.9 ซม.^{2}
	0.3%	1.3 *1.3 ซม.^{2}
	0.5%	1.4 *1.5 ซม.^{2}
	1.0 %	1.5 *1.5 ซม.^{2}
สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต	25 mM	ไม่เกิด clear zone
	50 mM	ไม่เกิด clear zone
	100 mM	ไม่เกิด clear zone

โดยทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารในกลุ่ม GRAS ด้วยวิธี Poison filter Paperdisc technique พบว่า สารละลายกรดอะซิตริค ความเข้มข้น 3% สารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 % และสารละลายกรดแลคติค ความเข้มข้น 0.5 % มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ E.coli จากผักสะระแหน่ มากที่สุด เมื่อเทียบในสาร GRAS แต่ละชนิด ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สอดคล้องกับการทดลองของ Allende *et al* (2010), Fan *et al* (2009) และ Ibrabim (2009) กรดอินทรีย์เป็นสารกลุ่ม GRAS มีสมบัติในการควบคุมและยับยั้งจุลินทรีย์ *E.coli* ที่ปนเปื้อนในผลิตผลผักสดได้ ยิ่งขนาดของ clear zone ที่เพิ่มมากขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มีสารละลายจุลินทรีย์เชื้อสาเหตุเป็นส่วนผสม สามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์เชื้อสาเหตุที่สูงขึ้นนั่นเอง ส่วนสารละลายโซเดียมไบ

คาร์บอเนต ในทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ ไม่สามารถยับยั้งหรือควบคุมปริมาณจุลินทรีย์เชื้อสาเหตุได้ เนื่องจากไม่พบ clear zone เกิดขึ้น

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม GRAS ในการควบคุมจุลินทรีย์ในผัก

<u>ตารางที่ 2</u> จำนวนโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* จากสะระแหน่ที่ผ่านการล้างด้วยสารกลุ่ม GRAS แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 3-15 ชั่วโมง และนำมาเลี้ยงเชื้อในอาหารสังเคราะห์ Chromogenic Colinstant Agar ที่ 48 ชั่วโมง หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C ในตู้ควบคุม

กรรมวิธี	**จำนวนโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ทั้งหมด ต่อ มล.จากสะระแหน่ที่ผ่านการเก็บรักษาที่ 37 °C นาน (ชั่วโมง) ความเข้มข้นเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* 10^{-2} เท่า**			
	0	**3**	**6**	**15**
ไม่ล้าง (ตัวควบคุมที่ 1)	4,553	0	3,663	1,650
ล้างด้วยน้ำประปา (ตัวควบคุมที่ 2)	383	0	1,127	7,007
ล้างด้วยสารละลายกรดอะซิตริค ความเข้มข้น 3 %	0	0	1,667	35,600
ล้างด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 %	0	0	2,753	4,533
ล้างด้วยสารละลายกรดแลคติก ความเข้มข้น 0.5%	33	0	15,630	13,160

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารกลุ่ม GRAS ต่อการควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ในผักสะระแหน่ พบว่า ผักสะระแหน่ที่ล้างด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 % เก็บรักษาที่ 37 °C สามารถควบคุมปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ได้ดี นานกว่า 6-15 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ล้างและล้างด้วยน้ำประปาหรือสารละลาย GRAS อื่น โดยที่ผักสะระแหน่ยังมีความสดและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค แต่เมื่อเก็บรักษานานเกิน 15 ชั่วโมง พบว่า ผักที่ไม่ผ่านและผ่านการล้างทำความสะอาดทุกกรรมวิธี เกิดอาการเน่าเสีย และกลิ่นผิดปกติเกิดขึ้น

3. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาผัก

อารีรัตน์ และคณะ (2554) รายงานว่า การขนส่งผักสะระแหน่จากแปลงปลูกถึงจุดรวบรวมผลผลิต ใช้เวลาในการขนส่งและรอเข้าสู่กระบวนการของโรงคัดบรรจุอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ดังนั้นการทดลองนี้ จึงศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษานาน 3 ชั่วโมงเป็นต้นไป

หากแปลงปลูกอยู่ห่างไกลจากโรงคัดบรรจุที่รับซื้อผลิตผล การขนส่งเก็บรักษาผลิตผลต้องใช้เวลายาวนานมากขึ้น การควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ต้องมีการปรับเปลี่ยนให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น โดยการเพิ่มความเข้มข้นสารละลายในการทำความสะอาดผักในแปลงปลูกก่อนการขนส่ง ร่วมกับการเก็บรักษาในสภาพอุณหภูมิต่ำ

<u>ตารางที่ 3</u> ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* จากสะระแหน่ที่ผ่านการล้างด้วยสารกลุ่ม GRAS แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 10 °C นาน 3 ชั่วโมง นำมาส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ตามวิธีของ AOAC 2000 991.14 (Pertifilm) และ Salmonella ตามวิธีของ AFNOR 2002 Bio 12/10-09/02 ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

กรรมวิธี	**อุณหภูมิในการเก็บรักษา**	**จำนวนตัวอย่าง**	**ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* (cfu/g) จากสะระแหน่ที่ผ่านการเก็บรักษาที่ 5 และ10 °C นาน (ชั่วโมง) ความเข้มข้นเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* 10^{-2} เท่า**	
			0	3
ไม่ล้าง	5 °C	3	2,300b[1]	2,433b
(ตัวควบคุมที่ 1)	10 °C	3		437a
ล้างด้วยน้ำประปา	5 °C	3	370a	243a
(ตัวควบคุมที่ 2)	10 °C	3		2,067b
ล้างด้วยสารละลายกรดซิตริค	5 °C	3	5,733c	77a
ความเข้มข้น 0.6 %	10 °C	3		270a
mean			2,801	921
LSD $_{AxC}$			1,322.1	
CV			58.1	
F-test storage time (C)			*	
storage temperature (B)			ns	
GRAS solution (A)			*	
BxC			ns	
AxC			*	

AxC	ns
AxBxC	ns

[1] ค่าเฉลี่ยในคอลัมม์เดียวกันที่มีตัวอักษรเหมือนกัน ถือว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น P ≤ 0.05 ns = non-significant, * = significant P ≤ 0.05

จากตารางพบว่า การล้างผักสะระแหน่ด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 % ที่เก็บรักษาที่ 5 และ 10 °C สามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* ได้นานถึง 3 ชั่วโมง โดยผักที่ผ่านการล้างสารละลายกรดซิตริค เก็บรักษาที่ 5 °C ตรวจพบปริมาณเชื้อปนเปื้อนเพียง 77 cfu/g ซึ่งเป็นค่าที่ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กรมวิชาการเกษตร ที่กำหนดให้มีเชื้อ *E.coli* ในผลิตผลผักสดส่งออกไม่เกิน 100 cfu/g สอดคล้องกับการรายงานของ Simón และคณะ (2010) พบว่า การล้างทำความสะอาดด้วยสารละลายกรดซิตริคร่วมกับการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ดัดแปลงสภาพบรรยากาศ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C สามารถลดปริมาณ *E. coli* O157:H7 2.5 log cfu/g ในเห็ด หลังทำการเก็บรักษาได้นานถึง 17 วัน

<u>ตารางที่ 4</u> เปรียบเทียบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* จากสะระแหน่ที่ผ่านน้ำล้นในแปลงเกษตรกรและการล้างด้วยสารกลุ่ม GRAS แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 10 °C หลังเก็บรักษานาน 3 ชั่วโมง นำมาส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ตามวิธีของ AOAC 2000 991.14 (Pertifilm) และ Salmonella ตามวิธีของ AFNOR 2002 Bio 12/10-09/02 ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

เปรียบเทียบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* (cfu/g) จากผักสะระแหน่ ในกระบวนการผลิตผักสะระแหน่เพื่อส่งออกและในห้องปฏิบัติการ หลังเก็บรักษานาน 3 ชั่วโมง			
การสำรวจในกระบวนการผลิตผักสะระแหน่เพื่อส่งออก	**การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวระดับแปลงปลูกเกษตร**		**การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวระดับโรงคัดบรรจุ**
	ขั้นตอนการล้างทำความสะอาด บรรจุในภาชนะเพื่อขนส่งไปยังโรงคัดบรรจุ		**ขั้นตอนรวบรวมวัตถุดิบของโรงคัดบรรจุ**
	ล้างด้วยน้ำบาดาลแบบน้ำล้น ใส่ตะกร้าคลุมด้วยผ้าชื้น เก็บที่ 30.8 °C (อารีรัตน์, 2554)	182.50	502.86
การทดสอบใน	ล้างด้วยกรดซิตริค ความเข้มข้น 6 % เก็บที่ 10 °C	5,733	<u>270</u>

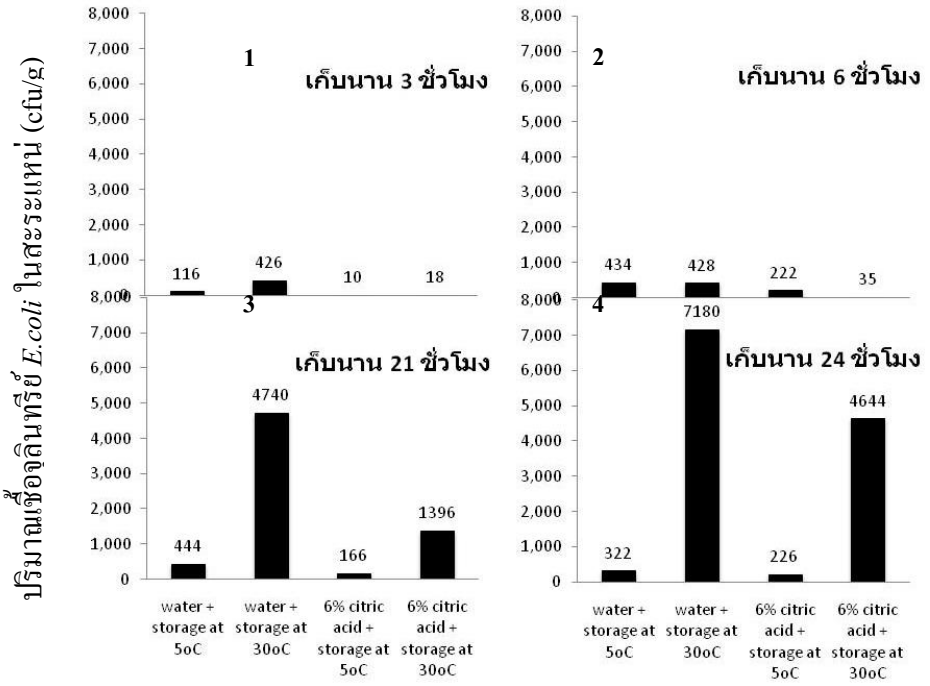
ห้องปฏิบัติการ	ล้างด้วยกรดซิตริค ความเข้มข้น 6 % เก็บที่ 5 °C	5,733	77

เมื่อดูข้อมูลปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ในกระบวนการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออก ตั้งแต่ขั้นตอนการล้างทำความสะอาดแบบน้ำล้นด้วยน้ำประปา จนถึงการขนส่งไปยังจุดรวบรวมวัตถุดิบของโรงคัดบรรจุ ซึ่งใช้เวลาขนส่งจากแปลงปลูกถึงโรงคัดบรรจุนาน 3 ชั่วโมง (อารีรัตน์, 2554) เปรียบเทียบกับการทดสอบในห้องปฏิบัติการ โดยการล้างทำความสะอาดผักสะระแหน่ด้วยกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 % เก็บรักษาที่ 5 และ 10 °C นาน 3 ชั่วโมง

จากตาราง พบว่า หากต้องขนส่งผักจากแปลงไปยังโรงคัดบรรจุนาน 3 ชั่วโมง ผักที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 % เก็บรักษาที่ 5 และ 10 °C สามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* ได้ดี มีค่าระหว่าง 77-270 cfu/g เมื่อเปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำบาดาล เก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นวิธีการทำความสะอาดของเกษตรกร และหากผักที่ส่งเข้าโรงคัดบรรจุ มีปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* สูงถึง 500 cfu/g การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวของโรงคัดบรรจุในการลดปริมาณจุลินทรีย์ สามารถควบคุมและลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ได้มากที่สุด มีค่าอยู่ 123.75 cfu/g ซึ่งเป็นค่าที่ตรวจพบในขั้นตอนการเก็บรักษาที่ 8 °C รอขนส่งผักสดไปยังด่านสุวรรณภูมิ(อารีรัตน์ และคณะ, 2554) เมื่อเทียบเป็นประสิทธิภาพในการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักส่งออกของโรงคัดบรรจุ สามารถลดได้เพียง 75% เท่านั้น ดังนั้น การลดปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E.coli* ในขั้นตอนการทำความสะอาดหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกรจึงเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญในการลดปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* เบื้องต้นก่อนเข้าสู่โรงคัดบรรจุในกระบวนการผลิตสะระแหน่เพื่อส่งออก และถือเป็นเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมและลดปริมาณจุลินทรีย์ในโรงคัดบรรจุ ให้ได้ตามมาตรฐานที่กรมวิชาการเกษตร กำหนดให้มีเชื้อ *E.coli* ในผลิตผลผักสดส่งออก ไม่เกิน 100 cfu/g และจากการทดสอบนี้ ไม่พบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ Salmonella ในผักที่ไม่ผ่านและผ่านการล้างทำความสะอาดทุกกรรมวิธี ที่เก็บรักษานาน 48 ชั่วโมง

4. การทดสอบประสิทธิภาพวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสะระแหน่ในระดับแปลงปลูก

ภาพที่ 1-4 ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ในผักสะระแหน่ที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ อุณหภูมิ 5 และ 30 °C นาน 3 6 21 24 ชั่วโมง



<u>ตารางที่ 5</u> ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* จากสะระแหน่ที่ผ่านการล้างด้วยสารกลุ่ม GRAS แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 30 °C นาน 3-24 ชั่วโมง นำมาส่งตรวจวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ตามวิธีของ AOAC 2000 991.14 (Pertifilm) และ Salmonella ตามวิธีของ AFNOR 2002 Bio 12/10-09/02 ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

กรรมวิธี	**อุณหภูมิในการเก็บรักษา**	**จำนวนตัวอย่าง**	**ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* (cfu/g) จากสะระแหน่ที่ผ่านการเก็บรักษาที่ 5 และ 30 °C นาน (ชั่วโมง)ความเข้มข้นเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* 10^{-2} เท่า**			
			3	6	21	24
ล้างน้ำล้นด้วยน้ำบาดาล	5 °C	5	116	434	444	322
(ตัวควบคุม)	30 °C	5	426	428	4740	7180
ล้างด้วยกรดซิตริค ความ	<u>5 °C</u>	5	<u>10</u>	<u>22</u>	<u>166</u>	<u>226</u>
เข้มข้น 6 %	30 °C	5	18	35	1396	4644

mean	142	229	1686	3093
LSD $_{AxBxC}$		843.8		
CV		51.9		
F-test storage time		*		
(C)		*		
storage temperature		*		
(B)		*		
GRAS solution (A)		*		
BxC		*		
AxC		*		
AxC				
AxBxC				

[1] ค่าเฉลี่ยในคอลัมม์เดียวกันที่มีตัวอักษรเหมือนกัน ถือว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบด้วย LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น P ≤ 0.05 ns = non-significant, * = significant P ≤ 0.05

เมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริคในการล้างทำความสะอาดผัก จาก 0.6% เป็น 6% ร่วมกับการเก็บรักษาที่ 5 °C พบว่า การล้างสะระแหน่ด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 6% และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ได้นานถึง 3-24 ชั่วโมง (10-226 cfu/g) ซึ่งสามารถขยายเวลาในการเก็บรักษาผักสด ที่สามารถควบคุมการปนเปื้อนจุลินทรีย์ *E.coli* ไม่เกินศักยภาพการลดปริมาณจุลินทรีย์ของโรงคัดบรรจุผักส่งออก ที่สามารถลดได้ 75% ของผักที่จุดรวบรวมของโรงคัดบรรจุ ถือเป็นวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ E.coli ในผักสดหลังเก็บเกี่ยวเบื้องต้นที่เหมาะสมกับแปลงปลูกที่อยู่ห่างไกลและต้องใช้เวลานานในการขนส่งผักสดเข้าสู่โรงคัดบรรจุ เพราะหากปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* ในผักสด เกิน 400 cfu/g กระบวนการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในโรงคัดบรรจุจะไม่สามารถลดให้มีค่าอยู่ในมาตราฐานผักสดส่งออกของกรมวิชาการเกษตรได้ (ไม่เกิน 100 cfu/g)

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลจากการศึกษาวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ก่อโรคในผักสดหลังการเก็บเกี่ยว โดยศึกษาวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตผลผักสดหลังการเก็บเกี่ยวเบื้องต้นในระดับแปลงปลูกและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาขณะขนส่งก่อนเข้าสู่โรงคัดบรรจุ

1.สารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 % มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* จากผักสะระแหน่ ทั้งการทดสอบในห้องปฏิบัติการและการทดสอบในผัก

2.การเก็บรักษาผักที่ผ่านการล้างด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 0.6 % ที่อุณหภูมิ 5 และ 10 °C สามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* ในสะระแหน่ได้นานถึง 3 ชั่วโมง

3.การเก็บรักษาผักที่ล้างด้วยกรดซิตริค เก็บรักษาที่ 5 °C นาน 3 ชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* อยู่ที่ 77 cfu/g มีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานที่กรมวิชาการเกษตร ที่กำหนดให้มีเชื้อ *E.coli* ในผลิตผลผักสดส่งออก ไม่เกิน 100 cfu/g

4.เมื่อขยายผลทดสอบประสิทธิภาพวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในสะระแหนในระดับแปลงปลูก พบว่า การล้างสะระแหน่ด้วยสารละลายกรดซิตริค ความเข้มข้น 6% และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ได้นานถึง 3-24 ชั่วโมง (10-226 cfu/g) ถือเป็นวิธีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ E.coli ในผักสดหลังเก็บเกี่ยวเบื้องต้นที่เหมาะสมก่อนเข้าสู่โรงคัดบรรจุ เนื่องจากโรงคัดบรรจุมีศักยภาพในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ E.coli ในการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวระดับโรงคัดบรรจุ อยู่ที่ 75% ดังนั้น หากปริมาณจุลินทรีย์ *E.coli* ในผักสดที่เข้าสู่โรงคัดบรรจุ เกินกว่า 400 cfu/g กระบวนการลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในโรงคัดบรรจุจะไม่สามารถลดให้มีค่าอยู่ในมาตรฐานผักสดส่งออกของกรมวิชาการเกษตรได้ (ไม่เกิน 100 cfu/g)

10.การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เป็นเทคโนโลยีลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่เหมาะสมระดับแปลงปลูก เพื่อใช้พัฒนาแนวทางการบริหารจัดการเทคโนโลยีลดความเสียหายจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผักสดหลังการเก็บเกี่ยวเชิงระบบต่อไป

11.คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ เกษตรกรเครือข่ายและโรงงานคัดบรรจุผักส่งออกเอกชนจังหวัดนครปฐม บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัดที่เอื้อเฟื้อวัสดุการทดลอง สถานที่ทำการทดลองและตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ในตัวอย่าง คุณชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์ คุณพัจนา สุภาสูรย์ และคุณวฤษณี ขาวเขียว ที่ให้คำแนะนำในการทดลอง คุณพุฒนา รุ่งระวี พร้อมทั้งเจ้าหน้าที่กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติ ศูนย์สารสนเทศ ที่ให้คำปรึกษาการวางแผนการทดลองและคุณเนตรา สมบูรณ์แก้ว และคุณสุพี วนศิรากุล ที่วิเคราะห์ผลทางสถิติ คุณสุภาวดี สมัครประโคน คุณอภิญญา เย็นสบาย ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยทั้งในและนอกห้องปฏิบัติการ บันทึกการเปลี่ยนคุณภาพและจัดส่งตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย)

12.เอกสารอ้างอิง

ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์, 2554. ผักสดปลอดจุลินทรีย์ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค. สืบค้นจาก: soclaimon.wordpress.com/2010/03/22/ (ก.ค.54).

บุษรา แก้วจันทร์มณี, พัจนา สุภาสูรย์, ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์, เกรียงไกร สุภโตษะ, สวรรณมนท์ เหล็กเพ็ชร, รัตตา สุทธยาคม, อุมาพร สีวัลย์, วฤษณี ขาวเขียว, รุ่งทิวา รอดจันทร์ และ สุรชัย ศิริพัฒน์. 2550. ระบบการผลิตผักที่ดีและประสิทธิภาพของสารล้างผัก. วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร ปี 38

ฉบับที่ 5 พิเศษ. หน้า 131-135.

รังสินี โสธรวิทย์, 2553. เคมีและจุลชีวิทยาเบื้องต้นของอาหาร. ภาควิชาวิศวะกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 231 หน้า

ละม้ายมาศ ยังสุข, ปราณี วรเนตรสุดาทิพย์, ปวีณา เชยชุ่ม, ประยุทธ สีสวยหูต และ ชาตรี โสสว่าง. 2553. การลดปริมาณเชื้อ *Esherichia coli* และ *Salmonella* spp. ในพืชผัก. (วันที่ 26 ก.ย.53) เข้าถึงได้จากอินเตอร์เน็ต http://it.doa.go.th/refs/index.php

วราภา มหากาญจนกุล และ ปรียา วิบูลย์เศรษฐ.2543.การล้างผักอย่างไรให้ปลอดจากเชื้อโรคทางเดินอาหาร (วันที่ 2 เม.ย.2555) เข้าถึงได้จากอินเตอร์เน็ต http://rdi.ku.ac.th/FOODS/Varapa/index_wash_vege.html

อรัญญา ภู่วิไล, บุษรา จันทร์แก้วมณี, อุมาพร สีวิลัย, จันทนา ใจจิตร, จิราภา เมืองคล้าย, มณฑาทิพย์ อรุณวราภรณ์, วฤษณี ขาวเขียว และ ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์. 2552. การทดสอบระบบการผลิตพืชผักให้ปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการส่งออก. เรื่องเต็มงานวิจัยกรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

อารีรัตน์ การุณสถิตย์ชัย, ชวเลิศ ตรีกรุณาสวัสดิ์ และ ภูวสิน ชูสินธ์. 2554. การศึกษาความสูญเสียของผลิตผลผักสดหลังการเก็บเกี่ยวจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม ประจำปี 2554. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 121 หน้า.

Allende, A., J. McEvoy, Y. Tao and Y. Luo. 2008. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on *Escherichia coli* O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. Retrieved July 13, 2011, from http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713508001291

Fan, X., B.A. Niemira, D.J. Doona, F.E. Feeherry and R. B. Gravani. 2009. Microbial Safety of Fresh Produce. Ames. USA.

Ibrahim. S. A. 2009. L-ascorbic acid, propyl gallate and lactic acid inhibit E. coli O157:H7. Retrieved July 13, 2011, from http://www.entrepreneur.com/tradejournals/article/206063856.html

Simon, A., E. González-Fandos and M. Vázquez. 2010. Effect of washing with citric acid and packaging in modified atmosphere on the sensory and microbiological quality of sliced mushrooms (*Agaricus bisporus* L.). Retrieved July 13, 2011, from http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671350900320X